

**Pengaruh ekstrak metanol daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) terhadap bakteri *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA)**

***The effect of methanol extract of leaves of Hibiscus rosa-sinensis L. against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)***

Mona Fathia<sup>1</sup>, Risa Nursanty<sup>1</sup>, dan Nurdin Saidi<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pegetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala

<sup>2</sup>Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pegetahuan Alam, Universitas Syiah Kuala

e-Mail: monafathia92@gmail.com

**Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh ekstrak metanol terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) dan mengukur daya hambat yang terbentuk. Uji fitokimia dan ekstraksi dilakukan di Laboratorium Penelitian Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA). Uji antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi FMIPA, Universitas Syiah Kuala. Sampel yang digunakan adalah daun *H. rosa-sinensis* yang diperoleh di Gampong Sektor Timur, Darussalam. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan lima perlakuan dan tiga ulangan yaitu; kontrol negatif menggunakan pelarut, ekstrak uji dengan konsentrasi masing-masing 0,2 g/mL, 0,3 g/mL, 0,4 g/mL, dan kontrol positif menggunakan linezolid 30 µg. Hasil uji fitokimia didapatkan bahwa sampel segar mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, steroid dan flavonoid, sedangkan ekstrak metanol mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak metanol mempunyai kemampuan yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA, dengan rata-rata zona hambat sebesar 15,90 mm pada konsentrasi 0,4 g/mL.

**Kata-kata kunci :** *Hibiscus rosa-sinensis* L., metanol, uji antibakteri, zona hambat, MRSA.

**Abstract**

*This study was aimed to determine the effect of the methanol extract against bacteria Methicillin Resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and to measure its inhibition capacity. Phytochemical test and extraction were conducted at the Research Laboratory of Chemistry Department, Faculty of Mathematics and Natural Sciences (MIPA). Antibacterial test was done at the Laboratory of Microbiology Department of Biological Science, University of Syiah Kuala. The samples used leaves of H. rosa-sinensis collected from Gampong Sektor Timur, Darussalam. This study used completely randomized design (CRD) with five treatments and three replications namely; negative control using the solvent, extract test with concentrations 0.2 g / mL, 0.3 g / mL, 0.4 g / mL, and positive control using 30 µg linezolid. Phytochemical test showed that the fresh samples contain alkaloids, terpenoids, steroids, and flavonoids, while the methanol extract contains alkaloids and flavonoids. Antibacterial test showed that the methanol extract have inhibited MRSA bacterial growth, with the average of inhibition zone was 15.90 mm at the concentration of 0.4 g / mL.*

**Keywords :** *Hibiscus rosa-sinensis* L., methanol, antibacterial test, inhibition zone, MRSA

## Pendahuluan

Antibiotik merupakan kelompok senyawa yang bekerja dengan cara menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri. Penggunaan antibiotik dengan dosis yang tidak tepat dan secara berlebihan dapat menimbulkan resistensi (Kee & Heyes, 1996). Timbulnya resistensi pada beberapa jenis antibiotik telah menyebabkan kegagalan dalam penanganan berbagai jenis penyakit infeksi (Uddin, et al., 2010).

Saat ini telah ditemukan adanya resistensi beberapa jenis bakteri terhadap golongan antibiotik diantaranya adalah *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Bakteri ini resisten terhadap antibiotik  $\beta$ -laktam golongan penisillin seperti *methicillin*, *oxacillin*, *cloxacillin* dan *flucloxacillin* (Neal, 2006), sehingga untuk menangani penyebaran bakteri ini perlu dicari pengobatan alternatif. Salah satunya dengan penggunaan tumbuhan yang berkhasiat obat. Penggunaan tumbuhan obat merupakan salah satu alternatif yang dipilih masyarakat untuk mengurangi pemakaian antibiotik. Obat tradisional memiliki berbagai campuran kompleks zat kimia alami. Bahan aktif yang satu dapat bekerja sinergis dengan yang lain, namun ada pula yang bersifat antagonis sehingga akan menyeimbangkannya. Oleh sebab itu, penggunaan obat tradisional relatif tidak menimbulkan efek samping yang besar (Dalimartha, 2006). Obat tradisional diharapkan dapat dipakai dalam sistem pelayanan kesehatan. Guna mencapai hal tersebut perlu dilakukan pengujian ilmiah tentang khasiat dan keamanan obat tradisional (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000). Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat adalah kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) (Dalimartha, 2006). Tumbuhan ini mempunyai khasiat dalam mengobati batuk. Penelitian Sarmiento, Maramba, dan Gonzales (2011) serta Patel, et al. (2012) melaporkan bahwa daun *H. rosa-sinensis* mengandung senyawa kimia berupa tanin, saponin, flavonoid, terpenoid dan alkaloid.

