

Aktivitas *Lactobacillus acidophilus* Dalam Infusum Kelopak Bunga *Hibiscus sabdariffa* L. Untuk Pengembangan Produk Antiseptik Kewanitaan

*Prima Nanda Fauziah¹⁾, Desi Audia¹⁾

¹⁾Prodi Analis Kesehatan, Fakultas Kesehatan, Universitas Mohammad Husni Thamrin, Jakarta, Indonesia

*Correspondence author: Prima Nanda Fauziah, primanandafauziah@gmail.com, Jakarta, Indonesia

Abstrak

Kesehatan organ reproduksi sangat penting bagi siklus kehidupan wanita karena mampu mencegah timbulnya penyakit infeksi dari mikroorganisme. Pada vagina wanita sehat terdapat 95% ekosistem seimbang dari bakteri atau disebut mikroflora vagina, genus *Lactobacillus* merupakan spesies dominan dari mikroflora vagina. *Lactobacillus acidophilus* merupakan spesies bakteri yang cukup dominan dalam ekosistem vagina. Terganggunya keseimbangan dari mikroflora normal di vagina wanita berkontribusi sebagai penyebab penyakit *bacterial vaginosis* (BV) dan infeksi saluran kemih (ISK). Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) adalah salah satu tumbuhan yang mengandung antioksidan eksogen alami yang saat ini banyak diteliti, karena hampir semua bagian tumbuhan ini bisa digunakan untuk keperluan pengobatan. Fauziah dkk. (2021) membuktikan infusum kelopak bunga rosella memiliki kemampuan antibakteri terhadap patogen penyebab ISK. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas *Lactobacillus acidophilus* sebagai mikroflora normal vagina pada berbagai konsentrasi infusum kelopak bunga rosella. Penelitian ini menggunakan metode *minimum inhibitor concentration* (MIC) termodifikasi berdasarkan hasil penelitian Fauziah dkk. (2013) dan Vioretti dkk. (2018). Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* memiliki aktivitas pertumbuhan pada infusum kelopak bunga rosella pada konsentrasi <40%. Simpulan, pada infusum kelopak bunga rosella dapat dijadikan alternatif bahan untuk pembuatan produk antiseptik kewanitaan yang aman bagi mikroflora vagina.

Kata kunci: Antiseptik, bacterial vaginosis, infeksi saluran kemih, *Hibiscus sabdariffa* L., *Lactobacillus acidophilus*

Abstract

The health of the reproductive organs is very important for a woman's life cycle because it can prevent the emergence of infectious diseases from microorganisms. In a healthy woman's vagina there is 95% balanced ecosystem of bacteria or so-called vaginal microflora, the genus Lactobacillus is the dominant species of vaginal microflora. Lactobacillus acidophilus is a bacterial species that is quite dominant in the vaginal ecosystem. Disruption of the balance of microflora in a woman's vagina contributes to bacterial vaginosis (BV) and urinary tract infections (UTIs). Rosella (Hibiscus sabdariffa L.) is one of the plants that contains natural exogenous antioxidants which is currently being widely studied, because almost all parts of this plant can be used for medicinal purposes. The

research results of Fauziah et al. (2021) showed that infusum of rosella calyx has an antibacterial ability against pathogens that cause UTIs. This study aims to determine the activity of *Lactobacillus acidophilus* as vaginal microflora at various concentrations from infusum of rosella calyx (*Hibiscus sabdariffa* L.) infusum as antibacterial properties. This study used a modified minimum inhibitor concentration (MIC) method based on the research results of Fauziah et al. (2013) and Vioretti et al. (2018). The results of this study indicate that *Lactobacillus acidophilus* has growth activity in infusum of rosella calyx at a concentration of <40%. In conclusion, infusum of rosella calyx can be used as an alternative material for the manufacture of feminine antiseptic products that are safe for vaginal microflora.

