

**REVIEW ARTIKEL : PENGUJIAN BERBAGAI AKTIVITAS EKSTRAK AIR ROSELLA
SECARA IN VITRO (*HIBISCUS SABDARIFFA* L.)**

Annis Chumaedah T, Rimadani Pratiwi

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor 45363
annischumaedah@gmail.com

Diserahkan 30/06/2019, diterima 23/01/2020

ABSTRAK

Tanaman Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) merupakan tumbuhan yang banyak dijumpai di berbagai negara dan salah satunya yaitu di Indonesia. Tujuan dilakukan *review* ini yaitu untuk mengetahui lebih dalam mengenai berbagai aktivitas dari ekstrak air rosella dengan pengujian secara *in vitro*. Ekstrak air rosella lebih sering digunakan dibanding ekstrak etanol rosella. Aktivitas ekstrak air rosella yang telah ditemukan secara *in vitro* yaitu neuroprotektif, antioksidan, antidiabetes, penghambat melanoma, antibakteri, antihipertensi, respon imun, penghambat adipogenesis, penghambat apoptosis dan modulasi produksi MCP-1.

Kata kunci : rosella, ekstrak air, in vitro, aktivitas

ABSTRACT

Roselle (Hibiscus sabdariffa L.) is a plant that is often found in various countries and one of them is in Indonesia. The purpose of this review is to find out more about the activity of rosella water extract by testing in vitro. Roselle water extract is more commonly used compared to ethanol roselle extract. The activity of roselle water extract that has been found by in vitro testing is neuroprotective, antioxidant, antidiabetic, melanoma inhibitor, antibacterial, antihypertensi immune response, adipogenesis inhibitor, apoptosis inhibitor and modulation of MCP-1 production.

Keywords: roselle, water extract, in vitro, activity

PENDAHULUAN

Genus *Hibiscus* mempunyai lebih dari 300 spesies, tetapi kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) dan rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) adalah spesies yang paling terkenal banyak manfaatnya dikalangan masyarakat (Wang, Brad, Brandon, Davis, & Pederson, 2012). Tanaman rosella berbentuk tegak, lebat, dapat tumbuh hingga 2,4 m, dengan batang yang halus atau hampir halus, berbentuk silinder dan biasanya berwarna merah (Da-Costa-Rocha, Bonnlaender, Sievers, Pischel, & Heinrich, 2014).

Rosella berasal dari famili *Marvaceae*. Bunganya berbentuk cangkir dan dikonsumsi

sebagai minuman dingin atau panas (teh asam) (Ali, Wabel, & Blunden, 2005).

Pada kelopak Rosella ditemukan banyak asam organik salah satunya yaitu asam hidroksisitrik yang memiliki aktivitas penghambat α -amilase pankreas dan α glukosidase usus, yang mengarah pada pengurangan metabolisme karbohidrat (Hida, Yamada, & Yamada, 2007).

Asam lain yang terdapat pada kelopak bunga rosella adalah asam *protocatechuic*. Beberapa studi *in vitro* telah mengindikasikan bahwa senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dan jamur (Chao & Yin, 2009).

Selain asam organik rosella juga mengandung senyawa antosianin. Antosianin merupakan sumber agen antioksidan yang baik (Fernandez-Arroyo, Rodriguez-Medina, Beltran-Debon, & Pasini, 2011).

Studi yang baru menyatakan bahwa antosianin dapat mencapai otak dalam beberapa menit setelah dimasukkan ke dalam lambung. Sehingga antosianin mempunyai efek mencegah stres oksidatif. (Passamonti, Vorshvek, Vanzo, & Mattivi, 2005).

Pada studi klinik ekstrak air pada rosella mempunyai aktivitas mengurangi tekanan darah pada orang dewasa pra-hipertensi ringan dan antosianin juga berperan sebagai ACE inhibitor (McKay, Chen, Saltzman, & Blumberg, 2009).

Dari informasi diatas, tanaman rosella memiliki berbagai zat yang bermanfaat bagi manusia dengan bentuk sediaan ekstrak air.

