

**SUPLEMENTASI YOGURT FORTIFIKASI KONSENTRASI
BERTINGKAT EKSTRAK ROSELLA UNGU TERHADAP KADAR
MALONDIALDEHIDA (MDA) DAN GAMBARAN HISTOLOGI
GINJAL MENCIT**

(Supplementation of Yogurt fortified with a graded concentration of Purple Rosella Extract toward MDA Levels and Kidney Histology of Mice)

**Novia Kumala Dian Nur Ratna¹, Ani Setianingrum^{2*}, Widi Nugroho²,
Ajeng Erika Prihastuti Haskito², Aldila Noviatr³**

¹Program Studi Pendidikan Dokter Hewan Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Brawijaya

²Laboratorium Kesehatan Masyarakat Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan,
Universitas Brawijaya

³Laboratorium Farmakologi Veteriner, Fakultas Kedokteran Hewan, Universitas
Brawijaya

*Korespondensi e-mail: ani.setia@ub.ac.id

ABSTRACT

Purple roselle has ingredients such as organic acids, anthocyanins, polysaccharides, and flavonoids. The antioxidant content in purple roselle has benefits in preventing cell damage due to free radicals. This study was conducted to discover the effect of supplementation yogurt fortified with a graded concentration of purple roselle extract on MDA levels and histology of the kidney organs of mice. Laboratory experimental study using 16 male Balb-C mice divided into four groups. The control (C) group was not given any treatment. The treatment groups 1, 2, and 3 (T1, T2, T3) were given fortified purple roselle yogurt with concentrations of 5%, 10%, and 15%, respectively. The treatment was carried out for 14 days with a volume of 0.4 ml/day. Kidney organs were collected for histological analysis. Kidney malondialdehyde levels were assayed using the TBARS test and statistically analyzed with a 95% confidence level by one-way ANOVA analysis. Histology score analyzed using the Kruskal-Wallis test followed by the Mann-Whitney test. This study showed that at concentrations of 10% and 15%, MDA levels of the mice kidneys reduce significantly compared to the control group. The kidney histology score results show some changes in treatment groups compares to control group. The average score decreasing from different treatment group, and the lowest score was group given yogurt fortified roselle extract 15%. The administration of fortified yogurt with purple roselle extract at a concentration of 15% can reduce MDA levels in the kidneys of mice, and the higher the concentration can reduce kidney damage in mice.

Keywords: *histopathology; kidney; MDA; purple roselle; yogurt*

PENDAHULUAN

Bunga Rosella ungu (*Hibiscus sabdariffa L.*) tumbuhan yang secara luas di daerah beriklim tropis termasuk Indonesia. Rosella ungu diketahui mempunyai kandungan antioksidan sebagai penangkal radikal bebas selain itu juga memiliki manfaat dalam mendukung kesehatan sistem kardiovaskular, mencegah hipertensi, pileksia dan gangguan hati, diuretik (Al- Ansary *et al.* 2016). Fortifikasi ekstrak rosella ungu digunakan dalam konsentrasi 0,5% sampai dengan 1,5% dimana berdasarkan penilaian organoleptik dari panelis menunjukkan warna dan rasa yang diminati (Noviatri *et al.*, 2020).

Penggunaan bunga rosella secara luas terutama pada bahan makanan, obat-obatan herbal, sebagai kosmetik (Riaz & Chopra, 2018). Selain itu, bunga rosella ungu merupakan sumber pewarna alami yang potensial untuk menggantikan pewarna sintetis untuk minuman, selai, jus, jeli, saus, dan makanan asam lainnya seperti yogurt.

