



AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI SEDIAAN GEL EKSTRAK TERPURIFIKASI KELOPAK ROSELLA TERHADAP BAKTERI *Escherichia coli*

Submitted : 14 Maret 2023

Edited : 23 Mei 2023

Accepted : 29 Mei 2023

Fita Sari^{1*}, Ida Kristianingsih², Tri Puji Lestari³, Fathul Hidayatul⁴, Yuyun Wulandari⁵

^{1*}D3 Analisis Farmasi dan Makanan, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

²D3 Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

³S1 Farmasi, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

⁴D4 Teknik Laboratorium Medik, Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

⁵Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri

Email: fitasari@iik.ac.id

ABSTRAK

Bahan alam memiliki berbagai jenis senyawa metabolit primer ataupun sekunder yang bermanfaat untuk terapi suatu penyakit. Bahan tumbuhan yang memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder tinggi dapat dikembangkan menjadi bahan baku obat tradisional. Contoh pengembangan obat bahan alam yang sangat diminati adalah menjadikan bahan baku obat tradisional yang memiliki sifat sebagai antibakteri. Hal ini dapat menambah jenis terapi suatu penyakit dengan efek samping yang lebih kecil. Tujuan penelitian ini mengetahui aktivitas dari sediaan gel ekstrak terpurifikasi kelopak rosella (ETKR) sebagai antibakteri. Ekstrak diperoleh dari metode maserasi yang kemudian dilanjutkan dengan purifikasi. Uji aktivitas antibakteri pada penelitian ini menggunakan metode difusi sumuran. Deteksi senyawa metabolit dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) meliputi fase diam silika GF254 dan fase gerak Toluen : Asam asetat : Asam formiat (6:6:1). Konsentrasi ekstrak terpurifikasi kelopak rosella untuk formulasi diantaranya 5, 15 dan 25%. Analisa data dilakukan dengan uji *Anova One Way* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil penelitian sediaan gel ekstrak terpurifikasi kelopak rosella berpotensi menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* kategori sensitif pada konsentrasi 25%. Senyawa yang diduga berperan sebagai antibakteri yaitu flavonoid. Hasil skrining fitokimia senyawa flavonoid positif ditandai dengan terbentuknya warna merah jingga pada pengujiannya dan identifikasi menggunakan KLT menghasilkan R_f sebesar 0,85 yang memiliki kemiripan dengan penelitian sebelumnya. Kesimpulan penelitian ini bahwa sediaan gel ETKR dengan konsentrasi 25% sensitif sebagai antibakteri.

Kata kunci : Antibakteri, *Escherichia coli*, Gel, Rosella.

ABSTRACT

Natural materials had various types of primary and secondary metabolite compounds that were useful for treating a disease. Plant materials that contain high levels of secondary metabolites could be developed into raw materials for traditional medicines. An example of the



development of natural medicine which was in high demand is making traditional medicinal raw materials which have antibacterial properties. These could add to the type of therapy for a disease with smaller side effects. The aim of this study was to determine the activity of the purified extract gel preparation of rosella petals as an antibacterial. The extract was obtained from the maceration method which was then followed by purification. The antibacterial activity test in this study used the well diffusion method. Detection of metabolites by Thin Layer Chromatography (TLC) includes the stationary phase of silica GF254 and the mobile phase Toluene: Acetic acid: Formic acid (6:6:1). The concentration of purified extract of rosella petals for the formulation was 5, 15 and 25%. Data analysis was carried out with the One Way Anova test with a 95% confidence level. The results of the research that the purified extract gel preparation of rosella petals has the potential to inhibit the growth of Escherichia coli bacteria in the sensitive category at a concentration of 25%. The results of a positive phytochemical screening for flavonoid compounds were indicated by the formation of a red-orange color in the test and identification using TLC produced an R_f of 0.85 which has similarities with previous studies. The conclusion of this study was that the ETKR gel preparation with a concentration of 25% was sensitive as an antibacterial.