Dengan demikian, *review* artikel ini akan mengulas mengenai pengujian berbagai aktivitas ekstrak air rosella secara *in vitro*.

METODE

Metode yang diterapkan pada *review* artikel ini yaitu dengan cara mengkaji studi literatur yang terdapat pada *Google Scholar* dengan kata kunci "*In vitro test of roselle extract*" dan "*Aqueous extracts of roselle in vitro*". Jurnal yang didapat yaitu jurnal internasional dan berasal dari sumber yang terpercaya seperti Elsevier, NCBI dan reasearchgate.

HASIL

Hasil telaah dari sumber data *review* beberapa jurnal, diperoleh berbagai macam aktivitas yang dipengaruhi oleh ekstrak air rosella yang diuji secara *in vitro*. Tabel 1 menunjukkan berbagai uji aktivitas pada ekstrak air rosella

Tabel 1 Berbagai Uji Aktivitas Ekstrak Air Rosella

No	Uji Aktivitas	Senyawa kimia	Hasil
1.	Neuroprotektif	Fenol, Asam protocatechuic (esculetin), Dephinidin, Konstituen sianidin	Menghambat produksi malondialdehyde (MDA) dalam jaringan otak tikus (G & Rocha, 2008).
2.	Antioksidan	Antosianin, Quersetin, Asam L - ascorbat protocatechuic acid (PCA)	Konsentrasi 0,1 mg /ml merupakan konsentrasi yang baik pada pemantauan pembentukan diena. Sedangkan pada TBAR konsentrasi 5 mg/ml merupakan yang terbaik untuk menurunkan oksidasi (Hirunpanich, Utaipat, & Morales, 2005). Berefek menjadi antioksidan dengan metode TEAC dan FRAP, metode TBARS dan ORAC, REM, elektroforesis dengan sds page, (Fernandez-Arroyo, Rodriguez-Medina, Beltran-Debon, & Pasini, 2011).
3.	Anitidiabetes	Fenol, Flavonoid, Polifenol	Kontrol hiperglikemia melalui penghambatan a-amilase dan a-glukosidase (Ademiluyi & Obboh, 2013).

4.	Penghambat Melanoma	Polifenol	Konsentrasi 4 mg / ml berpotensi menghambat pertumbuhan sel melanoma (Goldberg, Yin, Mupparapu, & Retzbach, 2016).
5.	Antibakteri	Asam protocatechuic, Polifenol, Flavonoid	Menghambat pertumbuhan bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) yang resistan terhadap metisilin, <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , dan <i>Acinetobacter baumannii</i> (Liu, Tsao, & Yin, 2005). Menghambat bakteri <i>Salmonella typhimurium</i> <i>col</i> O157: H7, <i>Listeria monocytogenes</i> DT104, <i>Escher-</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , dan <i>Bacillus cereus</i> (Chao & Yin, 2009). Menghambat pertumbuhan bakteri <i>Campylobacter jejuni</i> dan <i>Campylobacter coli</i> (Yin & Chao, 2008). Melawan bakteri <i>Helicobacter pylori</i> (HP) dengan kombinasi antibiotik (Hassana, Berchova, Majerova, Pokorna, & Svajdlenka, 2015). Menghambat pertumbuhan bakteri <i>E.coli</i> , <i>S. Newport</i> dan <i>L. Monocytogenes</i> (Jaroni & Ravishankar, 2012).
6.	Antihipertensi	Antosianin, Sianidin	Menghambat ACE (Angiotensin Converting Enzyme) pada jaringan paru – paru yang diisolasi dari kelinci (Ojeda, Jiménez-Ferrer, Zamilpa, Herrera-Arellano, Tortoriello, & Alvarez, 2010).
7.	Respon imun	Polifenol (rutin dan asam klorogenik), Antosianin, Asam protocatechuic	Menurunkan PHA dan PWM serta dapat meringankan kondisi imun dalam kondisi hipersensitivitas (Rapavi, Gonzalez-Cabello, Szentmihalyi, Szekely, & Blazovics, 2006).
8.	Penghambat Adipogenesis	Asam hibiscus, Turunan flavon	Menghambat diferensiasi adiposa serta menghambat fosforilasi ERK dan induksi faktor transkripsi adipogenik seperti MEK inhibitor (Kim, So, Youn, & Kim, 2007).
9.	Penghambat Apoptosis	Polifenol, Katekin, Asam elagik	Menghambat sel LNCaP cells dalam tumor xenograft sehingga apoptosis kanker prostat ikut terhambat (Lin, Chan, Sheu, Hsuan, Wang, & Chen, 2012).
10.	Modulasi Produksi MCP-1	Polifenol, Asamhidroksisitat, Asam hibiscus, Asam klorogenat, Antosianin	Melindungi PBMC dari kematian sel yang disebabkan oleh H ₂ O ₂ (Beltran-Deb, Alonso-Villaverde, Aragones, Rodriguez-Medina, Rull, & Micol, 2010).

