

PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL KELOPAK BUNGA ROSELLA (*Hibiscus Sabdariffa* L) TERHADAP KADAR LDL PADA MENCIT PUTIH BETINA

Surya Dharma¹, Erdinal², dan Zet Rizal²

¹Universitas Andalas, Padang

²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi STIFARM, Padang

Abstract

Research on the effect of roselle calyx ethanol extract (*Hibiscus sabdariffa* Linn) on the levels of LDL female white mice have been done. The extract was administered orally with a variety doses 500, 700 and 1000 mg /kg bw once daily for 7, 14 and 21 days. as a negative control group using white female mice were given standard diet, while the positive control were given atherogenic cocktail as induction. The results showed that the ethanol extract of roselle calyx apparently have a significant effect on levels of LDL blood cholesterol of female white mice. dose of 28 mg/20 g bw showed reduced blood levels of LDL cholesterol better than a dose of 14 mg/20g bw and 19.6/20g bw. Based on further test duncan, reduced levels of LDL cholesterol on day 21 showed excellent results compared to most day 7th and 14th.

Keyword: *Rosella calyx (Hibiscus sabdariffa L) on levels of LDL in female white mice*

Pendahuluan

Tanaman sebagai bahan obat telah dimanfaatkan masyarakat Indonesia sejak dahulu, Seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat akan pentingnya kesehatan, menjadikan obat tradisional sangat populer dan sangat disukai karena mudah didapat dan mempunyai efek samping yang sedikit, sehingga aman di gunakan (Emma, 2004; Cheppy, 2005).

Salah satu tanaman yang banyak digunakan sebagai bahan obat saat ini yaitu bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) menjadi begitu populer. Hal ini dikarenakan hampir seluruh bagian tanamannya dapat digunakan untuk kebutuhan pengobatan, dan Kandungan kimia utama pada kelopak bunga rosella seperti gossypetin, antosianin dan glukosida hibiscin telah terbukti memiliki efek hipotensif (Faraji & Tarkhani, 1999), antihiperlipidemia, antihiperurisemia (Effendi, 2008), anti infeksi bakteri (Olaleye & Tolulope, 2007), meningkatkan HDL dan menurunkan LDL (Susanti, 2009).

Kandungan rosella lainnya adalah vitamin C, vitamin A, dan 18 jenis asam amino yang diperlukan tubuh. Tanaman ini juga mengandung protein, karbohidrat, tiamin, kalsium, antosianin, niasin, asam askorbat, flavonoid, alkaloid, dan asam stearat. Kelopak bunga rosella sangat

bermanfaat untuk kesehatan karena mengandung antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan yang diyakini dapat menyembuhkan penyakit degeneratif, diantaranya untuk menurunkan kadar kolesterol darah, antikanker, peluruh air seni, merangsang keluarnya Empedu dari hati. Selain itu juga dapat menurunkan tekanan darah, antidiabetes, mengurangi kekentalan (viskositas) darah, antiskorbut (sariawan akut), mengurangi batuk, meningkatkan peristaltik usus serta terapi gangguan liver dan asam urat (Herty & Kristiana, 2005; Mardiah, 2009).

Metoda Penelitian

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah botol maserasi, *rotary evaporator*, timbangan digital, timbangan hewan, pipet tetes, gelas ukur, beaker glass, jarum oral, spuit injeksi, silet, tabung reaksi, lumpang dan stamfer, vial, spatel, corong, cawan penguap, Erlenmeyer, batang pengaduk, sentrifuge dan tabung sentrifuge, pipet mikro, spektrofotometer Mikrolab[®] dan tissue.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) segar, etanol 96 %, Na CMC, air suling, koktail

prophyltiourasil (Indofarma), minyak kelapa, lemak sapi, gom, cairan empedu ayam, makanan standar, larutan-larutan (Reagen) pereaksi.

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan hewan percobaan

Sebelum perlakuan hewan terlebih dahulu diaklimatisasi dalam lingkungan percobaan selama 1 minggu (7 hari) dengan diberi makanan standar dan minum yang cukup. Hewan dinyatakan sehat jika selisih berat badan sebelum dan sesudah diaklimatisasi tidak lebih dari 10 % dan secara visual tidak terdapat adanya gejala penyakit atau hewan menunjukkan perilaku normal (Thompson, 1985).