Keywords : Antibacterial, *Escherichia coli*, Gel, Rosella

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi disebabkan oleh masuknya mikroorganisme asing pada jaringan tubuh yang dapat berkembang biak⁽¹⁾. Contoh penyakit infeksi yaitu infeksi piogenik yang ditandai dengan peradangan lokal parah. Kelompok kuman piogenik terdiri dari *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumonia*, *Salmonella typhi*, *Pseudomonas aeruginosa*⁽²⁾. Adanya luka peradangan yang parah menyebabkan infeksi dan membuat seseorang harus mengkonsumsi obat yaitu antibiotik.

Antibiotik adalah suatu senyawa kimia dalam konsentrasi kecil mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme. Senyawa kimia ini dapat menimbulkan masalah resistensi dan berbagai macam reaksi seperti hipersensitifitas, kerusakan sel darah, keracunan obat, kerusakan ginjal dan kerusakan sel-sel saraf. Resistensi yang saat ini berkembang di masyarakat yaitu bakteri *Streptococcus pneumonia*, *Staphylococcus aureus*, dan *Escherichia coli*⁽³⁾.

Akibat dari menggunakan antibiotik yang kurang tepat dan dapat menyebabkan resistensi sehingga mendorong masyarakat lebih aktif menggali potensi bahan alam seperti tanaman obat sebagai antibakteri alami. Contoh tanaman yang memiliki potensi sebagai bahan baku obat tradisional khususnya memiliki aktivitas antibakteri adalah rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Hampir seluruh bagian tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional seperti kelopak bunga, daun, serta batang⁽⁴⁾. Menurut penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Sari dan Aryantini⁽⁵⁾ tentang karakterisasi ekstrak terpurifikasi kelopak rosella didapatkan beberapa kandungan senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid, antosianin, alkaloid, tanin, steroid, triterpenoid, fenolik dan saponin.

Aktivitas sebagai antimikroba pada bunga rosella ditunjukkan adanya senyawa polifenol seperti flavonoid yaitu antosianin dan *gossypetin*, fenolik, tannin dan saponin. Flavonoid mampu menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sitoplasma dan metabolisme energi bakteri⁽⁶⁾. Bagian antosianin yang diduga berperan

sebagai antimikroba adalah antosianidin dan *cyranidin 3-glukoside* ⁽⁷⁾. Penelitian yang dilakukan oleh Jung ⁽⁸⁾ menunjukkan bahwa kandungan polifenol tersebut pada ekstrak bunga rosella dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.

Potensi rosella yang sangat baik sehingga mendorong untuk memformulasikan suatu sediaan topikal berupa gel agar mudah penggunaannya pada kulit dalam mengatasi masalah infeksi. Gel adalah salah satu sediaan farmasetis dalam bentuk semi solid yang terdiri dari dua fase ⁽⁹⁾. Sediaan gel lebih disukai karena rasa dingin di kulit, mudah mengering dan mudah dicuci. Berdasarkan hal tersebut penelitian ini mengembangkan sediaan topikal berupa gel sebagai antibakteri dari ekstrak terpurifikasi kelopak rosella.

METODE PENELITIAN

Penelitian dilakukan di laboratorium farmasi Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri. Berikut alat – alat yang digunakan dalam penelitian antara lain timbangan analitik, erlenmeyer, rotary evaporator, shaker, corong pisah, jangka sorong, cawan petri, chamber, plat silika gel GF 254, lampu UV 254 dan 366 nm, autoklaf, oven. Bahan – bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain : kelopak rosella, etanol 70%, kloroform, HCl 2 N, toluen, asam asetat, asam formiat, etanol 70%, bakteri *Escherichia coli*, nutrient agar, nutrient broth.