PEMBAHASAN

Tanaman rosella merupakan salah satu tanaman yang banyak tersebar di Indonesia dan dapat dibuat dengan mudah contohnya yaitu ekstrak air rosella. Pada pembahasan kali ini akan menjelaskan mengenai berbagai macam aktivitas ekstrak air rosella yang diuji secara in vitro.

1. Neuroprotektif

Stress oksidatif adalah penyebab gangguan neurodegeneratif seperti penyakit Lou Gehrig, penyakit Parkinson, dan penyakit Huntington. Ekstrak air rosella mempunyai senyawa fitokimia yang berupa fenol, asam protocatechuic (eskuletin), definidin, dan konstituen sianidin dan berfungsi sebagai neuroprotektif (G & Rocha, 2008).

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu penghambatan produksi MDA dalam jaringan otak tikus. Mekanisme yang terjadi yaitu senyawa fitokimia pada ekstrak air rosella membentuk kompleks dengan Fe (II), sehingga mencegah katalisasi inisiasi peroksidasi lipid, dan mengambil radikal OH yang dihasilkan oleh Fe (II) (G & Rocha, 2008).

2. Antioksidan

Ekstrak air kelopak rosella berfungsi sebagai antioksidan dengan cara menurunkan LDL yang telah diinduksi dengan CuSO₄. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak air rosella pada konsentrasi 0,1 mg /ml merupakan konsentrasi yang baik pada pemantauan pembentukan diena. Sedangkan untuk pembentukan zat reaktif TBAR, konsentrasi 5 mg/ml merupakan yang terbaik (Hirunpanich, Utaipat, & Morales, 2005).

Pada metode REM, elektroforesis mobilitas menurun saat ditambahkan dengan ekstrak, nilai TBARS juga menurun dan pada elektroforesis dengan sds page ekstrak dapat mencegah perubahan fragmentasi ApoB dan degradasi kolesterol yang ditandai dengan ApoB tidak terlihat pada sampel (Chen, et al., 2004).

Menurut penelitian lain dilakukan 4 metode yang berbeda pada ekstrak air rosella untuk mengevaluasi fungsi antioksidan, yaitu Metode TEAC dan FRAP didasarkan pada mekanisme transfer elektron. Sebaliknya, metode TBARS dan ORAC didasarkan pada reaksi transfer atom hidrogen (Fernandez-Arroyo, Rodriguez-Medina, Beltran-Debon, & Pasini, 2011).

Kemudian ekstrak air rosella dibandingkan dengan ekstrak lain yaitu ekstrak daun zaitun yang mengandung 25% oleuropein dan juga ekstrak delima yang memiliki kandungan tinggi dalam antosianin (Fernandez-Arroyo, Rodriguez-Medina, Beltran-Debon, & Pasini, 2011).

3. Antidiabetes

Ekstrak air dari 2 varietas (merah dan putih) kelopak rosella (*Hibiscus sabdariffa*) dapat bertujuan untuk menjadi antidiabetes pada enzim hidrolisis karbohidrat (a amilase and a-glukosidasi). Hasil yang diperoleh yaitu pada IC₅₀ ekstrak air kelopak merah rosella mempunyai aktivitas penghambat a-glukosidase lebih tinggi dibanding kelopak putih. Sedangkan untuk aktivitas penghambat a-amilase kelopak putih lebih tinggi dibanding dengan kelopak merah (Ademiluyi & Oboh, 2013).

