

UJI FILTRAT BUNGA ROSELLA (*Hibiscus sabdariffa* L) SEBAGAI INDIKATOR PADA UJI FERMENTASI GLUKOSA (EKSPERIMEN BAKTERI *Escherichia coli*)

oleh :

I Wayan Getas, Gunarti , Baiq Dewi Yulia Hartati

Dosen pada Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Mataram

Abstrak: Bakteri mampu melaksanakan proses-proses metabolisme dengan memanfaatkan segala macam sumber bahan makanan, mulai bahan anorganik sampai bahan organik yang sangat kompleks. Energi untuk metabolisme diambil dari proses fermentasi, respirasi dan fotosintesis. Pada fermentasi dan respirasi energi diperoleh dari proses katabolisme karbohidrat. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pemanfaatan filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa (eksperimen bakteri *Escherichia coli*) Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat *true eksperiment* dengan 5 perlakuan yaitu konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Data dari hasil penelitian berupa perubahan warna dan pH pada media yang di analisa secara deskriptif. Berdasarkan uji laboratorium diperoleh hasil dari semua replikasi menunjukkan tidak terjadi perubahan warna pada media, sedangkan untuk pH dari semua replikasi terjadi perubahan pH media dari pH awal yakni pH 7 menjadi pH 5 setelah penambahan bakteri dan inkubasi 1x24 jam. Dari hasil penelitian didapatkan hasil bahwa bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) tidak dapat digunakan sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa (eksperimen bakteri *Escherichia coli*)

Kata kunci : filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L), perubahan warna dan pH, uji fermentasi glukosa

PENDAHULUAN

Bakteri memiliki berbagai aktivitas biokimia dengan menggunakan nutrisi yang diperoleh dari lingkungan sekitarnya. Transformasi biokimia dapat timbul di dalam dan di luar bakteri yang diatur oleh enzim. Setiap bakteri memiliki kemampuan dalam penggunaan enzim yang dimilikinya untuk degradasi karbohidrat, lemak, protein dan asam amino. Metabolisme ini biasanya menghasilkan produk yang dapat digunakan untuk identifikasi dan karakterisasi bakteri. Prinsip pengamatan aktivitas biokimia atau metabolisme bakteri diketahui dari kemampuan bakteri dalam menggunakan dan menguraikan molekul kompleks serta molekul-molekul yang sederhana dan metabolisme sering kali menghasilkan hasil sampingan yang dapat digunakan untuk identifikasi. Produk sampingan inilah yang akan direaksikan dengan suatu bahan indikator sehingga perubahan warna yang terjadi dapat diketahui. Prinsip-prinsip ini digunakan pada uji untuk identifikasi bakteri dan salah satunya adalah uji fermentasi karbohidrat (Lay B.W, 1994; Murray, 2005; Waluyo, 2007; Ramaisyah, 2011).

Uji Fermentasi Karbohidrat bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam menghidrolisis karbohidrat. Uji fermentasi karbohidrat juga dilakukan untuk mengetahui pembentukan asam dan gas. Asam yang dihasilkan akan menurunkan pH pada media yang akan ditandai dengan perubahan warna indikator pH,

dimana pH media Air Pepton ini adalah $7,0 \pm 0,2$ at 25° C. Dalam uji fermentasi karbohidrat digunakan media air pepton (AP) yang mengandung 0,5 – 1 % karbohidrat dan indikator. Karbohidrat yang sering digunakan adalah glukosa, sukrosa, manitol, maltosa dan laktosa. *Escherichia coli* merupakan salah satu bakteri yang dapat memfermentasi glukosa dimana produk hasil fermentasi berupa asam dan gas, asam yang terbentuk akan menurunkan pH media yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna pada media (Lay B.W, 1994).