Tanaman rosella yang digunakan dalam penelitian ini dideterminasi terlebih dahulu di Materia Medika Batu Malang. Bahan yang digunakan untuk formulasi gel adalah ekstrak terpurifikasi kelopak rosella (ETKR) yang diperoleh dari serbuk simplisia kelopak rosella. Sampel dipotong kecil, kemudian di serbuk halus lalu diayak kemudian diekstraksi dengan metode maserasi. Metode ini menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Serbuk simplisia ditimbang sebanyak 500 gram dengan pelarut

etanol 70% sebanyak 5 L. Rendeman disimpan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari selama lima hari sambil sesekali diaduk. Ekstrak kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring dan diperoleh filtrat. Sisa penyaringan kemudian dimaserasi kembali sebanyak pelarut pertama yaitu sebanyak 5 liter, selama tiga hari, disaring dan kemudian dipekatkan dan dikentalkan di waterbath dengan suhu 60°C sehingga didapatkan ekstrak kental ⁽¹⁰⁾.

Metode ekstrak terpurifikasi yang digunakan adalah ekstraksi cair cair. Ekstrak kental kelopak rosella ditimbang 20 gram, kemudian dilarutkan kembali dengan etanol 70% sebanyak 20 mL. Ekstrak tersebut kemudian dimasukkan dalam corong pisah dan ditambahkan larutan penyari kloroform sebanyak 100 mL. Sampel tersebut digojog selama kurang lebih satu menit, lalu didiamkan selama kurang lebih 48 jam. Bagian kloroform kemudian dipurifikasi kembali sebanyak tiga kali pengulangan hingga diperoleh hasil yang bening. Hasil purifikasi kemudian dipekatkan hingga diperoleh ekstrak kental dan dihitung rendemennya ⁽⁵⁾. Hasil ekstrak yang diperoleh dari proses purifikasi dilakukan uji bebas etanol dengan cara memasukkan sejumlah ekstrak ke dalam tabung reaksi ditambahkan 1 ml asam asetat dan 1 ml asam sulfat pekat lalu dihomogenkan dan dipanaskan, kemudian tutupi bagian atas menggunakan kapas. Jika tidak tercium bau bau ester maka positif bebas etanol ⁽¹¹⁾.

Deteksi kandungan flavonoid dalam sampel menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak menggunakan Toluene : Asam asetat : Asam formiat (6 : 6 : 1). Ekstrak etanol kelopak rosella, ETKR dan kuersetin ditotolkan pada plat KLT. 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 pembanding dengan membandingkan bercak antara ekstrak, ekstrak terpurifikasi dan baku pembanding ⁽⁵⁾.

Formulasi Gel Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella (Gel ETKR)

Tabel 1. Formulasi Gel ETKR

Formulasi	Fungsi	Konsentrasi		
		F1	F2	F3
ETKR	Zat aktif	5%	15%	25%
CMC-Na	Gelling agent	5%	5%	5%
Nipagin	Pengawet	0,3%	0,3%	0,3%
Gliserin	Humektan	10%	10%	10%
Propilenglikol	Kosolven	10%	10%	10%
Aquadest	Pelarut	Ad 100	Ad 100	Ad 100

Uji organoleptis dengan melihat tampilan fisik sediaan dengan cara melakukan pengamatan terhadap bentuk, warna dan bau dari sediaan yang telah dibuat ⁽¹²⁾. Uji homogenitas dilakukan dengan cara sampel gel dioleskan pada sekeping kaca transparan, kemudian sediaan harus menunjukkan susunan homogen dan tidak ada butiran kasar ⁽¹³⁾. Pengukuran pH sediaan gel dengan menggunakan pH meter yang sudah distandarisasi. Catat hasil yang ditunjukkan pH meter ⁽¹⁴⁾.