Penelitian yang dilakukan oleh Sunatmo (2007) melaporkan bahwa ekstrak daun etanol *H. rosa-sinensis* mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar

22 mm pada konsentrasi 100 mg dengan metode *well* difusi agar. Penelitian Wattimena (1991), juga membuktikan bahwa ekstrak aseton bunga *H. rosa-sinensis* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 6.7 mm pada konsentrasi 50  $\mu\text{g/mL}$  dengan metode *well* difusi agar. Berdasarkan informasi tersebut, menarik untuk dilakukan uji lebih lanjut mengenai ekstrak metanol daun *H. rosa-sinensis* terhadap bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA).

## Metode Penelitian

Bahan utama yang digunakan untuk ekstraksi dan uji fitokimia adalah daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) yang diperoleh dari Gampong Sektor Timur, Darussalam. Isolat bakteri untuk uji antibakteri yaitu bakteri *Methicillin Resistant Staphylococcus aureus* (MRSA) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Umum Daerah dr. Zainoel Abidin. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi, pelarut metanol dan n-heksana, ammonia pekat, etil asetat, HCl 5%, pereaksi Liebermann Burchard, larutan diklorometana, HCl 2 N, etanol 80%, logam magnesium, HCl 0,5 M dan NaCl fisiologis steril. Reagen yang digunakan yaitu reagen Mayer, Dragendorff, dan Wagner. Media yang digunakan yaitu media *Mueller Hinton Agar* (MHA) dan media *Nutrient Agar* (NA). Kertas cakram (6 mm Oxoid, UK) serta antibiotik linezolid 30  $\mu\text{g}$ .

## Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) untuk uji antibakteri. Rancangan ini terdiri dari tiga ulangan dan lima perlakuan yaitu, ekstrak uji dengan konsentrasi masing-masing 0,2 g/mL; 0,3 g/mL; 0,4 g/mL, kontrol negatif menggunakan pelarut dan kontrol positif menggunakan antibiotik linezolid 30  $\mu\text{g}$ . Uji fitokimia dianalisa secara deskriptif.

## Prosedur

Sampel kering diambil sebanyak 500 g kemudian dimaserasi dengan pelarut metanol selama 2x24 jam. Hasil maserasi tersebut lalu disaring, sedangkan residu dimaserasi lagi dengan pelarut. Filtrat metanol tersebut

kemudian dievaporasi hingga diperoleh ekstrak metanol.

#### Uji fitokimia

Uji fitokimia yang dilakukan meliputi uji flavonoid, uji alkaloid serta uji terpenoid, steroid dan saponin. Sampel yang digunakan yaitu sampel daun segar yang telah dikeringanginkan dan ekstrak metanol.

##### 1. Uji flavonoid

Sampel daun segar *H. rosa-sinensis* ditimbang sebanyak 10 g, kemudian digerus dan dihaluskan, diekstraksi dengan pelarut metanol dan dipekatkan. Ekstrak metanol diekstraksi dengan larutan dan disaring. Residu yang diperoleh dari hasil penyaringan, diekstraksi dengan 10 mL larutan etanol 80% Selanjutnya ekstrak daun segar dan ekstrak metanol masing-masing ditambahkan 0,5 mg logam Magnesium dan HCl 0,5 M. Sampel positif mengandung senyawa flavonoid apabila pada campuran muncul warna ungu atau merah muda.

Apabila flavonoid tidak terdeteksi dengan metode tersebut, maka diuji dengan menggunakan uap ammonia yaitu dengan cara, ekstrak ketiga sampel ditetesi diatas kertas saring. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan diatas uap ammonia selama  $\pm$  10 menit. Selanjutnya diamati dibawah sinar UV. Hasil positif ditandai apabila noda pada kertas saring berwarna ungu ketika diamati dibawah sinar UV.