Pembuatan penginduksi koktail aterogenik

Koktail yang merupakan penginduksi kolesterol diberikan setiap hari, koktail terdiri dari : minyak kelapa 30 %, lemak sapi 20 %, cairan empedu ayam 2 %, Prophyltiourasil 0,1 %, dan gom dengan air hingga 10 ml. Koktail dibuat dengan cara masukkan prophyltiourasil kedalam lumpang gerus halus lalu tambahkan lemak sapi dan minyak kelapa gerus homogen (massa 1). Massa I ditambah gom ditambah air 1,5 x gom gerus cepat sampai terbentuk corpus emulsi. Larutkan cairan empedu ayam dengan kelebihan air lalu tambahkan ke dalam corpus emulsi sedikit demi sedikit gerus homogen (Vogel, 2002).

Pembuatan suspensi ekstrak etanol kelopak bunga rosella

Sediaan uji yang digunakan berbentuk suspensi ekstrak etanol kelopak rosella yang dibuat dengan menggunakan NaCMC 0,5% sebagai zat pensuspensi. Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 4% b/v. Zat yang akan diberikan ke hewan uji tersebut, terlebih dahulu disuspensikan dengan NaCMC 0,5 %. Dengan cara : 0,5 gam NaCMC ditabur diatas air panas sebanyak 20 kali berat NaCMC yaitu 10 cc. Setelah NaCMC mengembang, gerus sampai homogen. ditambahkan ekstrak kental kelopak rosella yang sudah di timbang sebanyak 4 gram dan cukupkan dengan air suling hingga volume 100ml. Dosis *rosella* adalah 14 mg, 19,6 mg, dan 28 mg/20g BB sedangkan kosentrasi volume suspensi yang akan diberikan adalah 4 %. Hal ini berarti, jika suspensi

adalah 4 gam dalam 100 cc, maka untuk 1 cc didapatkan 0,04 gam. Sehingga untuk dosis 14 mg volumenya adalah 0,35 cc digunakan 0,35 cc, untuk dosis 19,6 mg volumenya adalah 0,49cc digunakan 0,49 cc, dan untuk dosis 28 mg volumenya adalah 0,7 cc digunakan 0,7 cc untuk 20 g BB.

Perlakuan pada hewan percobaan

Hewan percobaan dibagi menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 15 ekor mencit. Sebelum perlakuan, setiap hewan dipuasakan lebih kurang 18 jam, tapi air tetap diberikan kemudian hewan diperlakukan

Kelompok I : Diberikan makanan standar selama 21 hari (kontrol negatif).

Kelompok II : Diberikan koktail aterogenik secara oral selama 21 hari (Kontrol Positif).

Kelompok III : Diberikan koktail aterogenik + dosis I 0,35 ml/20g BB secara oral selama 21 hari

Kelompok IV : Diberikan koktail aterogenik + dosis II 0,49 ml/20g BB secara oral selama 21 hari

Kelompok V : Diberikan koktail aterogenik + dosis III 0,7 ml/20g BB secara oral selama 21 hari Perlakuan terhadap hewan percobaan dilakukan setiap hari satu kali selama 21 hari.

Pengukuran kadar LDL

Pengukuran kadar LDL dilakukan pada hari ke 7, 14 dan 21. Darah diambil dengan cara memotong pembuluh darah leher mencit dan ditampung dalam tabung reaksi. Darah diambil didiamkan selama 15 menit lalu disentrifus selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Bagian cairan jernih (serum) dari darah digunakan untuk pengukuran kadar LDL kolesterol.

Cara pemeriksaan :

1. Kolesterol Total

Serum darah yang telah dipipet dengan pipet mikro sebanyak 10 µl dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan larutan pereaksi kolesterol sebanyak 1 ml dan dicampur dengan menggunakan vortex, lalu dibiarkan 20 menit pada suhu kamar. Serapan diukur pada panjang gelombang 500 nm terhadap blanko.

2. LDL

Darah yang telah diambil didiamkan selama 15 menit kemudian disentrifus selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Bagian cairan jernih (serum) digunakan untuk mengukur kadar kolesterol LDL dengan cara Pipet serum sebanyak 0,2 ml (200 µl) lalu tambahkan 0,5 ml larutan pengendap kolesterol, dan campurkan larutan dengan baik menggunakan vortex, biarkan selama 10 menit pada suhu kamar. Larutan kemudian disentrifus selama 20 menit dengan kecepatan 3000 rpm. Ambil 0,1 ml (100 µl) supernatant dan masukkan ke dalam tabung reaksi. Tambahkan pereaksi kolesterol sebanyak 1 ml (1000 µl), homogenkan dengan vortex lalu biarkan selama 10 menit pada suhu kamar. Ukur serapan pada panjang gelombang 500 nm.