Pada penelitian (Adisakwattana, Ruengsamran, Kampa, & Sompong, 2012), ekstrak air rosella dibandingkan dengan 4 tumbuhan yaitu bunga krisan (1), buah maja (2), daun mulberry (3) dan bunga kembang telang (4) menggunakan metode yang sama. Hasil yang diperoleh yaitu pada pengukuran penghambatan alfa glukosidase didapat dari yang tertinggi hingga terendah : $3 > 4 > 1 > 2$ bunga rosella dan 2. Sedangkan untuk pengukuran penghambatan alfa amilase yaitu dari yang tertinggi hingga terendah : rosella $> 4 > 1 > 2 > 3$ (Adisakwattana, Ruengsamran, Kampa, & Sompong, 2012).

Menurut referensi lain pada ekstrak metanol rosella juga dapat menghambat alfa glukosidase di dalam tubuh dan meningkatkan proses penyembuhan luka (Shadhan & Bohari, 2017).

4. Penghambat Melanoma

Melanoma merupakan jenis penyakit kanker kulit yang 80% bisa membawa kematian. Pengujian dilakukan dengan cara membuat ekstrak air rosella yang di fraksinasi. Sel uji yang digunakan yaitu sel LA25 yang ditransformasi oleh konstruk Src kinase onkogenik. Pengujian dilakukan dengan metode western blot (Goldberg, Yin, Mupparapu, & Retzbach, 2016).

Hasil menunjukkan bahwa fraksi ekstrak dengan konsentrasi 4 mg/ml berpotensi menghambat pertumbuhan sel melanoma (Goldberg, Yin, Mupparapu, & Retzbach, 2016).

5. Antibakteri

Staphylococcus aureus (MRSA) yang resistan terhadap metisilin, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan

Acinetobacter baumannii adalah patogen nosokomial yang menyebabkan infeksi aliran darah (Liu, Tsao, & Yin, 2005).

Hasil yang diperoleh yaitu baik ekstrak rosella maupun asam *protocatechuic* dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan tidak dipengaruhi oleh suhu panas (Liu, Tsao, & Yin, 2005).

Diketahui pula pada bakteri yang berbeda yaitu *Salmonella typhimurium* *DT104*, *Listeria monocytogenes* *DT104*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus cereus*. Ekstrak air rosella dan asam *protocatechuic* dapat menghambat pertumbuhan bakteri – bakteri tersebut (Chao & Yin, 2009).

Pada bakteri *Campylobacter jejuni* dan *Campylobacter coli* didapat hasil MIC *campylobacter* yaitu 96–152 µg/ml dan 20–44 µg/ml menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga rosella dan asam *protocatechuic* menurunkan oksidasi lipid, menghambat pertumbuhan aerob (Yin & Chao, 2008).

Menurut penelitian (Hassana, Berchova, Majerova, Pokorna, & Svajdenka, 2015) ekstrak air rosella dapat dikombinasikan dengan antibiotik seperti claritromisin (CLA), amoksisilin (AMX), metronidazole (MTZ) dengan melawan bakteri *Helicobacter pylori* (HP). Hasil menunjukkan bahwa efek ekstrak air rosella dengan CLA atau MTZ dapat melawan empat dari tujuh galur HP yang diuji serta dengan AMX didapat lima dari tujuh galur HP (Hassana, Berchova, Majerova, Pokorna, & Svajdenka, 2015).

Dan pada bakteri *E.coli*, *S. Newport* dan *L. Monocytogenes* ekstrak air rosella dapat menghambat pertumbuhan hidup bakteri tersebut pada selada, kacang-kacangan dan makanan kaleng (Jaroni & Ravishankar, 2012).

6. Antihipertensi

Hipertensi merupakan penyakit umum yang biasa dijumpai di sekitar kita. Mekanisme antihipertensi salah satunya yaitu dengan penghambatan ACE (Angiotensin Converting Enzyme) (Ojeda, Jiménez-Ferrer, Zamilpa, Herrera-Arellano, Tortoriello, & Alvarez, 2010).