##### 2. Uji alkaloid

Sampel daun segar *H. rosa-sinensis* ditimbang sebanyak 10 g, kemudian digerus dan dihaluskan. Sampel tersebut lalu dibasahkan dengan ammonia, selanjutnya dimaserasi dengan 5 mL  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  dan dikocok kuat-kuat kemudian disaring dan dipekatkan. Filtrat yang dihasilkan disaring. Filtrat dan ekstrak metanol masing-masing ditambahkan HCl 40% sebanyak 5 mL, campuran ini dikocok kuat-kuat dan didiamkan hingga lapisan asam klorida dan kloroform terpisah. Lapisan asam klorida dibagi kedalam tiga tabung reaksi dan masing-masing tabung diuji dengan reagen Mayer, Dragendorff dan Wagner. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada tabung yang diuji dengan reagen Mayer, terbentuk endapan berwarna kemerahan pada tabung yang diuji

dengan Dragendorff. Hasil positif pada tabung yang diuji dengan pereaksi Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna kuning.

##### 3. Uji terpenoid, steroid dan saponin

Sampel daun segar *H. rosa-sinensis* ditimbang sebanyak 10 g, digerus halus dan ditambahkan metanol panas, kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh diuapkan dengan *rotary evaporator*. Ekstrak metanol kemudian diekstraksi dengan etil asetat. Fraksi yang larut diuji dengan pereaksi Liebermann-Burchard. Apabila terbentuk warna biru atau hijau, menunjukkan bahwa sampel positif mengandung senyawa steroid. Apabila terbentuk warna merah, maka sampel tersebut positif mengandung senyawa terpenoid. Residu yang tidak dapat larut dalam larutan etilasetat dikocok kuat, apabila terbentuk busa selama kurang lebih 30 menit, maka sampel tersebut positif mengandung senyawa saponin. Ekstrak yang diperoleh ditambahkan HCl, jika terbentuk warna ungu atau merah, sampel tersebut mengandung senyawa saponin triterpen. Jika terbentuk warna hijau atau biru menunjukkan sampel tersebut positif mengandung saponin steroid.

#### Uji antibakteri

Pengujian dilakukan dengan metode difusi agar. Setiap cawan petri diisi dengan media MHA sebanyak 15-20 mL dan dibiarkan beberapa saat hingga memadat. Media yang sudah padat kemudian disebarkan suspensi bakteri MRSA sebanyak 0,1 mL yang telah disesuaikan dengan standar 0,5 *McFarland* secara merata pada media dengan menggunakan swab steril.

Cawan tersebut kemudian dibagi menjadi 3 bagian, masing-masing diletakkan kertas cakram yang berisi ekstrak metanol daun *H. rosa-sinensis* sebanyak 20  $\mu\text{L}$  dengan konsentrasi 0,2 g/mL, 0,3 g/mL dan 0,4 g/mL. Perlakuan kontrol menggunakan dua perlakuan, yaitu kontrol negatif dan positif. Kontrol negatif menggunakan kertas cakram yang berisi pelarut dan kontrol positif menggunakan antibiotik linezolid 30  $\mu\text{g}$ . Perlakuan kontrol dengan konsentrasi ekstrak dilakukan pada cawan yang berbeda. Hal ini dilakukan agar zona hambat yang terbentuk tidak saling menyatu sehingga akan saling mempengaruhi antara satu dengan yang lain.

Kertas cakram untuk perlakuan kontrol negatif dan positif diletakkan pada cawan yang sama. Semua perlakuan dilakukan sebanyak tiga ulangan. Masing-masing cawan perlakuan kemudian diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, diamati diameter zona hambat yang terbentuk dan diukur dengan menggunakan jangka sorong (Sunatmo, 2007), kemudian disesuaikan dengan respon hambatan pertumbuhan bakteri oleh Morales.

#### Teknik Analisis Data

Hasil dari uji fitokimia pada penelitian ini dianalisis secara deskriptif. Data uji antibakteri dianalisis dengan menggunakan Analisis Varian (ANOVA) menggunakan aplikasi SPSS versi 21.0, data yang diperoleh tidak berdistribusi normal maka data tersebut ditransformasikan terlebih dulu. Data ditransformasi menggunakan software Microsoft Office Excel dengan rumus transformasi yang dilihat berdasarkan grafik sebaran data (Pallant, 2005). Uji ANOVA menunjukkan adanya pengaruh yang nyata pada perlakuan sehingga dilanjutkan dengan Uji Jarak Ganda Duncan (UJGD).

#### Hasil Penelitian dan Pembahasan

Hasil uji fitokimia daun kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dapat dilihat pada tabel 1. Uji fitokimia dilakukan terhadap sampel daun segar dan ekstrak metanol.

Tabel 1 menunjukkan bahwa sampel daun segar *H. rosa-sinensis* mengandung senyawa alkaloid, terpenoid, steroid dan flavonoid. Ekstrak metanol mengandung senyawa alkaloid dan flavonoid. Senyawa yang tidak terdapat pada kedua sampel adalah saponin. Hal ini terlihat dari tidak terbentuknya busa ketika dikocok dengan akuades (Manitto, 1992).