Hasil dan Pembahasan

Hasil

Setelah dilakukan penelitian mengenai pengaruh pemberian ekstrak etanol kelopak bunga rosella terhadap kadar LDL kolesterol darah mencit putih betina yang di lakukan pada hari ke 7,14 dan 21 maka diperoleh hasil sebagai berikut :

1. Dari 3,5 kg kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) diperoleh ekstrak kental sebanyak 75,9 g.
2. Dari karakteristik ekstrak kelopak rosella dapat dikatehui bahwa estrak kelopak rosella mempunyai susut pengeringan 12,66 % dan dari uji kandungan kimia dari ekstrak kelopak rosella ini adalah : alkaloid (+), terpenoid (-), steroid (-), fenolik (+), flavonoid (+), saponin (-).

Tabel 1. Hasil pemeriksaan metabolit sekunder dari ekstrak kelopak bunga rosella

No	Kandungan kimia	Pereaksi	Hasil pengamatan
1	Alkaloid	Mayer	+ endapan putih
2	Flavonoid	Mg/HCl	+ warna merah
3	Steroid	Liebermann-Buchard	(-)Warna coklat
4	Terpenoid	Liebermann – Buchard	(-) warna coklat
5	Fenolik	FeCl ₃	(+) warna hijau
6	Saponin	Air	(-) tidak berbusa

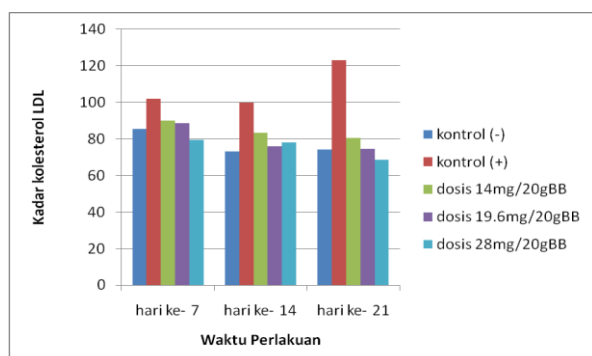
Keterangan :

(+) = Bereaksi (-) = tidak bereaksi

3. Uji efek ekstrak rosella terhadap kadar LDL kolesterol darah pada mencit putih betina adalah sebagai berikut:

- a. Kadar LDL kolesterol darah rata-rata pada kelompok I (kontrol negatif) pada pengamatan hari ke 7, 14 dan 21 berturut-turut adalah 85,44 mg/dl, 73,28mg/dl dan 74,09 mg/dl.
- b. Kadar LDL Koesterol darah rata-rata pada kelompok II (kontrol positif) pada pengamatan hari ke 7, 14 dan 21 berturut-turut adalah 102,02 mg/dl, 99,90 mg/dl dan 123,10 mg/dl.
- c. Kadar LDL kolesterol darah rata-rata pada kelompok III (dosis I = 14 mg/20g BB) pada pengamatan hari ke 7, 14 dan 21 berturut-turut adalah 90,10 mg/dl, 83,22 mg/dl dan 80,63 mg/dl.
- d. Kadar LDL kolesterol darah rata-rata pada kelompok IV (dosis II = 19,6 mg/20g BB) pada pengamatan hari ke 7, 14 dan 21 berturut-turut adalah 88,66 mg/dl, 75,93 mg/dl dan 74,60 mg/dl.
- e. Kadar LDL kolesterol darah rata-rata pada kelompok V (dosis III = 28 mg/20g BB) pada pengamatan hari ke 7, 14 dan 21

berturut-turut adalah 79,57 mg/dl, 78,12 mg/dl dan 68,57 mg/dl.



Gambar 1. Diagram batang kadar kolesterol darah rata-rata mencit pada pengamatan hari ke- 7, 14, dan 21 setelah pemberian makanan standar, koktail aterogenik dan dosis rosela dengan tiga variasi dosis (14, 19,6 28 mg/20g BB).

Tabel 2. Pemberian ekstrak etanol kelopak bunga rosella dalam bentuk persentase.

Dosis	Perlakuan	Hari ke- 7	Hari ke- 14	Hari ke- 21
		klp dosis		
1	14 mg/20g BB	11,68 %	16,69 %	34,49 %
2	19,6mg/20gB	13,06 %	23,99 %	39,39 %
3	28 mg/20g BB	22,00 %	21,80 %	44,29 %

Tabel 3. Data rata-rata kadar LDL kolesterol darah mencit.