Indikator yang biasanya digunakan pada uji fermentasi karbohidrat adalah *fenol red*, *brom cresol purple (BCP)*, *brom timol blue (BTB)*, *metil red* dan *brom cresol green (BCG)* (Lay B.W, 1994, Entjang, 2003)

Saat ini indikator sintetik telah banyak digunakan, tetapi eksplorasi indikator asam basa hingga kini masih dilakukan, khususnya penggunaan indikator alami. Indikator alami merupakan zat warna atau pigmen yang dapat di isolasi dari berbagai tumbuh-tumbuhan, jamur dan alga. Tumbuhan yang paling banyak menghasilkan warna adalah bagian bunga. Di Indonesia terdapat berbagai macam tumbuhan yang dapat menghasilkan zat warna alami salah satunya yakni bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) karena mengandung senyawa yang dapat digunakan sebagai indikator alami asam basa. Senyawa-

senyawa itu antara lain antosianin, betalain, biksin, dan brazilin. Senyawa zat warna yang paling dominan penggunaannya sebagai indikator asam basa adalah antosianin karena zat warna tersebut paling banyak diperoleh dari bunga-bunga berwarna. Antosianin mempunyai sifat larut dalam air membentuk zat warna, dalam suasana asam berwarna merah sedangkan basa berwarna biru (Sudarshan et al, 2010; Marwati S, 2010).

Pada uji pendahuluan yang telah dilakukan terhadap filtrat bunga rosella, terlihat adanya perubahan warna dan pH. Filtrat bunga rosella memiliki pH 4 dan tidak berubah warna setelah ditetesi dengan larutan asam, sedangkan setelah ditetesi dengan larutan basa pH filtrat bunga rosella menjadi 7 dan warnanya berubah yakni dari merah menjadi biru, saat filtrat bunga rosella di uji dengan menggunakan media Air Pepton yang memiliki pH $7 \pm 0,2$ dan telah ditambahkan glukosa 1% ternyata filtrat bunga rosella pada media Air Pepton berubah warna menjadi ungu dan setelah ditambahkan dengan larutan asam (HCl) warna ungu pada media Air Pepton berubah menjadi warna merah muda.

Kelebihan dalam menggunakan filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) yakni, lebih murah dan mudah dalam preparasinya, selain itu seperti yang telah diketahui bahwa filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) mempunyai kelemahan juga dimana filtrat dalam bentuk larutan mudah rusak, larutan tidak tahan lama dan berbau tidak sedap. Hal ini dapat mempengaruhi tingkat kestabilan dari senyawa-senyawa yang ada di dalamnya (Marwati S, 2010).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian tentang uji filtrat bunga rosella sebagai indikator pada uji Fermentasi Glukosa.

MATODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat true eksperimen yaitu penelitian yang bertujuan untuk mengetahui suatu gejala atau pengaruh yang timbul sebagai akibat dari adanya perlakuan tertentu (Notoatmojo, 2002).

Penelitian ini ingin mengetahui apakah filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) dapat digunakan sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa dengan media uji AP (Eksperimen bakteri *Escherichia coli*). Analisis data yang digunakan untuk mengetahui gambaran hasil pemeriksaan uji Fermentasi Glukosa pada masing-masing konsentrasi digunakan analisis deskriptif.

HASIL PENELITIAN

Penelitian tentang Uji Filtrat Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) Sebagai Indikator Pada

Media Uji Fermentasi Glukosa (Eksperimen Bakteri *Escherichia coli*) dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Unit Riset Biomedik Rumah Sakit Umum Provinsi NTB.

Hasil penelitian uji filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa (eksperimen bakteri *Escherichia coli*) yaitu berupa pH pada media dapat dilihat pada tabel berikut.

Tabel 1. Perubahan pH media uji fermentasi glukosa bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Perubahan pH media AP								Kontrol			
	Penambahan filtrat sebelum sterilisasi				Penambahan filtrat setelah sterilisasi				(+)		(-)	
	A	B	C	D	A	B	C	D	E	F	E	F
T1 20%	7	6	7	5	7	6	7	5	7	5	7	7
T2 40%	7	5	7	5	7	5	7	5	7	5	7	7
T3 60%	7	4	7	5	7	4	7	5	7	5	7	7
T4 80%	7	4	7	5	7	4	7	5	7	5	7	7
T5 100%	7	4	7	5	7	4	7	5	7	5	7	7

Keterangan tabel :

A : pH awal media AP

B : pH media AP yang telah ditambah dengan indikator filtrat rosella

C : pH media AP yang telah ditambah dengan indikator filtrat rosella dan larutan NaOH

D : pH akhir media AP yang telah ditambah dengan bakteri dan di inkubasi

E : pH awal kontrol

F : pH akhir kontrol

Pada tabel 1 menunjukkan bahwa uji fermentasi glukosa dengan bakteri *Escherichia coli* dari seluruh perlakuan menunjukkan hasil yaitu terjadinya penurunan pH di saat media telah ditambahkan dengan bakteri dan di inkubasi 1x24 jam.

