

Aktivitas Antibakteri *Staphylococcus aureus* dari Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.)

Silvi Andriyani*), Lia Kusmita, Yuvianti Dwi Franyoto

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Yayasan Pharmasi Semarang, Jalan Letnan Jenderal Sarwo Edie
Wibowo KM 1, Semarang, 50192

*email: andriyani.silvi3@gmail.com

Abstrak

Penyakit infeksi merupakan salah satu masalah kesehatan terpenting di negara berkembang seperti Indonesia. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri *Staphylococcus aureus*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dari ekstrak dan antosianin bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). Metode ekstraksi pada penelitian ini adalah metode maserasi dengan pelarut metanol yang mengandung HCl 1% pekat. Pemisahan antosianin menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis Preparatif. Identifikasi antosianin dengan spektrofotometer UV-Vis. Uji aktivitas antibakteri ekstrak dan antosianin pada konsentrasi 9%, 12% dan 15%. Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi sumuran. Pengujian antibakteri ekstrak bunga kembang sepatu pada konsentrasi 9%, 12%, dan 15% memiliki rata-rata zona hambat sebesar 0,637, 0,817, dan 1,006. Sedangkan antosianin konsentrasi 9%, 12%, dan 15% memiliki rata-rata zona hambat sebesar 0,818, 1,009, 1,194. Hasil uji ANOVA dua jalan diketahui bahwa terdapat beberapa yang berbeda signifikan dan berbeda tidak signifikan dalam memberikan aktivitas antibakteri ($p < 0,05$) pada konsentrasi 9%, 12%, dan 15%. Ekstrak dan antosianin bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) memiliki aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus*.

Kata kunci: antosianin, antibakteri, bunga sepatu, *Staphylococcus aureus*.

Abstract

Infectious disease is one of the most important health problems in developing countries like Indonesia. One of the causes of infectious disease is the bacterium *Staphylococcus aureus*. This study aims to determine the antibacterial activity of *Staphylococcus aureus* from extracts and anthocyanins of hibiscus flowers (*Hibiscus rosa-sinensis* L.). The extraction method in this study was the maceration method with methanol solvent containing 1% concentrated HCl. Separation of anthocyanins using the Thin Layer Chromatography Preparative method. Identification of anthocyanins with UV-Vis spectrophotometer. Antibacterial activity test of extracts and anthocyanins at concentrations of 9%, 12% and 15%. Antibacterial activity test was carried out by well diffusion method. Antibacterial testing of hibiscus flower extract at concentrations of 9%, 12% and 15% had an average inhibition zone of 0.637, 0.817 and 1.006. While the anthocyanin concentrations of 9%, 12%, and 15% had an average inhibition zone of 0.818, 1.009, 1.194. The results of the two-way ANOVA test revealed that there were several significant and insignificant differences in providing antibacterial activity ($p < 0.05$) at concentrations of 9%, 12%, and 15%. The results of determining the total anthocyanin content of hibiscus flower juice

obtained an average of 0.287 mg/mL. Extracts and anthocyanins of hibiscus flowers (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) have *Staphylococcus aureus* antibacterial activity.

Keywords: anthocyanin, antibacterial, hibiscus flower, *Staphylococcus aureus*.

1. PENDAHULUAN

Masalah kesehatan terpenting di sebuah negara berkembang seperti di Indonesia ialah penyakit infeksi. Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri. Bakteri adalah mikroorganisme mikroskopis, yang artinya hanya dapat diamati bantuan mikroskop. Bakteri yang patogen lebih berakibat berbahaya dan dapat menyebabkan infeksi sporadis dan endemik, seperti *Staphylococcus aureus* (Mpila dkk., 2015).

Infeksi *Staphylococcus aureus* dapat menyebabkan kondisi dengan gejala yang parah seperti nekrosis, peradangan, tampak jerawat, dan pembengkakan abses. Organ yang paling sering terkena bakteri *Staphylococcus aureus* yaitu kulit, dapat menularkan infeksi ke orang lain yang sedang sakit (Razak dkk., 2013). Untuk menghambat pertumbuhan bakteri yang membawa dampak infeksi di kulit tersebut yaitu dengan pemberian antibakteri.