NO	Perlakuan	Hari ke- 7	Hari ke- 14	Hari ke- 21
		kelompok dosis		
1	Kontrol Negatif	85,45	73,28	74,09
2	Kontrol Positif	102,02	99,90	123,10
3	Dosis I 14mg/20g BB	90,10	83,23	80,64
4	Dosis II 19,6mg/20g BB	88,66	75,93	74,60
5	Dosis III 28 mg/20g BB	79,57	78,12	68,57

Pembahasan

Pada penelitian ini digunakan kelopak bunga rosela (*Hibiscus sabdariffa* L) Ekstrak etanol kelopak bunga rosela didapatkan dengan melakukan ekstraksi menggunakan metode maserasi, pemilihan metode ini karena bisa digunakan untuk sampel dengan jumlah yang banyak, pelaksanaannya sederhana, tidak memerlukan perlakuan khusus dan kemungkinan terjadinya penguraian zat aktif oleh pengaruh Suhu dapat dihindari karena tidak ada proses pemanasan.

Kelopak bunga rosela yang akan di maserasi dirajang terlebih dahulu dengan tujuan agar pelarut dapat berpenetrasi dengan mudah sehingga penarikan zat aktif lebih sempurna. Maserasi sampel dilakukan dengan menggunakan pelarut etanol 96 %. Penggunaan etanol sebagai pelarut universal disebabkan karena sifatnya yang mudah melarutkan senyawa zat aktif baik yang bersifat polar, semi polar dan non polar serta kemampuannya untuk mengendapkan protein dan menghambat kerja enzim sehingga dapat menghindari proses hidrolisa dan oksidasi (Harbone, 1997).

Dalam penelitian ini digunakan hewan percobaan mencit putih betina sebanyak 75 ekor, karena mudah ditangani dan mempunyai kemiripan fisiologi dan anatominya dengan manusia. Sebelum perlakuan mencit terlebih dahulu di aklimatisasi selama 7 hari untuk penyesuaian terhadap lingkungan dan diberi minum dan makanan standar. Sebagai penginduksi diberikan Koktail aterogenik, yang terdiri dari : minyak kelapa 30 %, lemak sapi 20 %, cairan empedu ayam 2 %, prophyltiourasil 0,1 % dan gom dengan air 10 ml. Untuk dapat meningkatkan kadar kolesterol darah. Sehingga dengan kombinasi tersebut diharapkan mencit cepat mengalami keadaan hiperkolesterolemia. Pemberian makanan standar, penginduksi koktail aterogenik dan pemberian dosis uji dilakukan setiap hari selama 21 hari.

Pengukuran kadar kolesterol total darah mencit dilakukan dengan metoda enzimatik dengan melibatkan enzim kolesterol esterase yang menghidrolisis kolesterol ester menjadi kolesterol bebas dan asam lemak serta enzim kolesterol oksidase yang mengoksidasi kolesterol bebas

menjadi kolestenon dan hidrogen peroksida. Selanjutnya hidrogen peroksida akan bereaksi dengan 4-aminoantipirin dan fenol membentuk kompleks quinonimine yang berwarna merah atas bantuan enzim peroksidase. Dengan adanya warna yang terbentuk kemudian diukur kadar kolesterol totalnya dengan spektrofotometer Mikrolab[®]. Metoda enzimatik dipakai karena lebih sensitif dan sederhana pengerjaannya serta paling lazim digunakan di laboratorium klinik (Kaplan, 1999).

Penentuan kadar LDL darah dilakukan dengan metoda enzimatik juga yang sama mekanisme reaksinya dengan penentuan kadar kolesterol total, hanya saja pada penentuan kadar LDL terlebih dahulu ditambahkan larutan pengendap pada serum dengan tujuan agar terpisahnya kilomikron, VLDL, LDL dari HDL. Dimana kilomikron, VLDL, dan HDL setelah disentrifuge yang tinggal dalam supernatan hanya LDL, setelah itu baru ditentukan kadar LDL dengan metoda enzimatik. Hasil LDL di dapat dari = kolesterol total – kolesterol LDLsupernatan. Berdasarkan hasil penelitian diketahui bahwa pemberian ekstrak kelopak bunga rosela mampu menurunkan kadar LDL kolesterol darah mencit yang lebih rendah dibandingkan kontrol positif.