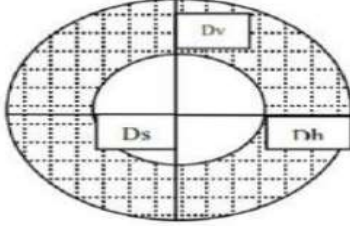
Prosedur selanjutnya adalah uji daya lekat dengan cara gel ditimbang 0,5 gram diletakkan diatas objek glass yang sudah ditentukan luasnya, lalu objek glass yang lain diatas gel tersebut dan ditekan dengan beban 1 kg selama 5 menit, selanjutnya dipasang objek glass pada alat tes. Dilepas beban seberat 80 gram dan dicatat waktu hingga kedua objek glass terlepas ⁽¹⁵⁾. Uji daya sebar dilakukan dengan menimbang sediaan sebanyak 0,5 gram, kemudian diletakkan pada kaca bulat berskala. Datas gel diletakkan plastik mika, kemudian diletakkan pemberat diatasnya sebanyak 250 gram, diamkan selama satu menit dan


49 dicatat daya sebar. Sediaan gel yang baik yaitu yang memiliki daya sebar antara 5-7 cm ⁽¹⁵⁾.

Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode sumuran. Lapisan dasar dibuat dengan menuangkan media NA ke cawan petri steril, lalu letakkan 5 buah sumuran dan tunggu hingga media memadat. Tambahkan suspensi bakteri ke dalam media pembenihan NA pada suhu sekitar 40°C sebanyak 3 ml, kemudian dihomogenkan. Campuran bakteri *Escherichia coli* dan media nutrient agar dituang ke plate yang sudah diberi media dasar dan sumuran. Tunggu hingga media beku, setelah membeku sumuran dicabut secara steril. Lubang sumuran yang sudah diberi keterangan konsentrasi diisi dengan sampel sebanyak 0,1 gram. Diinkubasi di inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk ditandai dengan warna jernih di sekeliling sumuran diukur dengan menggunakan jangka sorong ⁽¹⁶⁾.

Prosedur pengamatan dan pengukuran terhadap pengujian aktivitas antibakteri ETKR dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi dengan menggunakan

jangka sorong. Daerah yang diukur merupakan daerah bening disekitar sumuran yang menunjukkan kepekaan bakteri terhadap bahan yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan sebagai lebar diameter zona hambat. Zona bening merupakan petunjuk kepekaan bakteri terhadap bahan antibakteri yang digunakan sebagai bahan uji dan dinyatakan dengan diameter zona hambat. Rumus untuk pengukuran ini sebagai berikut:

$$\left(\frac{D_h + D_v}{2} \right) - D_s$$


Dh : Diameter horizontal
Dv : Diameter vertikal
Ds : Diameter sumuran
 : Zona hambat

Menurut CLSI (2014) untuk bahan alam kategori sensitivitas terhadap bakteri terbagi menjadi tiga kategori ukuran zona hambat sebagai berikut:

- >19 mm : sensitive
- 15 – 18 : intermediate
- <14 mm : resisten

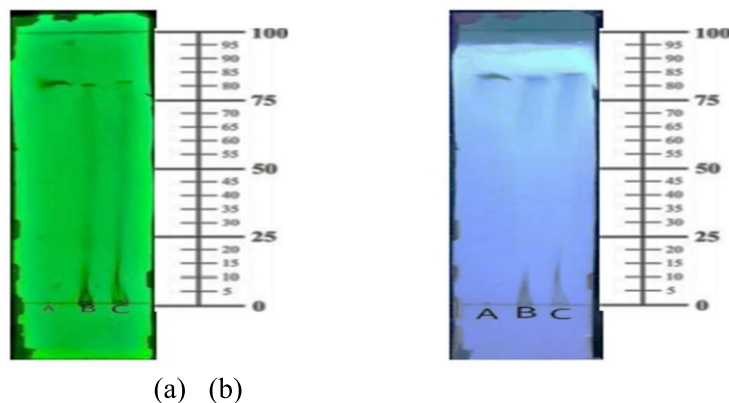
Data yang diperoleh akan dianalisa terlebih dahulu dengan uji normalitas menggunakan Uji Shapiro Wilk dengan nilai signifikan > 0,05, uji Homogenitas menggunakan Uji Levene Test dengan nilai