Antibakteri adalah suatu zat yang fungsinya menekan atau membunuh bakteri. Berdasarkan aktivitas zat antibakteri dapat bersifat bakteriostatik, bakterisidal atau menghambat germinasi spora bakteri (Sartika dkk., 2013). Namun penggunaan antibiotik yang berlebihan akan diikuti dengan munculnya kuman kebal antibiotik atau terjadinya resistensi sehingga manfaat antibakteri akan berkurang (Adrianta, 2016).

Berdasarkan latar belakang diatas perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan alternatif pengganti antibakteri, yaitu dengan menggunakan bahan alam. Bahan

alam yang dapat digunakan sebagai obat salah satunya adalah tanaman kembang sepatu. Pada penelitian Sarma (2016), menunjukkan bahwa ekstrak bunga kembang sepatu yang mengandung senyawa golongan flavonoid terbukti menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Salah satu senyawa golongan flavonoid pada bunga kembang sepatu yaitu antosianin yang memberikan warna merah pada bunganya. Antosianin dapat di ekstraksi dari bunga kembang sepatu dan juga dapat dimanfaatkan untuk pewarna alami (Vankar dan Shukla, 2011).

Pada penelitian aktivitas antibakteri ekstrak etanol kembang sepatu sebelumnya Uddin dkk., (2010), menunjukkan bahwa ekstrak etanolik dari bunga kembang sepatu menunjukkan adanya zona hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, zona hambat yang terbentuk lebih besar dari daunnya. Konsentrasi yang digunakan yaitu sebesar 5% dan 10% yang menghasilkan zona hambat 26 mm dan 29 mm. Terbentuknya zona hambat tersebut karena adanya kandungan flavonoid seperti antosianin. Antosianin adalah pewarna alami yang paling umum ditemui, yaitu zat dengan warna merah, ungu, jingga, atau bahkan biru yang biasanya terdapat pada bunga serta buah-buahan (Saati, 2005).

Antosianin termasuk golongan turunan flavonoid yang dapat berkhasiat sebagai antimikroba dan antioksidan. Menurut Cisowska dkk., (2011), mekanisme aktivitas antimikroba antosianin yaitu

karena interaksi intraseluler dan membran dari senyawa ini. Antosianidin dan cyanidin 3-glucoside adalah bagian antosianin yang berperan sebagai antimikroba karena keberadaan antosianin tersebutlah yang paling banyak ditemukan pada tanaman (Nomer dkk., 2019).

2. METODE

Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan adalah bunga kembang sepatu segar yang diperoleh dari daerah Grobogan, Jawa Tengah. Bahan yang digunakan dalam ekstraksi simplisia yaitu metanol (*technical grade*) dan HCl 1%. Bahan untuk pengujian mikrobiologi yaitu bakteri *Staphylococcus aureus*, *Nutrient Broth* (NB) (Oxoid), *Nutrient Agar* (NA) (Oxoid), media *Mannitol Salt Agar* (MSA) (Oxoid), larutan kontrol positif antibiotik ciprofloxacin (Apotek), larutan kontrol negatif dan pelarut sampel yaitu DMSO (Merck).

Proses Ekstraksi Antosianin

Bunga kembang sepatu segar diblender hingga halus kemudian di ekstraksi dengan pelarut metanol yang mengandung HCl 1% pekat sampai semua bahan terendam dan warna sampel menjadi pucat atau kurang lebih selama 1 jam. Ampas bunga kembang sepatu diperas dengan kain flanel. Filtrat diuapkan pada *rotary evaporator* pada suhu 40 °C - 50 °C yang diberi es batu kemudian digunakan gas N₂ sampai terbentuk ekstrak bunga kembang sepatu yang kental. Ekstrak yang didapat digunakan untuk uji identifikasi antosianin dan uji aktivitas antibakteri.

Uji Pendahuluan Berupa Uji Warna Antosianin

Ekstrak bunga kembang sepatu ditambahkan HCl 2M dipanaskan di dengan suhu 100 °C selama 5 menit. Diamati warna yang terbentuk. Bila timbul warna merah berarti positif mengandung antosianin. Kemudian tambahkan NaOH 2M tetes demi tetes dan amati perubahan warna yang terjadi yaitu dari merah berubah menjadi hijau kebiruan.