Senyawa alkaloid positif terkandung dalam sampel segar dan ekstrak metanol, alkaloid biasanya diekstraksi dari jaringan tumbuhan dengan pelarut alkohol yang bersifat asam lemah seperti metanol (Harborne, 1987). Penelitian Patel et al., (2012) melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *H. rosa-sinensis* positif mengandung senyawa alkaloid. Alkaloid diuji dengan menggunakan reagen mayer, Dragendorff dan wagner. Sampel daun segar dan ekstrak

metanol bereaksi dengan reagen Dragendorff dan wagner, hal ini terlihat dari terbentuknya endapan berwarna merah kecoklatan ketika ditetesi reagen Dragendorff dan endapan berwarna kuning ketika ditetesi reagen wagner. Kedua sampel menunjukkan reaksi negatif dengan reagen mayer yang ditandai dengan tidak terbentuknya endapan putih ketika ditetesi reagen tersebut. Hal ini disebabkan sampel tersebut tidak memiliki sensitivitas terhadap pereaksi ini, sehingga sampel tidak menunjukkan reaksi ketika ditetesi reagen. Berbagai senyawa alkaloid memiliki rantai samping yang khas sehingga akan bereaksi dengan reagen tertentu (Robinson, 1995)

**Tabel 1.** Hasil Uji Fitokimia

| Uji fitokimia | Sampel daun segar | Ekstrak metanol |
|---------------|-------------------|-----------------|
| Alkaloid:     |                   |                 |
| Mayer         | -                 | -               |
| Dragendorff   | +                 | +               |
| Wagner        | +                 | +               |
| Saponin       | -                 | -               |
| Terpenoid     | +                 | -               |
| Steroid       | +                 | -               |
| Flavonoid     | +                 | +               |

Keterangan: (+) terdapat senyawa fitokimia,  
(-) Tidak terdapat senyawa fitokimia.

Uji Flavonoid pada penelitian ini tidak menunjukkan hasil positif dengan penambahan Mg dan HCl 0,5 M. Hal ini diduga karena konsentrasi flavonoid pada sampel sangat sedikit sehingga sukar terdeteksi. Semua tumbuhan mengandung senyawa metabolit sekunder namun dalam kadar yang berbeda-beda (Robinson, 1995). Oleh karena itu, perlu diuji dengan metode lain yaitu menggunakan uap ammonia. Uji flavonoid menggunakan metode ini menunjukkan hasil positif pada sampel segar dan ekstrak metanol.

Terpenoid dan steroid positif terkandung dalam sampel segar. Senyawa terpenoid dan steroid umumnya merupakan senyawa nonpolar dan sering diisolasi dari tumbuhan dengan menggunakan pelarut nonpolar (Robinson, 1995). Uji terpenoid dan steroid ini menggunakan pereaksi Lieberman-Burchard. Penelitian (Rostinawati, 2009) melaporkan bahwa tumbuhan *Hibiscus*

*sabdariffa* L. terbukti mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, saponin dan tanin.

Hasil ANAVA ekstrak metanol menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak metanol daun *H. rosa-sinensis* berpengaruh nyata terhadap pertumbuhan bakteri MRSA ( $P < 0,05$ ). Hasil UJGD ekstrak metanol dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Rata-rata diameter zona hambat (mm) akibat pemberian ekstrak metanol *H. rosa-sinensis* terhadap bakteri MRSA

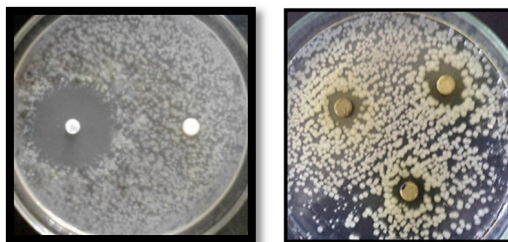
| Perlakuan (konsentrasi)               | Rata-rata ± Standar deviasi |
|---------------------------------------|-----------------------------|
| P <sub>0</sub> (kontrol negatif)      | 0,00 <sup>a</sup> ± 0,00    |
| P <sub>1</sub> (konsentrasi 0,2 g/mL) | 11,63 <sup>b</sup> ± 0,85   |
| P <sub>2</sub> (konsentrasi 0,3 g/mL) | 13,23 <sup>c</sup> ± 1,27   |
| P <sub>3</sub> (konsentrasi 0,4 g/mL) | 15,90 <sup>d</sup> ± 1,39   |
| P <sub>4</sub> (kontrol positif)      | 32,60 <sup>e</sup> ± 0,36   |

Keterangan: superskrip huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ( $P < 0,05$ ).