Tabel 2. Perubahan warna media uji fermentasi glukosa bakteri *Escherichia coli*

Perlakuan	Perubahan warna media AP								Kontrol				
	Penambahan filtrat sebelum sterilisasi				Penambahan filtrat setelah sterilisasi				(+)		(-)		
	A	B	C	D	E	A	B	C	E	F	G	F	G
T1 20%	KJ	MP	KJ	CP	CP	KJ	MP	CP	CP	U	K	KJ	KJ
T2 40%	KJ	MM	CP	CM	CM	KJ	MM	CM	CM	U	K	KJ	KJ
T3 60%	KJ	M	UK	C	C	KJ	M	C	C	U	K	KJ	KJ
T4 80%	KJ	M	UK	C	C	KJ	M	C	C	U	K	KJ	KJ
T5 100%	KJ	M	U	C	C	KJ	M	C	C	U	K	KJ	KJ

Keterangan :

A : Warna awal media AP setelah ditambahkan dengan indikator filtrat rosella

B : Warna media setelah ditambahkan dengan filtrat rosella

C : Warna media setelah ditambahkan dengan larutan NaOH

D : Warna media setelah di sterilisasi

- E : Warna media setelah di tambahkan dengan bakteri dan di inkubasi
 F : Warna awal kontrol
 G : Warna kontrol setelah di tambahkan dengan bakteri dan di inkubasi
 KJ : Kuning jerami
 K : Kuning
 M : Merah
 MM: Merah muda
 MP : Merah Pudar
 U : Ungu
 UK : Ungu Kecoklatan
 CP : Coklat pudar
 CM : Coklat muda

Pada tabel 2 menunjukkan bahwa uji fermentasi glukosa dengan bakteri *Escherichia coli* dari seluruh perlakuan menunjukkan hasil yaitu tidak terjadinya perubahan warna namun media mengalami perubahan warna saat di sterilisasi.

Berdasarkan penelitian uji filtrat bunga rosella sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa (eksperimen bakteri *Escherichia coli*), dari setiap perlakuan di peroleh hasil sebagaimana pada tabel 3 berikut.

Tabel 3. Hasil Uji Fermentasi Glukosa Bakteri *Echerichia coli* pada Media Air Pepton

Perlakuan	Penambahan filtrat sebelum sterilisasi					Penambahan filtrat setelah di sterilisasi				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
T1	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
T2	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
T3	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
T4	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
T5	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
KPS	Positive (+)									
KNS	Negative (-)									

- KPS = Kontrol Positive untuk semua perlakuan
 KNS = Kontrol Negative untuk semua perlakuan
 (+) = Terjadi perubahan warna
 (-) = Tidak terjadinya perubahan

PEMBAHASAN

Pada penelitian tentang uji filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa (eksperimen bakteri *Escherichia coli*) ini digunakan media air pepton dengan penambahan glukosa sebagai sumber karbohidrat dan digunakan filtrat rosella sebagai indikator. Pada tiap-tiap media ditambahkan 1,0 ml indikator filtrat rosella dengan konsentrasi yang berbeda-beda pada tiap perlakuannya, yaitu : 20%, 40%, 60%, 80% dan 100%. Pada tabel 4.2 terlihat bahwa media uji fermentasi glukosa dari konsentrasi terendah yaitu 20% sampai konsentrasi tertinggi yaitu 100% menunjukkan hasil negative karena tidak mengalami perubahan warna saat

sebelum penambahan bakteri dan inkubasi maupun saat sesudah penambahan bakteri dan sesudah inkubasi, namun terlihat adanya perubahan warna media saat setelah di sterilisasi, hal ini menunjukkan bahwa zat warna antosianin yang terdapat di dalam filtrat rosella tersebut tidak stabil, seperti yang telah dikatakan oleh Salahudin dan Cristanti dalam skripsinya yang mengatakan bahwa proses pemanasan merupakan faktor terbesar yang menyebabkan kerusakan antosianin. Dikatakan juga oleh Hendry dan Houghton (1990) bahwa suhu penyimpanan maupun suhu proses pengolahan mempengaruhi degradasi antosianin . Jadi, pada suhu pengolahan yang tinggi dan selama penyimpanan akan menyebabkan degradasi antosianin.