Uji Penegasan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Analisis KLT menggunakan fase gerak yang digunakan yaitu BAA (butanol : asam asetat : air) dengan perbandingan (4:1:5) dan fase diam silika gel GF254. Hasil yang didapat dihitung nilai R_fnya (Harborne, 1987 : 84).

Isolasi Antosianin

Isolasi antosianin dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparative. KLT preparatif dilakukan terhadap ekstrak bunga kembang sepatu dengan fase gerak BAA (4:1:5) dan fase diam silika gel F60 254. Diamati bercak yang terbentuk. Noda pita yang berwarna merah sampai biru keunguan dikerok, dilarutkan dengan metanol – HCl 1%.

Identifikasi Antosianin

Identifikasi antosianin dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan melihat pola spektrum yang dihasilkan. Antosianin yang diperoleh dilakukan pembacaan pola spectra pada panjang gelombang 200 nm – 600 nm. (Markham, 1988: 53). Panjang gelombang maksimal antosianin pada rentang 505 nm – 535 nm (Supiyanti dkk., 2010). Setelah dilakukan pengamatan pola spektrum pada antosianin, kemudian

diujikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengujian Aktivitas Antibakteri

Media MSA sebanyak 10 mL dituang kedalam cawan petri yang telah disterilkan dan ditunggu hingga memadat. Kemudian diletakkan *cylinder cup* diatas lapisan media MSA, dituang 10 mL media MSA yang telah diberi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* sebanyak 10 μ L ke dalam cawan yang berisi media agar dan

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan SPSS secara statistika parametrik dengan uji anava dua jalan, jika data yang dihasilkan berbeda maka dilanjutkan

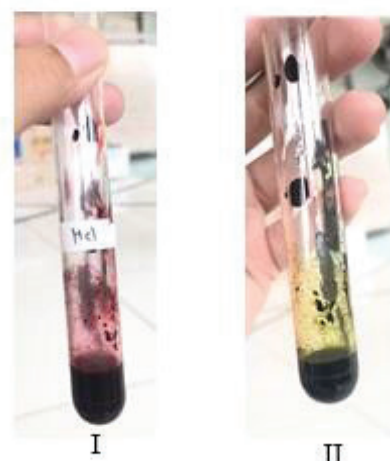
cylinder cup, media dibiarkan memadat sehingga terbentuk lapisan kedua. Setelah memadat *cylinder cup* diangkat. Dimasukkan 20 μ L ekstrak dan antosianin bunga kembang sepatu ke dalam sumuran dengan masing-masing konsentrasi 9%, 12%, dan 15% . Larutan ciprofloxacin sebagai kontrol positif 0,05% dan larutan DMSO sebagai kontrol negatif. Cawan diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 1x24 jam kemudian diukur zona hambat menggunakan alat jangka sorong.

pengujian pasca anava. Bila data tidak normal atau tidak homogen dilakukan analisis statistika non parametrik uji *Kruskall Wallis*, jika terdapat perbedaan maka dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney*.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi bunga kembang sepatu diperoleh sebanyak 35,29 gram dengan rendemen sebesar 7,05% dari 500 gram bunga kembang sepatu segar. Selanjutnya ekstrak bunga kembang sepatu

dilakukan uji skrining fitokimia yang merupakan langkah awal untuk mengidentifikasi kandungan antosianin. Hasil skrining ditunjukkan pada Gambar 1



Gambar 1. Hasil Uji Ekstrak Kembang Sepatu (I) dengan HCl dan (II) dengan NaOH

Uji warna yang dilakukan pada ekstrak bunga kembang sepatu menunjukkan hasil

positif antosianin. Ekstrak ditambah HCl 2M tidak menunjukkan perubahan warna.