signifikan > 0,05, bila data tidak terdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan Uji Kruskal Wallis, bila data terdistribusi normal dilanjutkan dengan Uji One Way ANOVA dengan taraf kesalahan < 0,05, jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan Uji Post Hoc. Analisis data menggunakan software SPSS.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi tanaman rosella dilakukan di UPT Laboratorium Herbal Material Medika Batu Malang. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk mendapatkan kebenaran tanaman sebagai objek penelitian. Hasil dari determinasi kelopak tanaman rosella yaitu benar merupakan tanaman rosella. Filtrat hasil ekstraksi kemudian diuapkan hingga mengental di *waterbath* dengan suhu 60° C. Berat ekstrak kental diperoleh 175,4 g dengan persen rendemen 35%, sedangkan untuk ekstrak terpurifikasi kelopak rosella 100 g, diperoleh berat ekstrak kental hasil pemekatan di *waterbath* sebanyak 79,9 g dengan persen rendemen 15,9%.

Uji bebas etanol dinyatakan berhasil, jika tidak tercium bau ester. Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak terdapat bau ester pada ekstrak. Hasil dari identifikasi yang tidak tercium bau ester maka dinyatakan bahwa ekstrak tersebut bebas etanol ⁽¹¹⁾. Hasil pengujian ekstrak etanol kelopak rosella dan ETKR menggunakan KLT menunjukkan bercak dan R_f seperti tercantum di bawah ini pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil KLT Ekstrak Etanol Kelopak Rosella dan ETKR

Keterangan :

(a) : lampu UV 254 nm (b) : lampu UV 366 nm

A : baku standar kuarsetin

B : ekstrak etanol 70% kelopak rosella

C : ekstrak terpurifikasi kelopak rosella

R_f = jarak yang ditempuh oleh senyawa jarak yang ditempuh oleh pelarut $R_f = 6,8 \text{ cm} / 8 \text{ cm} = 0,85$
Hasil kromatografi lapis tipis ekstrak terpurifikasi kelopak rosella memiliki nilai R_f sebesar 0,85. Hasil tersebut diduga mengandung senyawa flavonoid karena sesuai dengan noda dan R_f pembanding yaitu kuarsetin ⁽⁵⁾.

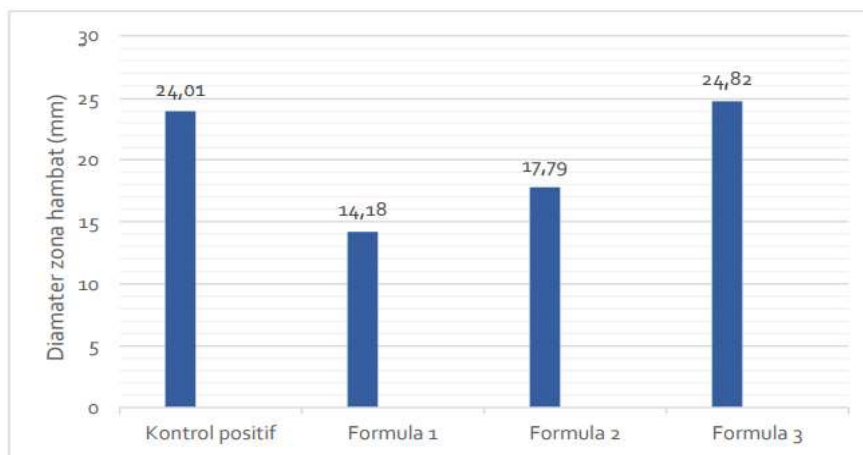
Pengujian formulasi dari ETKR secara organoleptis menghasilkan warna pada formula 1 berwarna merah kecoklatan sedangkan pada formula 2 dan 3 cenderung berwarna coklat pekat. Pada bentuk dan bau sediaan tidak ada perbedaan, semua formulasi memiliki karakteristik yang sama yaitu berbentuk semi padat dan berbau khas Rosella.