Hal ini tidak sesuai dengan hasil penelitian pada tabel 1 yang menyatakan bahwa hasil fermentasi glukosa dapat menurunkan pH media menjadi lebih asam sehingga asam yang di bentuk dapat merubah warna media. Seperti yang telah dikatakan oleh Lay dalam buku Analisis Mikroba yang menyatakan bahwa karbohidrat lazim digunakan sebagai sumber energi oleh mikroorganisme. Bila dalam proses fermentasi bakteri ditumbuhkan pada biakan cair yang mengandung karbohidrat, maka hasil proses fermentasi dapat berupa asam

Asam yang dihasilkan akan menurunkan pH media sehingga dapat merubah warna indikator sesuai dengan rentang pH indikator yang digunakan. Dalam penelitian ini indikator yang digunakan adalah filtrat rosella. Hasil penelitian pada tabel 1 menunjukkan terjadinya perubahan pH media dari 7 sampai 5 namun tidak dapat mengubah warna indikator rosella hal ini terjadi karena dalam suasana asam warna antosianin pada filtrat rosella tidak memiliki perubahan.

Dalam penelitian ini menggunakan filtrat rosella yang terlebih dahulu telah buat netral, hal ini dikarenakan bahwa kebanyakan bakteri terutama bakteri *Escherichia coli* tidak dapat hidup dalam suasana media yang terlalu asam.konsentrasi asam yang tinggi dapat menyebabkan sel pecah karena mempengaruhi muatan membran sel dan transportasi senyawa yang mempengaruhi membran. Pada pH yang rendah, membran sel menjadi jenuh oleh ion hidrogen sehingga membatasi transport membran.Keracunan yang terjadi pada pH rendah adalah karena sebagian substansi asam yang tidak terurai meresap ke dalam sel, sehingga terjadi ionisasi dan pH sel berubah. Perubahan ini menyebabkan proses pengiriman asam-asam amino dari RNA terhambat sehingga menghambat pertumbuhan dan bahkan dapat membunuh mikroba (Dwi, 2004).

Berdasarkan hasil penelitian pada tabel 3 menunjukkan bahwa tidak ada pengaruh uji filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa (eksperimen bakteri *Escherichia coli*), karena seperti yang telah dijelaskan pada pembahasan sebelumnya, ada beberapa faktor yang perlu juga untuk diperhatikan sebagaimana yang disebutkan oleh Lay sebagai berikut; bahwa hasil akhir fermentasi karbohidrat ditentukan oleh sifat mikroorganisme, media biakan yang digunakan, serta faktor lingkungan antara lain suhu dan pH. Selain faktor lingkungan faktor internal juga menjadi penyebab tidak stabilnya warna antosianin pada filtrat rosella karena filtrat rosella yang digunakan bukanlah ekstrak yang hanya mengandung satu zat warna saja, di dalam filtrat rosella masih terdapat kandungan zat warna yang lain seperti betalain, biksin dan brazil.

PENUTUP

a. Simpulan

Berdasarkan hasil dan analisis penelitian yang didukung oleh pembahasan pada bab sebelumnya dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Hasil fermentasi glukosa dengan konsentrasi 20% menunjukkan hasil positif, terjadi penurunan pH namun tidak dapat mengubah warna media.
2. Hasil fermentasi glukosa dengan konsentrasi 40% menunjukkan hasil positif, terjadi penurunan pH namun tidak dapat mengubah warna media.
3. Hasil fermentasi glukosa dengan konsentrasi 60% menunjukkan hasil positif, terjadi penurunan pH namun tidak dapat mengubah warna media.
4. Hasil fermentasi glukosa dengan konsentrasi 80% menunjukkan hasil positif, terjadi penurunan pH namun tidak dapat mengubah warna media.
5. Hasil fermentasi glukosa dengan konsentrasi 100% menunjukkan hasil positif, terjadi penurunan pH namun tidak dapat mengubah warna media.
6. Bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) tidak dapat digunakan sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa (eksperimen bakteri *Escherichia coli*).

b. Saran

Dari hasil dan analisis penelitian uji filtrat bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) sebagai indikator pada uji fermentasi glukosa (eksperimen bakteri *Escherichia coli*).