Keywords: Antiseptic, bacterial vaginosis, urinary tract infection, *Hibiscus sabdariffa* L., *Lactobacillus acidophilus*

PENDAHULUAN

Menurut *World Health Organization* (WHO), kesehatan reproduksi adalah suatu keadaan sejahtera fisik, mental, dan sosial, tidak hanya kondisi yang bebas dari penyakit tetapi juga bebas dari kecacatan secara proses maupun fungsi pada sistem reproduksi manusia. Konsep kesehatan reproduksi menggunakan pendekatan siklus kehidupan perempuan (*life-cycle-approach*) atau pelayanan kesehatan reproduksi dilakukan sejak dari janin sampai liang kubur (*from womb to tomb*) atau biasa juga disebut dengan “*continuum of care women cycle*”. Kesehatan reproduksi menggunakan pendekatan sepanjang siklus kehidupan perempuan hal ini disebabkan status kesehatan perempuan semasa kanak-kanak dan remaja memengaruhi kondisi Kesehatan saat memasuki masa reproduksi yaitu saat hamil, bersalin, dan masa nifas (Ida dan Sri, 2016).

Mikroba di vagina adalah flora heterogeni yang mengandung bakteri atau biasa disebut mikroflora normal. Mikroflora normal ini memainkan peran penting dalam pertahanan terhadap bakteri patogen. Pada vagina wanita sehat terdapat 95% ekosistem seimbang dari bakteri genus *Lactobacillus* (Amin,dkk, 2011). *Lactobacillus sp.* merupakan spesies dominan dari mikroflora vagina. Hubungan antara *Lactobacillus sp.* vagina dan inangnya diatur oleh hormon yang menstimulasi sel epitel vagina untuk menghasilkan glikogen. Glikogen diubah menjadi asam laktat oleh *Lactobacillus sp.* dan menghasilkan pH asam (< 4,5) sehingga menghambat pertumbuhan pathogen (Dasari dkk., 2016). *Lactobacillus acidophilus* merupakan spesies bakteri yang dominan dalam ekosistem vagina. *Lactobacillus* membantu mempertahankan pH vagina normal yaitu berkisar diantara 3,5-4,5 dengan memproduksi asam

laktat yang menyeimbangkan ekosistem vagina (Sibagariang, 2010). Terganggunya keseimbangan mikroflora normal vagina dapat mengakibatkan berbagai penyakit seperti infeksi saluran kemih dan *bacterial vaginosis* (Fauziah dkk., 2021).

Bacterial vaginosis (BV) merupakan sindrom klinis akibat pergantian *Lactobacillus* sp. penghasil hydrogen peroksidase (H_2O_2) dalam vagina normal dengan bakteri anaerob konsentrasi tinggi, contohnya yaitu *Bacteroides* sp., *Mobiluncus* sp., *Gardnerella vaginalis* dan *Mycoplasma hominis*. Hal tersebut menyebabkan penurunan konsentrasi H_2O_2 yang umumnya ditandai dengan produksi dalam tubuh vagina yang banyak, berwarna abu-abu hingga kuning, tipis, homogen, berbau amis, dan terdapat peningkatan pH vagina (Pudjiastuti, 2014). Beberapa penelitian melaporkan bahwa BV pada wanita usia produktif dan ibu hamil dapat menyebabkan kondisi darurat. Oleh karena itu diperlukan alternatif pencegahan dengan menyeimbangkan mikroflora normal vagina agar bakteri patogen mati (Fauziah dkk., 2021).

Hibiscus sabdariffa L. merupakan salah satu tumbuhan dengan kandungan antioksidan eksogen alami yang tinggi di bagian kelopak bunganya, yang saat ini banyak diteliti karena hampir semua bagian tanaman ini bisa digunakan untuk keperluan pengobatan. Rosella juga mempunyai kandungan senyawa kimia yang bisa memberikan banyak manfaat. Rosella adalah tumbuhan yang ideal dan relatif mudah tumbuh pada negara berkembang termasuk Indonesia. Bagian kelopak bunga tumbuhan rosella banyak dimanfaatkan dalam pengolahan pangan. Bagian ini memiliki kandungan antosianin di dalamnya yang memberi warna merah pekat pada kelopak bunga rosella. Selain itu, selain bersifat antibakteri, antosianin juga digunakan untuk menetralsisir radikal bebas.