Tabel 2 menunjukkan bahwa kontrol negatif memperlihatkan hasil yang berbeda nyata dibandingkan dengan semua konsentrasi ekstrak dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Masing-masing konsentrasi ekstrak juga memperlihatkan hasil yang berbeda nyata antara satu dengan yang lain. Ekstrak metanol dengan konsentrasi 0,2 g/mL; 0,3 g/mL dan 0,4 g/mL memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA dan tergolong dalam kategori kuat (11-20 mm) berdasarkan klasifikasi respon hambatan pertumbuhan bakteri Morales (Morales, 2003). Kontrol negatif tidak memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA seperti yang terlihat pada Gambar 4.1. Hal ini juga terdapat dalam penelitian Rosyidah (2010), yaitu kontrol negatif tidak membentuk zona hambat terhadap bakteri MRSA, sedangkan ekstrak dengan konsentrasi 50%, 75% dan 100% masing-masing menghasilkan zona hambat sebesar 6 mm; 7,20 mm dan 7,67 mm.

Ekstrak metanol dengan konsentrasi 0,4 g/mL memiliki kemampuan hambatan yang berbeda nyata jika dibandingkan dengan konsentrasi 0,3 g/mL maupun 0,2 g/mL. Ekstrak 0,4 g/mL membentuk zona hambat rata-rata sebesar 15,9 mm, sementara ekstrak 0,3 g/mL dan 0,2 g/mL masing-masing membentuk zona hambat rata-rata sebesar

13,2 mm dan 11,6 mm. Zona hambat yang terbentuk akibat pemberian ekstrak metanol daun *H. rosa-sinensis* terhadap bakteri MRSA terlihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Diameter zona hambat ekstrak metanol daun *H. rosa-sinensis* terhadap bakteri MRSA

Linezolid 30 µg (kontrol positif) membentuk zona hambat sebesar 33,2 mm. Berdasarkan klasifikasi respon zona hambatan Morales, antibiotik ini memiliki potensi yang sangat kuat ( $> 21-30$  mm) dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA. Linezolid merupakan antibiotik berspektrum sempit, antibiotik ini umumnya melawan bakteri gram positif aerob seperti *Staphylococcus aureus*. Mekanisme kerja linezolid yaitu dengan mengganggu proses translasi sehingga sintesis protein bakteri terhambat (Stringer, 2006).

Ekstrak metanol dengan konsentrasi 0,2 g/mL dan 0,3 g/mL masing-masing memiliki kekuatan hambatan sebesar 10,67 µg dan 12,15 µg jika disetarakan dengan kemampuan antibiotik linezolid 30 µg. Konsentrasi ekstrak 0,4 g/mL memiliki kekuatan hambatan sebesar 14,63 µg atau setengah kali kemampuan linezolid 30 µg. Berdasarkan hal tersebut, ekstrak metanol 0,4 g/mL memiliki potensi yang lebih besar dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.

Kemampuan ekstrak metanol daun *H. rosa-sinensis* dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA disebabkan oleh senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tersebut. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol daun *H. rosa-sinensis* menunjukkan bahwa ekstrak ini mengandung alkaloid dan flavonoid. Kebanyakan jenis flavonoid mempunyai kemampuan antibakteri, antikanker dan antioksidan (Achmad, 1996). Penelitian yang dilakukan oleh Wattimena et al., (1991), membuktikan bahwa senyawa antosianin, tannin dan flavonoid dari ekstrak etanol *H. rosa-sinensis* mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.

Senyawa flavonoid menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler sehingga mengganggu keutuhan membran sel. Mekanisme kerjanya yaitu dengan cara mendenaturasi protein-protein yang terdapat pada membran sel bakteri. Senyawa alkaloid memiliki mekanisme hambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Cowan, 1999).

### Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Daun *Hibiscus rosa-sinensis* L. mengandung senyawa kimia berupa alkaloid, terpenoid, steroid dan flavonoid. Pemberian ekstrak metanol daun kembang sepatu dengan konsentrasi yang berbeda memperlihatkan kemampuan yang berbeda nyata antara satu dengan yang lain dalam menghambat pertumbuhan bakteri MRSA.