Yogurt merupakan hasil dari susu yang sudah melalui proses fermentasi dengan bakteri yang aktif dari strain bakteri *Lactobacillus bulgaricus* dan *Streptococcus thermophilus*. Yogurt mengandung nutrisi penting bagi tubuh termasuk protein, kalsium, kalium, fosfor,

dan vitamin B2 dan B12. Yogurt yang dikonsumsi setiap hari mungkin dapat membantu mengurangi jumlah bakteri patogen pada usus dan yogurt ditambahkan dengan probiotik dan atau prebiotik yang bermanfaat bagi tubuh (Fisberg and Machado, 2015). Penggunaan yogurt rosella pada hewan coba dengan paparan bahan kimia berbahaya dioksin, dimana konsentrasi 0,5%, 1% dan 1,5% belum mampu memperbaiki kerusakan jaringan ginjal tikus karena intoksikasi dioksin (Setianingrum *et al.*, 2020)

Fortifikasi didefinisikan sebagai penambahan satu atau lebih nutrien pada makanan yang bertujuan untuk meningkatkan kualitas pangan. Fortifikasi penambahan Rosella ungu pada produk yogurt diharapkan dapat meningkatkan nilai gizi sekaligus sebagai penambahan zat warna alami pada yogurt (Liyanage & Hettiarachchi, 2011).

Bahan alami sering ditambahkan dalam yoghurt dengan tujuan untuk meningkatkan kandungan antioksidan dan fungsionalnya yang juga dapat berperan sebagai zat perasa dan pewarna alami pada yogurt serta sebagai prebiotik yang salah satunya dilakukan dengan penambahan ekstrak rosella ungu (Samichah and Syauqy, 2014). Suatu penelitian memperlihatkan bahwa yogurt

susu sapi probiotik yang ditambahkan dengan ekstrak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) mengandung aktivitas antioksidan yang bernilai lebih tinggi apabila dibandingkan dengan yogurt tanpa pemberian rosella (Suharto *et al.*, 2016).

Fortifikasi ekstrak rosella ungu dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% pada yogurt akan meningkatkan aktivitas antioksidan sehingga dapat mencegah peningkatan MDA ginjal dan perubahan histopatologi ginjal mencit karena paparan radikal bebas.

Penggunaan fortifikasi rosella ungu yogurt susu sapi diharapkan dapat menjadi kandidat pangan fungsional yang saat ini sedang digemari masyarakat dalam meningkatkan kesehatan. Oleh karena itu menjadi dasar dilakukannya penelitian ini, yaitu untuk melihat apakah yogurt dengan fortifikasi ekstrak rosella ungu konsentrasi bertingkat dapat memiliki efek antioksidan yang berbeda pula terhadap hewan coba yang ditinjau dari kadar MDA dan tingkat kerusakan pada gambaran histologi ginjal.

MATERI DAN METODE

Alat dan Bahan

Penelitian ini menggunakan hewan coba mencit strain Balb/C, jantan, dan telah berumur 6-8 minggu, dengan berat badan 20 gram sebanyak 20 ekor yang didapat dari penyedia hewan laboratorium *Rattus Breeding Centre*.

Bahan pembuatan yogurt antara lain susu pasteurisasi, starter yogurt (Yógourmet, LYOSAN. INC 500 Aéroparc, C.P.598, Lachute, QC. Canada) yang mengandung bakteri *L. Acidophilus*, *S. Thermophilus* dan *L. Bulgaricus*. Bunga Rosella ungu kering.

Pembuatan Ekstrak Rosella Ungu

Kelopak bunga rosella kering

(kadar air 5%) dihaluskan sampai membentuk tepung, kemudian diayak menggunakan saringan 60-mesh. Tepung kemudian dilarutkan dengan air menggunakan rasio 1:5 (20 g per 100 ml). Selanjutnya dilakukan pasteurisasi selama 30 menit dengan suhu 63-65 °C. Setelah 30 menit cairan dan endapan dipisahkan dengan menggunakan corong dan kertas saring (Suharto dkk, 2017) ekstrak yang sudah siap disimpan di dalam suhu dingin (± 4 °C) sampai digunakan.

Pembuatan Starter Cair

Susu sapi pasteurisasi sebanyak 50 ml diinkubasi selama 30 menit pada suhu 45 °C. Setelah itu, dilakukan inokulasi pada susu sapi menggunakan starter yoghurt

sebanyak 0,25 g (0,5% w/v) dan dihomogenisasi. Kemudian dilakukan inkubasi pada suhu 45 °C selama kurang lebih 4 jam hingga starter cair mencapai pH 4,4-4,5 (Rachman *et al.*, 2018).