METODE PENELITIAN

Penelitian dengan metode eksperimental di Laboratorium Kimia dan Mikrobiologi Fakultas Kesehatan Universitas Mohammad Husni Thamrin Jakarta Timur. Penelitian ini dimulai pada 26 Mei 2021 – 7 Oktober 2022. Populasi yang digunakan pada penelitian ini adalah isolat *Lactobacillus acidophilus* yang merupakan mikroflora normal di vagina wanita. Sampel yang digunakan ekstrak infusum bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Adapun tahapan penelitian meliputi: 1) melakukan pengambilan sampel yaitu bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.), 2) melakukan ekstrak infusum bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) dengan

menggunakan pelarut aquadest steril di lakukan di Laboratorium Kimia, 3) melakukan pengenceran stok infusum bunga rosella dengan menggunakan pelarut NaCl 0,9% steril dari konsentrasi 10-100%, 4) identifikasi ulang isolat bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada media MRSB dan MRSA (termasuk pewarnaan Gram dan uji katalase) untuk memastikan bahwa bakteri yang digunakan benar *Lactobacillus acidophilus*, 5) melakukan uji metode *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) termodifikasi berdasarkan penelitian Fauziah dkk. (2013) dan Vioretti dkk. (2018) terhadap bakteri *Lactobacillus acidophilus* dengan berbagai konsentrasi infusum kelopak bunga rosella di Laboratorium Mikrobiologi, 6) mengukur zona jernih yang terbentuk setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dan 7) analisis data.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pewarnaan Gram menunjukkan jenis bakteri *Lactobacillus acidophilus* yang berbentuk basil yaitu bakteri berdempetan atau terlalu dekat satu sama lain, terlihat juga berwarna ungu dan berbentuk batang yang merupakan bakteri Gram positif. Bakteri Gram Positif adalah bakteri yang dinding selnya menyerap warna violet dan memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik *Lacobacillus acidophilus*

Parameter	Teori	Hasil Penelitian
Pertumbuhan Pada Media MRSA	Bentuk : Bulat kecil, Warna : Putih Kekuningan Permukaan : Cembung Tepi : Utuh Elevasi : Cembung	Terbentuk koloni pertumbuhan <i>Lactobacillus acidophilus</i> dengan karakteristik pada Media MRSA
Pewarnaan Gram	Gram positif, berbentuk batang, berwarna ungu, bersifat mesofilik dan tidak dapat membentuk spora	(+)/Positif
Uji Katalase	Bakteri <i>Lactobacillus acidophilus</i> tersebut tidak memiliki kemampuan dalam menghasilkan enzim katalase	(-)/Negatif

Hasil uji katalase pada penelitian ini menunjukkan hasil negatif dimana tidak terbentuknya gelembung pada object glass yang terdapat cairan H₂O₂ saat diolesi dengan

bakteri. Hal ini dikarenakan bakteri asam laktat tidak memproduksi enzim katalase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen dan berkaitan dengan kemampuan bakteri asam laktat yang hanya membutuhkan sedikit oksigen untuk dapat hidup. Uji aktivitas pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* pada infusum kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) sebagai kandidat antiseptik kewanitaan, peneliti telah melakukan uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) termodifikasi berdasarkan hasil penelitian Fauziah dkk. (2013) dan Vioretti dkk. (2018) untuk menentukan konsentrasi yang tepat dari infusum kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) terhadap aktivitas pertumbuhan mikroflora normal vagina *Lactobacillus acidophilus*. Pada uji MIC yang dilakukan terhadap *Lactobacillus acidophilus* menggunakan media LB dan media MRSA, konsentrasi yang digunakan adalah 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% dan 100%, seperti ditunjukkan Tabel 2.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas pertumbuhan *Lactobacillus acidophilus* pada infusum bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dengan metode MIC termodifikasi

Jenis media	Ulangan	Konsentrasi Filtrat Asam Laktat <i>Lactobacillus acidophilus</i> (%)											
		K (-)	K (+)	10 %	20 %	30 %	40 %	50 %	60 %	70 %	80 %	90 %	100 %
LB (<i>Lactose Broth</i>)	1x	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	2x	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
MRSA (<i>De Man Ragosa Sharpe</i>)	1x	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
	2x	-	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-

Keterangan :

1. Media LB (*Lactose Broth*) : (+) adanya kekeruhan, (-) tidak adanya kekeruhan
2. Media MRSA (*De Man Ragosa Sharpe*) : (+) adanya koloni pada plate, (-) tidak ada koloni pada plate.