JURNAL ILMIAH MANUNTING, 9(1), 94-101, 2023

Hasil uji homogenitas gel ekstrak terpurifikasi kelopak rosella dari ketiga formulasi menunjukkan hasil yang homogen. Syarat suatu sediaan gel harus homogen yang artinya tidak terdapat butiran kasar ataupun partikel dalam sediaan ⁽¹⁷⁾. Hasil pengujian pH gel ekstrak terpurifikasi kelopak rosella dari ketiga formulasi menunjukkan hasil rata-rata 4,6 – 5,1. Hasil tersebut sudah memenuhi syarat pH sediaan topikal yaitu 4,5 sampai 6,5. Sediaan topikal yang akan digunakan pada lapisan kulit apabila memiliki pH kurang dari 4,5 dapat menyebabkan iritasi kulit, sedangkan jika pH lebih dari 6,5 maka dapat menyebabkan kulit bersisik ⁽¹⁸⁾.

Hasil rata-rata uji daya lekat gel ekstrak terpurifikasi kelopak rosella pada ketiga formulasi yaitu 4,46 - 6,57 detik. Hasil tersebut memenuhi persyaratan uji daya lekat sediaan topikal yaitu lebih dari 1 detik (Naibaho, *et al.*, 2013). Hasil daya sebar gel ekstrak terpurifikasi kelopak rosella dengan beban 250 gram pada ketiga formulasi yaitu 5,06 – 6,58 cm. Hasil tersebut sudah sesuai persyaratan sediaan topikal yaitu rentang 3-7 cm (Naibaho, *et al.*, 2013).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa uji aktivitas antibakteri pada formula 1 termasuk kategori resisten, formula 2 termasuk kategori intermediet dan formula 3 termasuk dalam kategori sensitif. Kontrol positif gel Tetrasiklin termasuk antibakteri kategori sensitif, sedangkan untuk kontrol negatif tidak menghasilkan zona jernih. Hal ini membuktikan bahwa aktivitas antibakteri tidak dipengaruhi oleh basis gel yang digunakan sehingga aktivitas antibakteri yang dihasilkan merupakan potensi yang dimiliki oleh ekstrak terpurifikasi kelopak rosella.



Gambar 2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri ETKR

Data penelitian uji antibakteri terlebih dahulu diuji menggunakan uji Shapiro Wilk. uji normalitas kontrol positif, formula 1, 2 dan 3, terdistribusi normal karena nilai $\text{sig} > 0,05$. Uji homogenitas menunjukkan nilai signifikansi sebesar $0,022 < 0,05$, sehingga bisa dikatakan varian data antar grup tidak berbeda secara signifikan. Uji Anova One Away antibakteri diperoleh F hitung 173,405 dengan nilai signifikansi sebesar $0,000 < 0,05$. Hasil tersebut untuk menguji hipotesis. F hitung dikonsultasikan dengan F tabel yaitu dengan $\text{df } 1=4$ dan $\text{df } 2 = 10$ dengan taraf signifikansi 0,05 diperoleh F tabel sebesar 3,48. Ketentuan yang digunakan adalah jika F hitung $> F$ tabel maka H_0 ditolak berarti signifikan, jika F hitung $< F$ tabel maka H_0 diterima yang berarti tidak signifikan (Soleh, 2005). Berdasarkan analisa data F hitung sebesar $173,405 > 3,48$ dengan demikian H_0 ditolak dan H_1 diterima. Hasil tersebut, dapat peneliti simpulkan bahwa terdapat perbedaan rata-rata antibakteri antara kontrol negatif, kontrol positif dan ketiga formula. Uji Post Hoc didapatkan ada perbedaan signifikan yang ditandai dengan tanda bintang (*) yang menunjukkan nilai signifikansi $< 0,05$. Pada lampiran 17 tersebut menunjukkan bahwa semua kelompok nilai $\text{sig} < 0,05$ kecuali pada kontrol positif dengan formula 3 dengan nilai $\text{sig} > 0,05$. Hasil uji aktivitas antibakteri pada