Pada penelitian ini bunga rosella akan dibentuk menjadi 3 sediaan yaitu ekstrak air, komponen murni antosianin delphinidin-3-O sambubioside dan cyanidin-3-O-sambubioside dan akan diujikan secara in vitro terhadap isolat ACE paru – paru kelinci. Kemudian mengukur IC50, parameter farmakokinetik dan konstanta disosiasi (Ojeda, Jiménez-Ferrer, Zamilpa, Herrera-Arellano, Tortoriello, & Alvarez, 2010).

Hasil yang diperoleh yaitu ACE (Angiotensin Converting Enzyme) menghambat jaringan paru – paru yang diisolasi dari kelinci (Ojeda, Jiménez-Ferrer, Zamilpa, Herrera-Arellano, Tortoriello, & Alvarez, 2010).

Sama hal nya dengan ekstrak metanol berdasarkan sampel isolasi aorta tikus yang diinduksi dengan K⁺ dan PE (fenilephrin) dapat menjadi relaksan atau vasodilatasi pada endotelium aorta (Ajay, Chai, Mustafa, Gilani, & Mustafa, 2005).

7. Respon Imun

Produksi radikal bebas dapat memodulasi ekspresi berbagai molekul imun dan inflamasi. Ada 4 tipe reaksi hipersensitivitas yang dimediasi oleh mekanisme imun, salah satunya yaitu mediasi sel T (Rapavi, Gonzalez-Cabello, Szentmihalyi, Szekely, & Blazovics, 2006).

Pada penelitian ini bunga rosella yang bersifat antioksidan bisa menghambat proliferasi limfosit T yang diinduksi oleh mitogen. Sampel yang digunakan yaitu limfosit darah perifer manusia sehat yang dipisahkan dari vena heparinisasi (Rapavi, Gonzalez-Cabello, Szentmihalyi, Szekely, & Blazovics, 2006).

Hasil yang didapatkan yaitu semakin meningkat konsentrasi ekstrak air rosella maka akan semakin menurunkan PHA dan PWM (Rapavi, Gonzalez-Cabello, Szentmihalyi, Szekely, & Blazovics, 2006).

8. Penghambat Adipogenesis

Jaringan adiposa merupakan tempat energi utama pada eukariot. Diferensiasi adiposa terjadi pada 3T3-L1 preadiposit. (Kim, So, Youn, & Kim, 2007).

Untuk menguji efek dari ekstrak air rosella pada diferensiasi adipogenik, sel sampel dicampur dengan hormon MDI dan berbagai konsentrasi ekstrak air rosella (Kim, So, Youn, & Kim, 2007).

Hasil yang didapatkan yaitu semakin tinggi dosis yang diberikan maka semakin baik ekstrak rosella menghambat diferensiasi adiposa. Hal ini ditandai dengan pengurangan dan perubahan tetapan lipid, protein dan transkripsi mRNA selama adipogenesis (Kim, So, Youn, & Kim, 2007).

Simpulannya, ekstrak rosella dapat menghambat adipogenesis dengan berbagai jalur (Kim, So, Youn, & Kim, 2007).

9. Penghambat Apoptosis

Apoptosis merupakan kematian sel yang terprogram. Dalam penelitian ini, apoptosis diamati lebih lanjut dalam sel LNCaP (kanker prostat) menggunakan pewarnaan TUNEL,

aliran sitometri dan imunoblot caspase (Lin, Chan, Sheu, Hsuan, Wang, & Chen, 2012).

Hasil yang diperoleh yaitu penghambatan terbesar pada sel LNCaP dibandingkan dengan PC3 dan DU145 (Lin, Chan, Sheu, Hsuan, Wang, & Chen, 2012).

10. Modulasi Produksi MCP-1

Pada penelitian (Beltran-Deb, Alonso-Villaverde, Aragones, Rodriguez-Medina, Rull, & Micol, 2010) membuktikan bahwa ekstrak air rosella dapat memodulasi produksi MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) terhadap IL-6 dan IL-8.