Infusum kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) dengan metode MIC yang termodifikasi ini merupakan salah satu metode adaptasi untuk digunakan sebagai upaya

melihat aktivitas pertumbuhan mikroflora normal *Lactobacillus acidophilus* pada konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90% 100% infusum kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 1, pada hasil penelitian diketahui bahwa *Lactobacillus acidophilus* dapat tumbuh pada infusum kelopak bunga rosella pada konsentrasi <40%. Infusum kelopak bunga rosella ini diharapkan kedepannya berpotensi sebagai kandidat antiseptik pembersih kewanitaan, karena pada area kewanitaan terdapat bakteri mikroflora normal yang tidak boleh mati tetapi ada juga yang bakteri patogen yang harus mati.

Lactobacillus acidophilus merupakan spesies bakteri yang dominan dalam ekosistem vagina. *Lactobacillus* membantu mempertahankan pH vagina normal yaitu berkisar diantara 3,5-4,5 dengan memproduksi asam laktat yang menyeimbangkan ekosistem vagina (Sibagariang, 2010). Terganggunya keseimbangan mikroflora normal vagina dapat mengakibatkan berbagai penyakit seperti infeksi saluran kemih dan *bacterial vaginosis* (Fauziah dkk., 2021).

Konsentrasi infusum kelopak bunga rosella >40% mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Lactobacillus acidophilus* karena kandungan senyawa fenolik yang terdiri dari flavonoid, tannin, antosianin dan saponin. Senyawa flavonoid merupakan senyawa-senyawa fenol yang terbesar yang terkandung didalam bunga rosella. Senyawa ini menghasilkan zat berwarna merah, ungu, biru, dan zat warna kuning alam tumbuhan. Flavonoid dalam merusak sel bakteri memanfaatkan perbedaan kepolaran antara lipid penyusun sel bakteri dengan gugus alkohol pada senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa fenol yang bersifat desinfektan yang bekerja dengan cara mendenaturasi protein yang dapat menyebabkan aktifitas metabolisme sel bakteri berhenti, karena semua aktifitas metabolisme sel bakteri dikatalisir oleh suatu enzim yang merupakan protein.(Cahyani, F.O., 2011). Oleh karena itu, konsentrasi dari kelopak bunga rosella perlu dioptimasi agar memiliki 2 peran, yaitu sebagai antibakteri untuk bakteri patogen namun tidak membunuh mikroflora normal vagian sehingga ekosistem vagina tetap seimbang.

SIMPULAN

Bakteri *Lactobacillus acidophilus* menunjukkan adanya aktivitas pertumbuhan pada infusum kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) pada konsentrasi <40%. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Lactobacillus acidophilus* memiliki aktivitas pertumbuhan pada infusum kelopak bunga rosella pada konsentrasi <40%. Oleh karena itu, infusum kelopak bunga rosella dapat dijadikan alternatif bahan untuk pembuatan produk antiseptik kewanitaan yang aman bagi mikroflora vagina.

REFERENSI

- Amin M, Goodarzi H, Orang Z, Farsi S, Jorfi M, (2011). *Isolation and Identification of Lactobacillus Spesies from the Vagina and Their Antimicrobial Properties*, African Journal of Microbiology Research. (2011) ; 5(20). hal. 3300-3304.
- Anastiawan, (2014). *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Probiotik yang Berasal dari Usus Itik Pedaging *Anas domesticus**. Skripsi. Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.
- Ariviani S, (2010). *Total Antosianin Ekstrak Buah Salam dan Korelasinya dengan Kapasitas Anti Peroksidasi pada Sistem Linoleat*, AGROINTEK Vol 4, No. 2 121:127, diakses Agustus 2010.
- Aseng, (2015). *Naskah Publikasi Uji Aktifitas Antibakteri*. Diambil kembali dari media.neliti.com: <https://media.neliti.com>.
- Borchers AT, Selmi C, Frederick JM, Carl LK, Eric G, (2009). *Probiotics and immunity (review)*. *J Gastroenterol*.
- Cahyani, F.O, (2011). *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) terhadap *Staphylococcus aureus* secara *in vitro**. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Jember, Jember.
- Dasari S, Karanam S, Anandan, Rajendra W, Valluru L, (2016). *Role of Microbial Flora in Female Genital Tract; A Comprehensive Review*. Asian Pacific Journal of Tropical Disease.; 6(11):909-917.
- Dewi, A.K.(2013). *Isolasi, Identifikasi dan Uji Sentivitas *Staphylococcus aureus* terhadap Amoxicillin dari Sampel Susu Kambing Peranakan Etawa (PE) Penderita Masitis di Wilayah Grimulyo, Kulonogoro*, Yogyakarta. Jurnal SainVeteriner. 32(2):138-150.
- Di Cerbo, Alessandro et al, (2016). *Mechanisms and therapeutic effectiveness of lactobacilli*. Journal of clinical pathology vol. 69,3: 187-203. doi:10.1136/jclinpath-2015-202976.
- Fajar, D. R. (2013). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Ubi Jalar Ungu (*Ipomoea Batatas Var Ayamurasaki*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa* Dengan Metode Difusi Agar*. Universitas Alauddin Makassar, 70.
- Fauziah, P.N., Latifah I., Masdianto, Despiagia, P., Fakhrizal, H.W. (2022). Efek Antibakteri Infusum Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Terhadap *Staphylococcus saprophyticus* ATCC 15305 Penyebab Infeksi Saluran Kemih. ANAKES. 8(1):59-69.
- Fauziah, P.N., dan Masdianto. (2021). Uji Potensi Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L.*) Sebagai Kandidat Antiseptik yang Aman Bagi Mikroflora Normal Vagina. ANAKES. 7(1):52-61.