masing-masing formula terdapat perbedaan yang signifikan kecuali pada kontrol positif dengan formula 3 yang tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

SIMPULAN

Formulasi sediaan gel ekstrak terpurifikasi kelopak rosella (ETKR) yang dibuat terdapat perbedaan karakteristik baik pada mutu fisik maupun besarnya aktivitas antibakteri. Perbedaan ini karena jumlah konsentrasi zat aktif yang berbeda-beda pada tiap formulanya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Harti A. Dasar-dasar Microbiologi Kesehatan. Jakarta: Nuha medika 2012.
2. Singh SM, Khare RK, Patidar S, Bagde KN, Sahare D, dan Singh V. Antibacterial Activities Against Pyogenic Pathogens. Journal Of Pharmaceutical Sciences And Research, 2013. Volum 4. No 8, pp. 2974-2979
3. Permenkes, R. Tentang Pedoman Umum Penggunaan Antibiotika. Nomer 2406/MENKES/PER/XII/2011. 2011.
4. Da-Costa-Rocha I, Bonnlaender B, Sievers H, Pischel I, dan Heirich

- M. Hibiscus sabdariffa L. – A Phytochemical and Pharmacological Review. Food Chemistry, 2014. p. 424 – 443
5. Sari F, dan Aryantini D. Karakter Spesifik Dan Pengaruh Pemberian Oral Ekstrak Terpurifikasi Kelopak Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Terhadap Makroskopis Organ Hepar Tikus Wistar. Jurnal Wiyata, 2018. 2(1).
6. Anggarbeni R. Uji Daya Hambat Air Rebusan Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. Jurnal Wiyata. 2015. Volum 2. No 1
7. Ji Y, Lestari N, dan Rinanda T. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) Terhadap *Streptococcus pyogenes* Secara In Vitro. Jurnal Kedokteran Syiah Kuala, 2012.
8. Jung E, Kim Y, dan Joo N. Physicochemical Properties And Antimicrobial Activity Of Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Journal of The Science Of Food and Agriculture, 2013. Volum 93. No 15, pp. 3769-3776..
9. Phad A, Dilip N, dan Ganapathy R. Emulgel : A Comprehensive Review For Topical Delivery Of Hydrophobic Drugs. Asian Journal Of Pharmaceutics, 2018. Volum 12. No 2, pp. 382-393.
10. Melyandari R, Umar AH, Radhia R, dan Mirnawati S. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosasinensis* L.) Terhadap Motilitas Sperma Mencit Jantan (*Mus musculus*). Journal Of Pharmaceutical and Medical Science, 2016. Volume 1, pp. 18-21.
11. Depkes, Farmakope Indonesia Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Repeblik Indonesia. 1995.
12. Voigt, R., 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Yogyakarta: UGM Press.
13. Depkes, Farmakope Indonesia Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. 1979.
14. Anief M. Ilmu Meracik Obat. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. 1997.
15. Naibaho DH, Yamkan V, dan Weni W. Pengaruh Basis Salep Terhadap Formulasi Sediaan Salep Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum* L) pada Kulit Punggung Kelinci yang Dibuat Infeksi *Staphylococcus aureus*. Jurnal Ilmiah Farmasi – UNSRAT, 2013. Volum 2. No 2.
16. Zahro L, dan Agustina R. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kasar Saponin Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Escherichia coli*. Journal Of Chemistry., 2013. Volum 2. No 3.