Pembuatan Yoghurt

Susu sapi pasteurisasi sebanyak 150 ml diinkubasi selama 30 menit pada suhu 45 °C. Susu sapi kemudian diinokulasi menggunakan starter cair sebanyak 3 (% v/v) dari volume susu sapi atau sebanyak 4,5 ml dan dihomogenisasi. Susu sapi yang sudah diinokulasi kemudian diinkubasi pada suhu 45 °C selama 2-3 jam. hingga starter cair mencapai pH 4,5-5 (Rachman *et al.*, 2018).

Pembuatan Yoghurt Susu Sapi Ekstrak Rosella Ungu

Yoghurt susu sapi sebanyak 150 ml dibagi menjadi 3 bagian masing-masing 50 ml dihomogenkan menggunakan blender. Setelah homogen dilakukan penambahan ekstrak rosella ungu pada masing-masing bagian sebanyak 5%, 10%, dan 15%. Dilakukan homogenisasi menggunakan blender, kemudian disimpan dalam kulkas (suhu \pm 4 °C) sampai dengan digunakan (3-5 hari penyimpanan).

Persiapan Hewan Coba

Penelitian ini telah mendapatkan sertifikat laik etik nomor. 083-KEP-UB-2020.

Hewan coba yang digunakan pada penelitian ini, yaitu mencit (*Mus musculus*) strain Balb/C, berumur sekitar 6-8 minggu, jantan, dengan berat kurang lebih 20 gram sebanyak 20 ekor. Mencit Balb/C dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan masing-masing kelompok terdiri atas 5 ekor mencit. Aklimatisasi pada kondisi laboratorium selama 7 hari. Pakan dan air minum *ad-libitum*.

Pemberian Yoghurt Susu Sapi Fortifikasi Ekstrak Rosella Ungu

Mencit kelompok kontrol (C) tanpa pemberian yoghurt rosella, kelompok perlakuan T1, T2, dan T3 diberi yoghurt fortifikasi ekstrak rosella ungu dengan konsentrasi masing-masing kelompok 5%, 10% dan 15%. Pemberian secara *per-oral* menggunakan sonde lambung sebanyak 0,4 ml per hari yang dilakukan dengan dua kali pemberian sebanyak 0,2 ml setiap hari pada pukul 09.00 dan 15.00 dan dilakukan selama 14 hari.

Koleksi Organ Ginjal

Euthanasi dilakukan pada hari ke 15, kemudian dilakukan pembedahan dan pengambilan organ untuk pemeriksaan MDA dan histologi. Setelah diperoleh organ ginjal, organ kemudian dicuci dengan larutan NaCl fisiologis 0,9%. Organ ginjal

disimpan dalam larutan formaldehid 10% untuk pembuatan preparat histologi dan untuk pemeriksaan MDA dibungkus dengan alumunium foil dan disimpan di freezer (Yulia dkk., 2014).

Pemeriksaan Kadar MDA Ginjal

Organ ginjal sebanyak 0,1 g digerus menggunakan mortar, kemudian ditambahkan 1 ml trikloroasetat (TCA) dan dimasukkan dalam tabung eppendorf, kemudian disentrifus 100.000 rpm selama 10 menit. Supernatan diambil 400 µl dan dimasukkan ke dalam tabung eppendorf, kemudian ditambahkan 400 µl tiobarbiturat (TBA) steril, 1 ml aquades, 200 µl HCL 1N. Larutan lalu dihomogenkan setelah itu dilakukan sentrifugasi selama 10 menit dengan 500 rpm. Larutan diinkubasi selama 15 menit dalam penangas air 95 °C kemudian dimasukkan ke dalam kulkas selama 15 menit dengan suhu 8 °C, setelah didinginkan larutan disentrifus 10.000 rpm selama 10 menit. Pengukuran nilai absorbansi larutan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 512 nm (Ohkawa *et al.*, 1979).