- Fauziah, P. N., Chrysanti, & Sayuti, J. N. (2018). Effects of *Lactobacillus bulgaricus* in soyghurt on inhibition of adhesion *Klebsiella pneumoniae* strains in HEp-2 cell lines. *International Food Research Journal*, 25(4), 1720–1725.
- Fauziah, P. N., Nurhajati, J., & Chrysanti. (2013). Daya Antibakteri Filtrat Asam Laktat dan Bakteriosin *Lactobacillus bulgaricus* KS1 dalam Menghambat Pertumbuhan *Klebsiella pneumoniae* Antibacterial Effect of Lactic Acid Filtrate and Bacteriocins of *Lactobacillus bulgaricus* KS1 on Inhibiting the Growth of. *Mkb*, 47(1), 35–41.
- Fullerton M, Khatiwada J, Johnson JU, Davis S, and Williams LL. (2010). *Determination of antimicrobial activity of Sorrel (Hibiscus sabdariffaL.) on Escherichia coli O157:H7 isolated from food, veterinary, and clinical samples*. *J Med Food*. Vol. 14(9): 950-956.
- Handoko, E dan W. A. Sumilat. (2011). *Metabolisme hydrogen peroksida dan peranannya pada infeksi telinga*. *Laboratorium Ilmu Penyakit THT FK*. Skripsi. Fakultas Kedokteran. Universitas Brawijaya. Malang.
- Hapni L. (2010). *Analisis Usahatani Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L) di Kabupaten Deli Serdang*. www.repository.usu.ac.id/pdf. Diakses pada tanggal 25 Juni 2021.
- Junaedi, Edi. (2013). *Hipertensi Kandas Berkat Herbal*, Jakarta Selatan : F.media.
- Khazaie K, Zadeh M, Mohammad WK, Praveen B, Fotini G, Kirsten D, Nichole RB, Jennifer LO, Todd RK, Mansour M. 2012. *Abating colon cancer polyposis by Lactobacillus acidophilus deficient in lipoteichoic acid*. *Proc Natl Acad Sci*. 109(26):10462-10467. doi: 10.1073/pnas.1207230109.
- Kuswiyanti, S.Si., M.Kes. (2015). *Bakteriologi*, Jakarta : EGC.
- Kuswiyanto, S.Si., M.Kes. (2015). *Buku Kedokteran EGC*. *Bakteriologi 1 buku analisis ajar analisis kesehatan*, Jakarta : Buku Kedokteran.
- Mardiah, Arifah R, Reki W.A, dan Sawami. (2009). *Budi Daya & Pengolahan Rosela Si Merah Segudang Manfaat*. Jakarta : Agromedia Pustaka.
- Menard JP. (2011). *Antibacterial treatment of bacterial vaginosis: current and emerging therapies*. *Int J Wom Health*; 3:295-305.
- Mohamed, B. B., A. A. Sulaiman and A. A. Dahab. (2012). *Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) in Sudan, cultivation and their uses*. *Bull. Environ. Pharm. Life Sci.*, 1(6) : 48-54.
- Munarsih, e. and rini, p. (2020). *Perhitungan jumlah bakteri di laboratorium mikrobiologi menggunakan pengembangan metode spektrofotometri*, *Jurnal penelitian sains*, 21(3), pp. 163–167. available at: mcfarland.
- Patil S.U., and Shreffler, W.G. (2012). *Immunology in the Clinic Review Series; focus on allergies: basophils as biomarkers for assessing immune modulation*. *Clin Exp Immunol*. 167(1):59-66. doi: 10.1111/J.1365-2249.2011.04503.x.
- Vioretti, R., Khairani, A.F., Fauziah, P.N and Hilmanto, D. (2018). *An evaluation Of yoghurt Potensial On Tumor Necrosis Facor-à And soluble Endoglin Levels In Preclampsia Maternal Serum-Induced Placentl Trophoblast Cell In Vitro*. *International Food Research Journal* 25(4):1397-1402.
- Pudjiastuti TA, Murtiastutik D. (2014). *Studi retrospektif : Vaginosis bacterial*. *BIKKK*;26(2):127-33.
- Putra HA. (2013). *Efektifitas Bunga Rosella Untuk Penurunan Tekanan Darah Pada Pasien Hipertensi*. Jawa Timur: Universitas Muhamadiyah Ponorogo.
- Putri, M.H., Sukini, & Yodong. (2017). *Mikrobiologi Dalam Mikrobiologi* (hal.401).
- Rosen T. (2013). *Gonorrhoea, mycoplasma, and vaginosis*. In: *Wolf K, Goldsmith L, Katz S, Gilcherst B, Paller A, Leffell O, editors. Fritzpatrick's dermatology general medicine*. 8 th edition. New York: McGrawHill;. p.4739-42.
- Rukmana, R. dan Herdi Y. (2015). *Budi Daya Rosella Merah*. Yogyakarta : Cahaya Atma Pustaka.
- Sibagariang, E. Pusmaika, R. dan Rismalinda. (2010). *Kesehatan Reproduksi Wanita*. Jakarta: Trans Info Media.