### Daftar Pustaka

Achmad, S. A. (1986). *Materi pokok kimia organik bahan alam*. Universitas Terbuka. Jakarta: Departemen Pendidikan Kebudayaan.

Cowan, M. M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. [Versi elektronik]. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 (4): 504-582.

Dalimartha, S. (2006). *Atlas tanaman Obat Indonesia*, Jilid 4. Jakarta: Puspa Swara.

Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat Tradisional Ditjen POM, Departemen Kesehatan R.I.

Emma, H. I. S. (2007). Keanekaragaman floristik dan pemanfaatannya sebagai tanaman obat di kawasan konservasi ii taman nasional bogani nani wartabone (Kabupaten Bolaang Mongondow Sulawesi Utara). (Disertasi, tidak

dipublikasikan). Institut Pertanian Bogor, Bogor.

Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia*. (Terjemahan Kosasi P & Iwang S). Bandung: ITB.

Kee, J. L., & Hayes, E. R. (1996). *Farmakologi pendekatan proses keperawatan*. (Terjemahan Peter Anugerah). Jakarta: EGC.

Manitto, P. (1992). *Biosintesis produk alam*. (Terjemahan Koensoemardiyah). Semarang: IKIP Semarang Press.

Morales, G., Sierra, P., Manolla, A., Parodes, A., Loyolla, I. A., Gallardo, O., & Porguez, J. (2003). Secondary metabolites from four medicinal plants from northern chile: Antimicrobial activity and biotoxicity against *Artemia salina*. *J. Chil. Chem Soc.* 48 (2): 44-49.

Neal, M. J. (2006). *At a glance farmakologi medis* (5 Ed.). (Terjemahan Juwalita Surapsari). Jakarta: Erlangga.

Ogata, Y., Kasahara, Y., Mulyadi, Agus, R., Jamaluddin, Bambang, P., Simanulang, P., & Fauzi, A. (1995). *Indeks tumbuhan obat di indonesia* (Edisi II). Jakarta: PT. Eisai Indonesia.

Patel, R., Patel, A., Desai, S., & Nagee, A., (2012). Study of secondary metabolites and antioxidant properties of leaves, stem and root among *Hibiscus rosa-sinensis* cultivars. *Asian J. Exp. Biol. Sci* 3(4): 719-725.

Pallant, J. (2005). *SPSS survival manual: A step by step guide to data analysis using spss for windows*. Australia: Allen and Unwin.

Robinson, T., (1995). *Kandungan organik tumbuhan tinggi*. (Terjemahan Kosasih Padmawinata). Bandung: ITB.

Rostinawati, T. (2009). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi agar. *Penelitian Mandiri*. Jatinangor: Universitas Padjajaran.

Rosyidah, K., Nurmuhaimina, S. A. Komari, N., & Astuti, M. D. (2010). Aktivitas antibakteri fraksi saponin dari kulit batang tumbuhan kasturi (*Mangifera*

- casturi*). *Jurnal Bioscientiae* 7(2): 25-31.
- Sarmiento, W. C., Maramba, C. C. Gonzales, & M. L. (2011). An in-vitro study on the antibacterial effect of neem (*Azadirachta indica*) leaf extract on methicillin sensitive and methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *PIDSP Journal*. 12(1): 40-45.
- Mooryati Soedibyo. (1998). *Alam sumber kesehatan: Manfaat dan kerugian*. Jakarta: Balai Pustaka
- Stringer, J. L. (2006). *Konsep dasar farmakologi: Panduan untuk mahasiswa* (Edisi Ke 3). (Terjemahan Huriawati Hartanto). Jakarta: EGC.
- Sunatmo, T. I. (2007). *Eksperimen mikrobiologi dalam laboratorium*. Jakarta: Ardy Agency.
- Uddin, B., Hossan. T., Paul. S., Ahmed, T., Nahar, T., & Ahmed S. (2010). Antibacterial activity of the ethanol extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* leaves and flowers against clinical isolates of bacteria. *J. Life Sci.* 22(2): 65-73.
- Wattimena, J. R, Sugiarso, N. C, Widiyanto, M. B, Sukandar, E. Y, Soemardji, A. A, & Setiabudi, A. R. (1991). *Farmakologi dan terapi antibiotik*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Yin, W. M., Li, O. C., Ahmad, R., & Bhat, R. (2013). Antioxidant and antibacterial activities of Hibiscus (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) and Cassia (*Senna bicapsularis* L.) flower extracts. *J. of King Saud University–Science*. Volume 25, Issue 4, October 2013, Pages 275–282