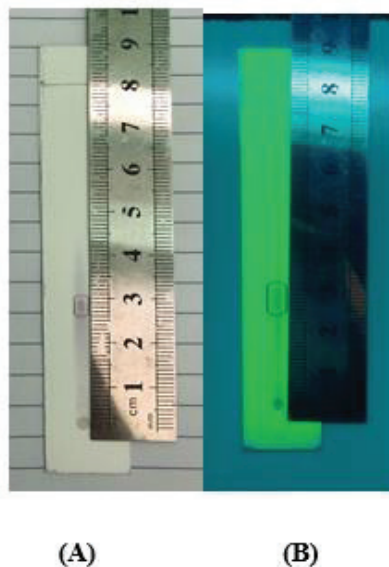
Ekstrak tetap berwarna merah karena HCl yang ditambahkan pada ekstrak bersifat asam sehingga pH dari ekstrak tetap dalam kondisi asam. Pada kondisi asam antosianin berwarna merah. Perubahan warna ekstrak menjadi hijau disebabkan oleh perubahan pH dari ekstrak yang semula bersifat asam setelah penambahan NaOH 2M, kondisi pH berubah menjadi basa atau netral (Lestario dkk., 2011).

Ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) kemudian dilakukan uji penegasan senyawa target yaitu antosianin dengan menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Senyawa antosianin diidentifikasi dengan menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak BAA (4:1:5) menimbulkan noda yang berwarna biru keunguan dengan nilai Rf 0,35. Noda dengan Rf 0,1 sampai 0,4 dengan fase gerak BAA menunjukkan ciri dari antosianin (Harborne, 1987). Sehingga noda dengan nilai Rf 0,35 tersebut adalah noda dari senyawa antosianin. Menurut Lestario dkk., (2011), warna merah keunguan pada Rf 0,35

merupakan ciri dari senyawa antosianin. Hasil KLT antosianin dapat dilihat pada Gambar 2.

pH adalah salah satu faktor yang mempengaruhi warna dari antosianin. Antosianin akan berwarna merah pada pH asam, dan berwarna biru pada kondisi basa. Selain faktor pH, jumlah gugus hidroksi dan metoksi juga mempengaruhi warna dari antosianin (Satyatama, 2008).

Warna noda yang timbul pada plat KLT dengan fase gerak BAA (4:1:5) adalah violet pada saat lempeng KLT belum kering dan setelah lempeng KLT kering, warna noda berubah menjadi biru. Warna violet dan biru menunjukkan antosianin berada pada suasana basa. Warna biru disebabkan karena jumlah gugus hidroksi yang dominan dan warna ini relatif tidak stabil. Sedangkan warna merah disebabkan jumlah gugus metoksi yang dominan dibandingkan gugus hidroksi pada struktur antosianin, dan warna merah relatif lebih stabil (Putri dkk., 2015).

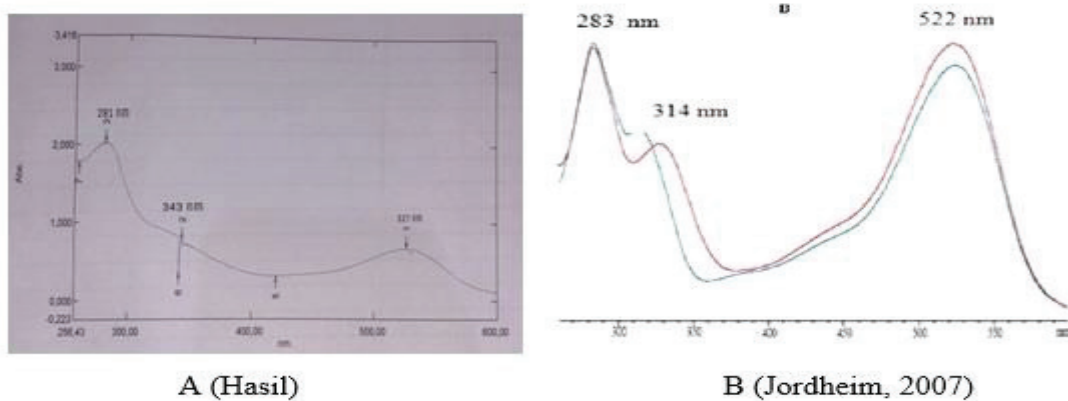


Gambar 2. Hasil KLT Ekstrak Bunga Kembang Sepatu Fase Gerak BAA pada Visual (A) dan Sinar UV 254 (B)

Isolasi antosianin dilakukan dengan menggunakan KLTP menggunakan sistem analisis yang sama dengan KLT. Dari hasil KLTP pita yang dikerok pada Rf 0,35. Hasil isolasi diidentifikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil pola spektrum ditunjukkan pada Gambar 3.