- Soelama, H. J. J., Kepel, B. J., & Siagian, K. V. (2015). *Uji Minimum Inhibitory Concentration (Mic) Ekstrak Rumput Laut (Eucheuma Cottonii) Sebagai Antibakteri Terhadap Streptococcus mutans*. E-GIGI, 3(2).
- Suryadi Budi Utomo, Mita Fujiyanti, Warih Puji Lestari, dan Sri Mulyani (2018). Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia diambil Kembali dari <https://jurnal.uns.ac.id/jkpk/>.
- Tirta, A., S., M. (2010). *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kelopak Rosella (Hibiscus Sabdariffa Linn) terhadap Propionibacterium acne, Staphylococcus aureus, dan Escherichia coli serta Uj Bioautografi*. Fakultas Farmasi, Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- V'asquez, T. Jakobsson, S. Ahn'e,U. Forsum, and G.Molin (2001). *Vaginal Lactobacillus flora of healthy Swedish women*. Journal of Clinical Microbiology. Vol. 40, no. 8, pp. 2746-2749.
- Wahabi HA, Alansary LA, Al-Sabban AH, Glasziuo P. (2010). *The Effectiveness of Hibiscus sabdariffa in the Treatment of Hypertension: A Systematic Review*. p. 83-86.
- Widyadnyana, D.G.A., I.D.M. Sukrama dan I.W. Suardana. (2015). *Identifikasi bakteri asam laktat isolat 9A dari kolon sapi bali sebagai probiotik melalui analisis gen 16S rRNA*. JSV. 33(2): 228-233. <http://www.jim.unsyiah.ac.id/FKH/article/download/6782/2841>.
- Wijayanti P. (2010). *Budidaya Tanaman Obat Rosella Merah (Hibiscus sabdariffa L.) dan Pemanfaatan Senyawa Metabolis Sekundernya di PT. Temu Kencono, Semarang*. Diakses pada tanggal 25 Juni 2021 melalui www.file.uns.ac.id/pdf/.
- Yuariski, Oki. (2012). *Pengeringan Bunga rosella (Hibiscus Sabdarifa) Menggunakan Pengering Rak Udara Resirkulasi*. Semarang : Universitas Diponegoro.