Pembuatan Preparat Histopatologi Jantung

Organ dikoleksi dan dicuci dengan NaCl 0,9%, lalu direndam dalam larutan

formaldehyde 10% sebagai bahan fiksasi selama 3-7 hari. *Washing* menggunakan alkohol 70% dilanjutkan dengan dehidrasi bertingkat dengan direndam pada alkohol 70%, 80%, 95%, 100% masing-masing 15 menit. *Clearing* selama 30 menit menggunakan xylol. Selanjutnya infiltrasi parafin yang dilakukan di dalam oven (suhu 58-59 °C) dalam xylol:parafin (1:1) dan parafin murni 3 kali masing-masing selama 30 menit. Kemudian dilanjutkan dengan dilakukan *embedding* kemudian dilakukan *sectioning* menggunakan *rotary microtome* untuk memotong blok parafin dan dilanjutkan dengan proses *affixing* pada object glass. *Staining* dilakukan dengan menggunakan pewarnaan *Hematoxylin-Eosin* (HE) (Setyawati, 2015).

Analisis Statistik

Kadar MDA ginjal diamati secara kuantitatif menggunakan uji analisis ragam *one way of variance* (ANOVA) dilanjutkan Uji *Tukey*. Perubahan gambaran histologi pada penelitian ini dievaluasi dengan (masukkan di bagian materi dan metode) metode skoring EGTI *histology scoring system* menurut Khalid *et al.* (2016) pada Tabel 1. Analisa statistik menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dan dilanjutkan uji *Mann-Whitney*.

Tabel 1. Kriteria skoring ginjal mencit

Parameter	Skor	Keterangan
Tubulus ginjal	1	Tidak ada perubahan
	2	Hilangnya Brush Border kurang dari 25% dari 1 sel tubulus, integritas membran basalis
	3	Hilangnya Brush Border lebih dari 25% dari 1 sel tubulus, adanya inflamasi
	4	Pembentukan <i>hyalin cast</i> dan nekrosis hingga 60% sel tubulus
Glomerulus	0	Tidak ada kerusakan
	1	Penebalan kapsul bowman
	2	Retraksi lempeng glomerulus
	3	Fibrosis glomerulus

Sumber: Khalid *et al.* (2016)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kadar Malondyaldehyde (MDA) Ginjal Mencit

Pemberian fortifikasi ekstrak rosella ungu pada yoghurt susu sapi dengan konsentrasi bertingkat 5%, 10%, 15% terhadap kadar malondialdehida (MDA) ginjal

mencit menunjukkan kadar MDA pada kelompok perlakuan lebih rendah dan semakin menurun dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil analisa statistik MDA ginjal pada masing-masing perlakuan disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Kadar MDA ginjal mencit

Kelompok	Rata-rata kadar MDA \pm SD (ng/ml)
C (kontrol)	363.0 \pm 38.88 ^a
T1	345.5 \pm 35.74 ^{ab}
T2	282.44 \pm 28.25 ^{bc}
T3	258.83 \pm 12.48 ^{cb}

^{abc} Notasi yang berbeda menunjukkan perbedaan yang nyata ($P < 0,05$)

Berdasarkan Tabel 2 diketahui nilai kadar MDA organ ginjal pada kelompok kontrol adalah 363.0 ng/ml. Pada kelompok T1, yaitu mencit yang diberikan yoghurt dengan fortifikasi konsentrasi ekstrak rosella ungu

dengan konsentrasi 5%, kadar MDA ginjal menunjukkan angka 345.5 ng/ml. Kadar MDA kelompok kontrol lebih tinggi dibandingkan nilai MDA perlakuan 1 dan menunjukkan perbedaan yang tidak nyata

($P > 0,05$). Kelompok T2 dengan pemberian yoghurt susu sapi fortifikasi ekstrak rosella ungu konsentrasi 10% memiliki nilai MDA lebih rendah dari kelompok T1 dan kelompok kontrol, yaitu 282,44 ng/ml dan menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) terhadap kelompok kontrol. Kelompok T3 dengan pemberian yoghurt susu sapi fortifikasi ekstrak rosella ungu konsentrasi 15% menunjukkan nilai MDA yang paling rendah diantara 3 kelompok lainnya, yaitu 258.83 ng/ml yang menunjukkan perbedaan nyata ($P < 0,05$) terhadap kelompok kontrol dan perlakuan 1. Kadar MDA ginjal kelompok T1, T2 dan T3 lebih rendah dari nilai MDA kelompok kontrol. Hal tersebut menunjukkan bahwa pemberian yogurt susu sapi fortifikasi ekstrak rosella ungu dapat mencegah kenaikan kadar MDA ginjal.