Hasil menunjukkan saat tidak diberi hidrogen peroksida nilai MCP, IL 6 dan IL 8 rendah sedangkan saat diberi Hidrogen peroksida nilainya meningkat dan peningkatan lebih tinggi ketika dosis ekstrak air rosella yang dimasukkan pun semakin meningkat (Beltran-Deb, Alonso-Villaverde, Aragones, Rodriguez-Medina, Rull, & Micol, 2010).

SIMPULAN

Tanaman Rosella merupakan tanaman yang umum dijumpai dan ekstrak air pada rosella mempunyai berbagai macam aktivitas. Hasil uji aktivitas secara in vitro menunjukkan bahwa ekstrak air rosella memiliki aktivitas antioksidan, neuroprotektif, antibakteri, antidiabetes, penghambat melanoma, antihipertensi, respon imun, penghambat adipogenesis, penghambat apoptosis dan modulasi produksi MCP-1.

DAFTAR PUSTAKA

Ademiluyi, A. O., & Oboh, G. (2013). Aqueous Extracts of Roselle (Hibiscus sabdariffa Linn.) Varieties Inhibit α -Amylase and α -Glucosidase Activities In Vitro. *Journal of Medicinal Food*, 88-93.

- Adisakwattana, S., Ruengsamran, T., Kampa, P., & Sompong, W. (2012). In vitro Inhibitory Effects of Plant-Based Foods and Their Combinations on Intestinal α -glucosidase and Pancreatic α -amylase. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 12 : 110.
- Ajay, M., Chai, H., Mustafa, A., Gilani, A., & Mustafa, M. (2005). Mechanisms of The Anti-Hypertensive Effect of Hibiscus sabdariffa L. Calyces. *Journal of Ethnopharmacology* 109, 388-393.
- Ali, B., Wabel, N. A., & Blunden, G. (2005). Phytochemical, Pharmacological and Toxicological Aspect of Hibiscus Sabdariffa. *Phytotherapy Research* , 367-375.
- Beltran-Deb, R., Alonso-Villaverde, C., Aragones, G., Rodriguez-Medina, I., Rull, A., & Micol, V. (2010). The Aqueous Extract of Hibiscus sabdariffa Calices Modulates The Production of Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Humans. *Phytomedicines*, 286-291.
- Chao, C.-Y., & Yin, M.-C. (2009). Antibacterial Effects of Roselle Calyx Extracts and Protocatechuic Acid in Ground Beef and Apple Juice. *Foodborne Pathogens and Disease* Volume 6 No 2.
- Chen, C.-C., Chou, F.-P., Ho, Y.-C., Lin, W.-L., Wang, C.-P., Kao, E.-S., et al. (2004). Inhibitory Effects of Hibiscus sabdariffa L Extract on Low-Density Lipoprotein Oxidation and Anti-Hyperlipidemia in Fructose-fed and Cholesterol fed-rats. *Journal of The Science of Food and Agriculture*, 1989-1996.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). Hibiscus sabdariffa L. – A phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, 424-443.
- Fernandez-Arroyo, S., Rodriguez-Medina, I. C., Beltran-Debon, R., & Pasini, F. (2011). Quantification of the Polyphenolic Fraction and in vitro Antioxidant and in vivo Anti-hyperlipemic activities of Hibiscus sabdariffa Aqueous Extract. *Food Research Internasional* 44, 1490-1495.