Pengaruh ekstrak kelopak bunga rosela terhadap penurunan kadar LDL kolesterol darah mencit diduga karena aktivitas antioksidan dari antosianin yang terkandung di dalam kelopak bunga rosela tersebut, dimana jika molekul yang mengandung elektron seperti guanin DNA (Asam Dioksi ribo Nukleat) terserang radikal bebas, maka akan terjadi kesalahan replikasi DNA. Kesalahan ini akan menyebabkan kerusakan DNA yang memicu oksidasi LDL (Low Density Lipoprotein), kolesterol dan lipid. Antioksidan rosela mampu meredam aksi radikal bebas tersebut, yang bekerja dengan cara mencegah terjadinya radikal bebas sehingga sel endotel terlindungi dan penumpukan kolesterol pada dinding pembuluh darah dapat dicegah, pada saat inilah kadar LDL menurun dan kadar HDL meningkat.

Hasil pengukuran kadar LDL kolesterol darah diuji secara statistik dengan menggunakan software SPSS uji analisa variansi (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hal ini dimaksudkan untuk mengetahui apakah masing-

masing kelompok mempunyai perbedaan yang signifikan atau tidak. Dari hasil penelitian, didapat kadar kolesterol darah yang sangat beragam dengan standar deviasi pada masing-masing kelompok yang berbeda-beda. Variasi data ini disebabkan oleh kondisi fisiologis masing-masing individu hewan percobaan selama perlakuan dan pengaruh zat uji.

Pengamatan hari ke 7 pada kontrol negative kadar kolesterol LDLnya 85,4480 mg/dL, kontrol positif setelah di berikan penginduksi koktail aterogenik kadar LDL kolesterol darah meningkat 102,0260 mg/dL, hal ini disebabkan karena bahan yang terkandung dalam penginduksi koktail aterogenik ini dapat meningkatkan LDL kolesterol darah, setelah di berikan obat dengan dosis I 14 mg/20g BB terlihat adanya penurunan kadar LDL kolesterol darah menjadi 90,1020 mg/dL dengan persentase penurunan 11,68 %, lalu diberikan dosis II 19,6 mg/20g BB kadar LDL menjadi 88,6660 mg/dL dengan persentase penurunan 13,96 %, dan diberikan dosis III 28 mg/20g BB kadar LDL menjadi 79,5720 mg/dL dengan persentase penurunan 22,00 %. Hal ini menunjukkan adanya penurunan kadar LDL kolesterol darah dengan pemberian ekstrak kelopak rosella yang disebabkan oleh peningkatan pemberian dosis sehingga dapat memberikan efek yang maksimal.

Pengamatan hari ke 14 pada kontrol negative kadar kolesterol LDLnya 73,2860 mg/dl, kontrol positif setelah di berikan penginduksi koktail aterogenik kadar LDL kolesterol darah meningkat 99,9040 mg/dL ,disini terlihat kadar LDL nya di meningkat dikarenakan pemberian induksi koktailnya yang menyebabkan kadar LDL nya meningkat, setelah di berikan obat dengan dosis I 14 mg/20g BB terlihat adanya penurunan kadar LDL kolesterol darah menjadi 83,2280 mg/dL dengan persentase penurunan 16,69 %, lalu diberikan dosis II 19,6 mg/20g BB kadar LDL menjadi 75,9340 mg/dL dengan persentase penurunan 23,99 % dan diberikan dosis III 28 mg/20g BB kadar LDL menjadi 78,1240 mg/dL dengan persentase penurunan 21,80 % di pengamatan ke 14 ini terlihat bahwa dosis II 19,6 mg/20g BB lebih baik menurunkan LDL kolesterol darah di bandingkan dengan dosis III 28 mg/20g BB mungkin hal ini disebabkan oleh penumpukan lemak yang banyak dalam tubuh mencit sehingga pada dosis III ini

kurang maksimal dalam penurunan kadar LDL kolesterol darahnya.

Pengamatan hari ke 21 pada kontrol negative kadar kolesterol LDLnya 74,0980 mg/dL kontrol positif setelah di berikan penginduksi koktail aterogenik kadar LDL kolesterol darah meningkat 123,1040 mg/dL, disini terlihat dengan pemberian induksi koktail aterogenik yang semakin lama maka lemak semakin menumpuk sehingga dapat meningkatkan kadar LDL kolesterol darah, setelah di berikan obat dengan dosis I 14 mg/20g BB terlihat adanya penurunan kadar LDL kolesterol darah menjadi 80,6380 mg/dL dengan persentase penurunan 34,49 %, lalu diberikan dosis II 19,6 mg/20g BB kadar LDL menjadi 74,6020 mg/dL dengan persentase penurunan 39,39 % dan diberikan dosis III 28 mg/20g BB kadar LDL kolesterol darah turun menjadi 68,5700 mg/dL dengan persentase penurunan 44,29 %.