Identifikasi digunakan untuk mengetahui pola spektrum antosianin menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan cara ekstrak bunga kembang sepatu ditotolkan pada lempeng

kromatografi lapis tipis (KLT) preparatif kemudian dielusi menggunakan eluen BAA (4:1:5). Noda yang berwarna biru dikerok dan dilarutkan dalam metanol yang mengandung HCl 1%. Identifikasi dengan pola spectrum menghasilkan puncak pada panjang gelombang 281, 343, dan 527 nm. Puncak pada panjang gelombang 281 dan 527 nm menunjukkan ciri senyawa antosianin (Markham, 1982).



Gambar 3. Spektrum UV Hasil KLT Preparatif (A), Pustaka Jordheim,2007 (B)

Ekstrak dan antosianin yang telah diperoleh selanjutnya dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Uji aktivitas antibakteri ini dilakukan untuk mengetahui apakah ekstrak dan antosianin dari bunga kembang sepatu (*Hibicus rosa-sinensis* L) memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak dan antosianin bunga kembang

sepatu (*Hibicus rosa-sinensis* L) menggunakan konsentrasi 9%, 12%, dan 15% dan sebagai pembanding yaitu kontrol positif ciprofloxacin dengan konsentrasi yaitu 0,1%. Data diameter daya hambat ekstrak dan senyawa antosianin bunga kembang sepatu (*Hibicus rosa-sinensis* L) terhadap *Staphylococcus aureus* disajikan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Antibakteri Ekstrak dan Antosianin Bunga Kembang Sepatu

Sampel	Replikasi	Diameter Zona Bening (cm)				
		Konsentrasi				
		9%	12%	15%	K+	K-
Ekstrak	1	0,633	0,820	1,010	1,830	0,000
	2	0,637	0,818	1,005	1,834	0,000
	3	0,636	0,813	1,007	1,835	0,000
	4	0,634	0,817	1,011	1,833	0,000
	5	0,638	0,820	1,008	1,831	0,000
Rata-rata		0,637 ± 0,002	0,817 ± 0,002	1,006 ± 0,002	1,832 ± 0,002	0,000
Antosianin	1	0,821	1,010	1,195	1,832	0,000
	2	0,817	1,005	1,193	1,833	0,000
	3	0,815	1,004	1,190	1,831	0,000
	4	0,822	1,008	1,191	1,834	0,000
	5	0,820	1,006	1,197	1,838	0,000
Rata-rata		0,818 ± 0,002	1,009 ± 0,002	1,194 ± 0,002	1,833 ± 0,002	0,000

Berdasarkan data pada Tabel 1 menunjukkan hasil aktivitas antibakteri ekstrak bunga kembang sepatu (*Hibicus rosa-sinensis L*) konsentrasi 9% memiliki rata-rata 0,637 cm, kemudian pada konsentrasi 12% memiliki rata-rata 0,817 cm, sedangkan konsentrasi 15% memiliki rata-rata 1,006 cm. Uji antibakteri antosianin dari bunga kembang sepatu (*Hibicus rosa-sinensis L*) dari proses KLTP menghasilkan aktivitas antibakteri pada konsentrasi 9% memiliki rata-rata 0,818 cm, kemudian pada konsentrasi 12% memiliki rata-rata 1,009 cm, sedangkan konsentrasi 15% memiliki rata-rata 1,833 cm. Dapat disimpulkan bahwa aktivitas antibakteri pada antosianin bunga kembang sepatu lebih besar daripada ekstrak bunga kembang sepatu. Dari rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan ketiga konsentrasi tersebut menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hal ini sesuai dengan penelitian Uddin dkk. (2010) yang menyatakan bahwa ekstrak etanol bunga kembang sepatu memiliki aktivitas antibakteri sebesar 2,6 cm dan 2,9 mm

dengan konsentrasi sampel yang digunakan yaitu sebesar 5% dan 10%.