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai penggunaan indikator filtrat rosella pada media lainnya.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan indikator filtrat rosella dengan cara pengolahan yang berbeda.
3. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang hasil uji fermentasi glukosa dengan menggunakan bakteri fermentasi glukosa positif (*glucose fermented*) lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustiyani Dwi, 2004. *Pengaruh pH dan Substrat Organik Terhadap Pertumbuhan dan Aktivitas Bakteri Pengoksidasi Amonia*. Penelitian Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman. Di dalam Analisa pH Optimal Untuk Pertumbuhan Bakteri *Vibrio cholera* Pada Media APW Dengan Metode Turbidimetri. Purwokerto
- Brooks, G.F., Butel J.S., Morse S.A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick & Adelberg* edisi 23. EGC, Jakarta
- Basset, J. Denny, R. C. Jeffrey, G. H. dan Mendham. 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisa Kuantitatif Anorganik*. Buku Kedokteran EGC, London
- Christanti, P.N. 2013. *Analisis Kestabilan Zat Warna Alami Antosianin Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus sabdariffa L)*. Skripsi Fakultas Teknologi Pertanian Jember, Jawa Timur. Diakses tanggal 01-03-2014 pukul 20:00 WITA.
- Diyar Salahudin Ali. 2009. *Identification of an Anthocyanin Compound from Strawberry Fruits then Using as an Indicator in Volumetric Analysis*. Journal of Family Medicine, vol 7 issue. Diakses tanggal 20 Desember 2013 pukul 11:30 WITA, Mataram.
- Dwidjoseputro. 1994. *Dasar – dasar Mikrobiologi*. Djambaran, Jakarta.
- Entjang, I., 2003. *Mikrobiologi dan Parasitologi*. Citra Aditya Bakti. Di dalam Pengaruh Jenis Indikator Pada Media AP Terhadap Hasil Uji Fermentasi Laktosa Dengan Bakteri Uji *Escherichia coli*. Retno Maulidewi. Bandung.
- FKUB. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang. Bayu Media Publishing.