Hal ini terlihat dengan lama waktu dan peningkatan dosis ekstrak rosella dapat menurunkan kadar LDL kolesterol dengan maksimal dapat dilihat pada pengamatan hari ke 21 sangat tampak jelas penurunan LDL kolesterol darah pada dosis ke III 28 mg/20g BB, semakin tinggi dosis maka semakin tajam penurunan kadar LDL kolesterol darah dengan pemberian dari ekstrak rosella. Dari data diatas menunjukkan bahwa terjadi penurunan kadar LDL kolesterol darah yang bermakna bila di bandingkan dengan kontrol positif, persentase penurunan kadar LDL kolesterol darah menurun seiring dengan peningkatan dosis dan lama pemberian. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak kelopak rosella dapat menurunkan kadar LDL kolesterol darah.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat diasumsikan bahwa pemberian ekstrak kelopak rosella dapat menurunkan kadar LDL kolesterol darah pada mencit putih betina yang signifikan ($P < 0,05$). Penurunan kadar LDL kolesterol darah kelompok V dengan dosis III 28 mg/20g BB Sangat bagus menurunkan kadar LDL dibandingkan dosis I 14 mg/20g BB dan dosis II 19,6 mg/20g BB.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan selama 21 hari tersebut dapat diambil kesimpulan berdasarkan uji statistik yang telah dilakukan, yaitu:

1. Faktor perlakuan dan lamanya waktu pemberian ekstrak etanol kelopak bunga rosella (*hibiscus sabdariffa* L) ternyata memberikan pengaruh yang signifikan terhadap kadar LDL kolesterol darah mencit putih betina.
2. Pemberian suspensi ekstrak etanol kelopak rosella (*hibiscus sabdariffa* L) pada dosis 28 mg/20g BB lebih baik menurunkan kadar LDL kolesterol darah dibandingkan dengan dosis 14 mg/20g BB dan 19,6 mg/20g BB.
3. Pada hari ke- 21 menurut uji lanjut Duncan menunjukkan penurunan kadar LDL kolesterol yang sangat maksimal dibandingkan pada hari ke- 7 dan 14.

Daftar Pustaka

- Cheppy, S., 2005, *Pembibitan Tanaman Obat*, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Effendi, H., 2008, *Uji Aktivitas Anti Asam Urat Ekstrak Calyx Rosella (Hibiscus sabdariffa Linn.) terhadap Mencit Putih Jantan (Skripsi)*, Universitas Andalas, Padang.
- Emma, S., 2004, *Buah dan Sayur Untuk Terapi*, Cetakan 10, Penebar Swadaya, Jakarta.
- Faraji M., and H. Tarkhani A., 1999, The Effect of Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa*) on Essential Hypertension. *Journal of Ethnopharmacology*. 231-236.
- Harbone, J., B., 1994, *The Flavonoid Advance and Research Since 1968*, Department of Botany, School of Plant Sciences, The University of Reading, UK.
- Herty, M., dan Kristiana Lusi, 2005, *Khasiat dan Manfaat Rosela*, Cetakan I, Agomedia Pustaka, Jakarta.
- Kaplan, A., 1999, *Clinical Chemistry Interpretation and Techniques*, LeaFebiger, Phyladelphia.
- Mardiah, 2009. *Budi Daya dan Pengolahan Rosella*, Cetakan I, Agomedia Pustaka, Jakarta.

- Olaleye, M. Tolulope, 2007, Cytotoxicity and Bacterial Activity of Methanolic Extract of *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Medicinal Plants Research*. 009-013.
- Susanti, D. 2009. *Pengaruh pemberian ekstrak etanol calix rosella terhadap kadar HDL dan kolesterol total pada mencit putih jantan* (Skripsi). Stifi, Padang.
- Thompson, E.B., 1985, *Drug bioscreening : Fundamental of drug evaluation techniques in pharmacology*, Gaceway Publishing Company Inc, New York.
- Vogel, Gerhard. 2002. *Drug Discovery and Evaluation Pharmacological Assays*, Springer, Gemany.