- G, O., & Rocha, J. B. (2008). Antioxidant and Neuroprotective Properties of Sour Tea (*Hibiscus sabdariffa*, calyx) and Green Tea (*Camellia sinensis*) on some Pro-oxidant-induced Lipid Peroxidation in Brain in vitro. *Food Biophysics*, 382-389.
- Goldberg, K. H., Yin, A. C., Mupparapu, A., & Retzbach, E. P. (2016). Components in aqueous *Hibiscus rosa-sinensis* flower extract inhibit in vitro melanoma cell growth. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 1-5.
- Hassana, S. T., Berchova, K., Majerova, M., Pokorna, M., & Svajdlenka, E. (2015). In vitro synergistic effect of *Hibiscus sabdariffa* aqueous extract in combination with standard antibiotics against *Helicobacter pylori* clinical isolates. *Pharmaceutical Biology*.
- Hida, H., Yamada, T., & Yamada, Y. (2007). Genome shuffling of *Streptomyces* sp. U121. *Appl Microbiol Biotechnol*, 1387-1393.
- Hirunpanich, V., Utaipat, A., & Morales, N. P. (2005). Antioxidant Effects of Aqueous Extracts from Dried Calyx of *Hibiscus sabdariffa* LINN. (Roselle) in Vitro Using Rat Low-Density Lipoprotein (LDL). *Biol Pharm Bull* Vol 28, 481-484.
- Jaroni, D., & Ravishankar, S. (2012). Bactericidal effects of roselle (*Hibiscus sabdariffa*) against foodborne pathogens in vitro and on romaine lettuce and alfalfa sprouts. *Quality Assurance and Safety of Crops & Foods*, 33-40.
- Kim, J.-K., So, H., Youn, M.-J., & Kim, H.-J. (2007). *Hibiscus sabdariffa* L. water extract inhibits the adipocyte differentiation through the PI3-K and MAPK pathway. *Journal of Ethnopharmacology*, 260-267.
- Lin, H.-H., Chan, K.-C., Sheu, J.-Y., Hsuan, S.-W., Wang, C.-J., & Chen, J.-H. (2012). *Hibiscus sabdariffa* leaf induces apoptosis of human prostate cancer cells in vitro and in vivo. *Food Chemistry*, 880-891.
- Liu, K.-s., Tsao, S.-m., & Yin, M.-c. (2005). In vitro Antibacterial Activity of Roselle Calyx and Protocatechuic Acid. *Pitotherapy Research*, 942-945.
- Maciela, L. G., Carmob, M. A., Azevedob, L., & Daguer, H. (2018). *Hibiscus sabdariffa* anthocyanins-rich extract: Chemical stability, in vitro antioxidant and antiproliferative activities. *Food and Chemical Toxicology* 118, 187-197.
- McKay, D. L., Chen, C.-Y. O., Saltzman, E., & Blumberg, J. B. (2009). *Hibiscus Sabdariffa* L. Tea (Tisane) Lowers Blood Pressure in Prehypertensive and Mildly Hypertensive Adults. *The Journal of Nutrition*, 298-303.
- Ojeda, D., Jiménez-Ferrer, E., Zamilpa, A., Herrera-Arellano, A., Tortoriello, J., & Alvarez, L. (2010). Inhibition of angiotensin convertin enzyme (ACE) activity by the anthocyanins delphinidin- and cyanidin-3-O-sambubiosides from *Hibiscus sabdariffa*. *Journal of Ethnopharmacology*, 7-10.
- Passamonti, S., Vorshvek, U., Vanzo, A., & Mattivi, F. (2005). Fast Access of Some Grape Pigments to the Brain. *J. Agric. Food Chem.*, Vol. 53, No. 18, 7029-7034.
- Rapavi, E., Gonzalez-Cabello, R., Szentmihalyi, K., Szekely, E., & Blazovics, A. (2006). The Effect of Calyx Infusion of *Hibiscus Sabdariffa* L. on T Cell-Mediated Immune Response in Mitogen-Included Blastogenesis of Human Lymphocytes In Vitro. *Acta Alimentaria*, Vol. 35 (3), 281-288.
- Shadhan, R. M., & Bohari, S. P. (2017). Effects of *Hibiscus sabdariffa* Linn. fruit extracts on α -glucosidase enzyme, glucose diffusion and wound healing activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 466-472.
- Wang, L. M., Brad, M., Brandon, T., Davis, J., & Pederson, G. A. (2012). Assessment of Oil Content and Fatty Acid Composition Variability in Two Economically Important *Hibiscus* Species. *Journal Agric. Food Chem*, 6620=6626.
- Yin, M.-c. Y., & Chao, C.-y. (2008). Anti-Campylobacter, anti-aerobic, and anti-oxidative effects of roselle calyx extract and protocatechuic acid in

ground beef. *International Journal of Food Microbiology*, 73-77.

.