- FKUI., 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Di dalam Pengaruh Jumlah Bakteri Pada Media Air Pepton Terhadap Hasil Uji Fermentasi Laktosa (Dengan Bakteri Uji *Escherichia coli*). Binarupa Aksara, Jakarta.
- Hanafiah, K.A., 1997. *Rancangan Percobaan, Teori dan Aplikasi*, Rajawali Per, Jakarta.
- Hendry, G. A. F. and Houghton, J. D., 1996. *Natural Food Colorant*, 2nd Edition, Blackie Academic and Professional. Di dalam Konsentrasi Total Senyawa Antosianin Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*): Pengaruh Temperatur dan Suhu. London.
- Irianto K., 2006. *Mikrobiologi (Menguak Dunia Mikroorganisme) Jilid 2*. Di dalam Pengaruh Jenis Indikator Pada Media AP Terhadap Hasil Uji Fermentasi Laktosa Dengan Bakteri Uji *Escherichia coli*. Retno Maulidewi. Yrama Widya, Bandung.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A., 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20* EGC, Jakarta.
- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 23*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Kustyawati, Maria Erna dan Sulastri Ramli. 2008. Pemanfaatan Hasil Tanaman Hias Rosella Sebagai Bahan Minuman. *Jurnal Penelitian*. Lampung, Universitas Lampung. Diakses Tanggal 3 Mei 2009.
- Khopkar, SM. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Di dalam Pengaruh Indikator Pada Media AP Terhadap Hasil Uji Fermentasi Laktosa Dengan Bakteri Uji *Escherichia coli*. Retno Maulidewi. UI Press. Jakarta.
- Lay W. B., 1994. *Analisis Mikroba*. Raja Grafindo Persada. Di dalam Pengaruh Jenis Indikator Pada Media AP Terhadap Hasil Uji Fermentasi Laktosa Dengan Bakteri Uji *Escherichia coli*. Retno Maulidewi, Jakarta.
- Mardiah., Sawarni, H., R. W. Ashadi., A. Rahayu. 2009. *Budidaya dan Pengolahan Rosella Merah Segudang Manfaat*. Di dalam Pengaruh Seduhan Air Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*) Terhadap Jumlah Eritrosit Pada Darah Tepi Hewan Coba Tikus Putih. Ni Luh Laksmi Saraswati. Cetakan 1. Agromedia Pustaka, Jakarta
- Maryani H., Kristiana L. 2005. *Khasiat dan Manfaat Rosella*. Di dalam Pengaruh Air Seduhan Kelopak Bunga Rosella Merah (*Hibiscus sabdariffa*) Terhadap Kadar Hemoglobin Pada Darah Tepi Hewan Coba Rikus Putih. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Murray. 2005. *Buku Ajar Mikrobiologi*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Novel, S.S., Wulandari P.A., Safitri, R. 2010. *Praktikum Mikrobiologi Dasar*. TIM, Jakarta.
- Notoadmojo S., 2002. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta. Jakarta.
- Pelczar, M.J., dan Chan E.C.S. 2008. *Dasar – Dasar Mikrobiologi 1*. Universitas Indonesia (UI Press). Di dalam Pengaruh Jenis Indikator Pada Media AP Terhadap Hasil Uji Fermentasi Laktosa Dengan Bakteri Uji *Escherichia coli*. Retno Maulidewi, Jakarta.
- Pusat Laboratorium Kesehatan. 1999. *Good Laboratory Practice*. Pusat Laboratorium Kes Dep. Kes. RI, Jakarta.
- Ramaisyah. 2011. *Dasar – dasar Biokimia Jilid 1*. Erlangga, Jakarta.
- Reindi. 2009. <http://www.edukasi.co.cc/2009/02/rosella-sebagai-zat-antioksi-dan.html>. Diakses tanggal 20 Desember 2013 pukul 11:30 WITA, Mataram.
- Marwati Siti. 2010. *Aplikasi Beberapa Bunga Berwarna sebagai Indikator Alami Titrasi Asam Basa*. Prosiding Seminar Nasional Penelitian. Pendidikan dan Penerapan MIPA FMIPA UNY. Diakses tanggal 2 Januari 2014 pukul 14:10 WITA, Mataram.
- Retno dan Endang. 2008. Ekstraksi Zat Warna Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa Linn*) Sebagai Alternatif Pewarna Alami Bahan Pangan. *Jurnal Penelitian*, Jakarta: Badan penelitian Teknologi Industri Pertanian Fak Teknik UWKS. Diakses Tanggal 3 Mei 2009.
- Soemarno. 2000. *Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik*. AAK Yogyakarta. Yogyakarta.

- Sudarshan, S., Bothara, S.B., Sangeeta, S., Roshan, P., Naveen, M., (2010). *Pharmaceutical Character of Flower as Natural Indicator: Acid – Base*, A Journal Pharma Research Vol 4: 83-90. Diakses tanggal 30 Desember 2013 pukul 16:25 WITA, Mataram.
- Sudarsono, A. 2008. *Isolasi dan Karakterisasi Bakteri pada Ikan Laut dalam Spesies Ikan Gindara (Lepidocobium flavobronneum)*. Skripsi. Institut Pertanian Bogor, Bogor
- Volk and Wheleer. 1993. *Analisis Praktikum Biologi Umum untuk Perguruan Tinggi*. UGM Press, Yogyakarta. <http://nunil08.studentipb.ac.id/2010/06/19/uji-biokimia-metabolisme-bakteri/>. Diakses tanggal 14 Maret 2014, pukul 11:30 WITA.
- Waluyo, L. 2007. *Mikrobiologi Umum*. Penerbitan Universitas Muhamadiyah Malang, hal 157, Malang.