Dari hasil diatas dapat disimpulkan bahwa semakin meningkat konsentrasi semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Antosianin merupakan senyawa golongan flavonoid. Flavonoid mempunyai mekanisme antibakteri dengan mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sitoplasma. Membran sitoplasma yang rusak menyebabkan bocornya metabolit penting. Sehingga asam amino dan nukleotida keluar sehingga menyebabkan bakteri mati (Retnowati dkk., 2011)

Diameter zona hambat ekstrak dan antosianin dari bunga kembang sepatu diuji statistika menggunakan SPSS (*Statistical Product and Service Solution*). Hasil uji normalitas dan homogenitas data aktivitas antibakteri ekstrak dan antosianin dari bunga kembang sepatu disajikan Tabel 2 dan 3.

Data yang terdistribusi normal dan homogen selanjutnya dilakukan pengujian parametrik ANOVA 2 jalan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan.

Hasil uji ANOVA 2 jalan di dapatkan hasil signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar kelompok. Kemudian dilakukan pengujian *post hoc*.

Uji *post hoc* dilakukan untuk mengetahui letak perbedaan perlakuan pada tiap kelompok. Hasil uji *post hoc* disajikan pada Tabel 4.

Tabel 2. Uji Normalitas Ekstrak dan Antosianin Bunga Kembang Sepatu

Sampel	Konsentrasi	Signifikansi	Keterangan
Ekstrak	9%	0.200	Terdistribusi Normal
	12%	0.200	Terdistribusi Normal
	15%	0.200	Terdistribusi Normal
Antosianin	9%	0.200	Terdistribusi Normal
	12%	0.200	Terdistribusi Normal
	15%	0.200	Terdistribusi Normal

Tabel 3. Uji Homogenitas Daya Hambat Bakteri dari Bunga Kembang Sepatu

Sampel	Kelompok	Signifikansi	Keterangan
Daya Hambat Bakteri	Based on Mean	0,983	Homogen
	Based on Median	0,997	Homogen
	Based on Median and with adjusted df	0,997	Homogen
	Based on trimmed mean	0,985	Homogen

Tabel 4. Hasil Uji Post Hoc Antar Kelompok Perlakuan

Sampel	Konsentrasi	Ekstrak			K+
		9%	12%	15%	
Antosianin	9%		TBS	BS	BS
	12%	TBS		TBS	BS
	15%	BS	TBS		BS
	K+	BS	BS	BS	

K+ : Kontrol positif ciprofloxacin 0,1%

BS : Berbeda signifikan

TBS : Tidak berbeda signifikan

Uji *Post Hoc* dilakukan untuk mengetahui perbedaan tiap konsentrasi yang digunakan. Dikatakan ada perbedaan signifikan jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 dan dikatakan tidak berbeda signifikan jika nilai signifikansi lebih dari 0,05. Berdasarkan tabel 11 dapat

disimpulkan bahwa hasil uji daya hambat ekstrak 12% dan antosianin 9%, antosianin 12% dan kontrol positif, antar kontrol positif, ekstrak 15% dan antosianin 12% tidak berbeda signifikan terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Terdapatnya hasil perbedaan yang

signifikan pada tiap konsentrasi maupun kontrol positif menunjukkan bahwa kemampuan daya hambat yang dimiliki ekstrak dan antosianin bunga kembang sepatu tidak mampu menyamai kemampuan daya hambat dari kontrol positif ciprofloxacin karena konsentrasi kontrol positif 0,1% sudah mampu memberikan zona hambat dengan rerata diameter sebesar 1,832 pada pengujian antibakteri ekstrak dan 1,833 cm pada pengujian antibakteri antosianin. Sedangkan antosianin dari bunga kembang sepatu konsentrasi 15% memberikan zona hambat paling besar dengan rerata diameter 1,194 cm. Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan antosianin dari bunga kembang sepatu memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* namun

kekuatannya lebih rendah jika dibandingkan dengan kontrol positif ciprofloxacin.

4. SIMPULAN

Ekstrak dan antosianin dari bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Ada perbedaan aktivitas antibakteri yang signifikan pada ekstrak dan antosianin dari bunga kembang sepatu (*Hibiscus rosa-sinensis* L.) dengan konsentrasi 9%, 12% dan 15% terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* kecuali pada ekstrak 9% dengan antosianin 12%, ekstrak 12% dengan antosianin 9%, dan ekstrak 15% dengan antosianin 12% berbeda tidak signifikan.

5. DAFTAR PUSTAKA

Adrianta, K.A. 2016. Identifikasi Senyawa Antosianin Ekstrak Etanol Beras Ketan Hitam (*Oryza sativa* L.) Sebagai Alternatif Pengobatan DBD. *Medicamento*, 2: 17–22.

Cisowska, A., Wojnicz, D., dan Hendrich, A.B. 2011. Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. *Natural Product Communications*, 6: 149–156.

Harborne, J. B. 1987. *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: ITB.

Jordheim, M. 2007. Isolation, identification and properties of pyranoanthocyanins and anthocyanin forms. *Thesis*, 96.

Lestario, L.N., Rahayuni, E., dan Timotius, K.H. 2011. Kandungan Antosianin Dan Identifikasi Antosianidin Dari Kulit Buah Jenitri (*Elaeocarpus Angustifolius Blume*). *Agritech: Jurnal Fakultas Teknologi Pertanian UGM*, 31: 93–101.

Markham, K. R. 1988. Cara Mengidentifikasi Flavonoid. Bandung: ITB.

Mpila, D., Fatimawali, dan Wiyono, W.I. n.d. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Daun Mayana (*Coleus atropurpureus* [L] Benth) Terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* secara in-vitro. *Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT*, 13.

Nomer, N.M.G.R., Duniaji, A.S., dan Nocianitri, K.A. 2019. Kandungan

- Senyawa Flavonoid dan Antosianin Ekstrak Kayu Secang (*Caesalpinia sappan* L.) serta Aktivitas Antibakteri terhadap *Vibrio cholerae*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 8: 216.
- Putri Ni Ketut M, Gunawan I Wayan G, Suarsa I Wayan, 2015. Aktivitas Antioksidan Antosianin dalam Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Super Merah (*Hylocereus costaricensis*) dan Analisis Kadar totalnya. *JURNAL KIMIA* 9 (2), JULI 2015: 243-251
- Razak, A., Djamal, A., dan Revilla, G. 2013. Uji Daya Hambat Air Perasan Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2: 05.
- Retnowati, Y., Bialangi, N., dan Posagi, N.W. 2011. Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* Pada Media Yang Diekspos Dengan Infus Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata*). *Saintek*, 6: 397–405.
- Saati, E. 2005. Pemanfaatan Kulit Buah Naga Sebagai Pengganti Pewarna Sintetis. *Gamma*, 6: 15–34.
- Sarma. 2016. Identifikasi Senyawa Antimikroba Ekstrak Etanol Bunga Kembang Sepatu (*Hibiscus rosa – sinensis* L.) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dengan Metode KLT Bioautografi. *Jurnal Analis Laboratorium Medik*, 1: 12–18.
- Sartika, R., Melki, dan Purwiyanto, A.I. 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Rumpun Laut *Eucheuma cottoni* Terhadap Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Vibrio cholera* Dan *Salmonella typhosa*. *Maspari Journal*, 5: 98–103.
- Satyatama D.I. 2008. Pengaruh Kopigmentasi terhadap Stabilitas Warna Antosianin Buah Duwet (*Syzygium cumini*). [Tesis]. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 118 hal.
- Supiyanti, W., Wulansari, E.D., dan Kusmita, L. 2010. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penentuan Kandungan Antosianin Total Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L). *Majalah Obat Tradisional*, 15: 64–70.
- Uddin, B., Hossan, T., Paul, S., Ahmed, T., Nahar, T., dan Ahmed, S. 2010. Antibacterial activity of the ethanol extracts of *Hibiscus rosa-sinensis* leaves and flowers against clinical isolates of bacteria.
- Vankar, P.S. dan Shukla, D. 2011. Natural dyeing with anthocyanins from *Hibiscus rosa sinensis* flowers. *Journal of Applied Polymer Science*, 122: 3361–3368.