MDA dikenal sebagai produk akhir dari proses peroksidasi lipid, yaitu kerusakan membran lipid akibat radikal bebas dan merupakan indikator stress oksidatif yang terjadi di sel tubuh.

Ginjal merupakan organ yang aktif secara metabolik dan berperan dalam proses detoksifikasi, maka ginjal merupakan generator ROS (*reactive oxygen species*) yang kuat (Sani *et al.*, 2006). Pemberian yogurt fortifikasi rosella ungu dalam penelitian ini mengurangi stress oksidatif di dalam tubuh dan mencegah peningkatan kadar MDA pada ginjal.

Aktivitas antioksidan yogurt fortifikasi rosella ungu ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . Semakin tinggi penambahan ekstrak rosella pada yogurt, maka aktifitas antioksidan nya semakin meningkat (Setianingrum dkk., 2020). Penambahan ekstrak rosella ungu konsentrasi 15% (T3) pada penelitian ini menunjukkan kadar MDA ginjal mencil paling rendah.

Gambaran Histologi Ginjal Mencit

Analisa histologi organ ginjal menggunakan skoring dengan kriteria dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil rata-rata skoring histologi ginjal mencit.

Kelompok	Rata-rata skor kerusakan ginjal	
	Tubulus	Glomerulus
C	0.3	0.35
T1	2.2	2.25
T2	1.8	1.7
T3	1.75	1.65

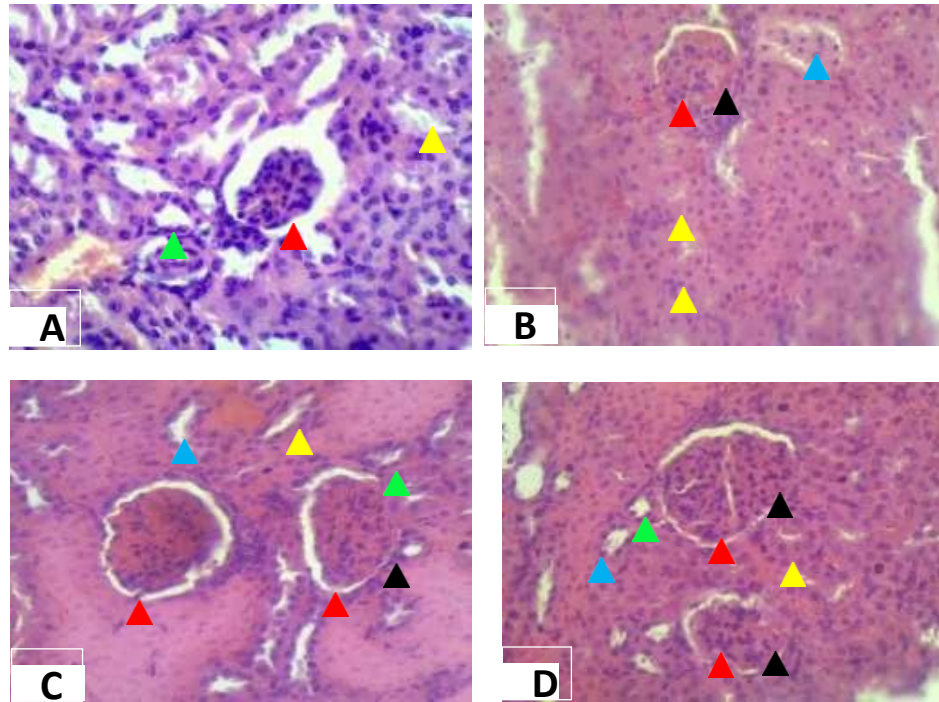
Pada kelompok perlakuan 2 dan 3 juga menunjukkan hilangnya *brush border* kurang

dari 25% dari 1 sel tubulus dan integritas membran sel serta pada glomerulus terjadi retraksi

lempeng glomerulus.

Gambaran histologi ginjal mencit (gambar 1A-1D), kelompok kontrol (A) kelompok perlakuan T1 (B), T2 (C), T3

(D). Hasil analisa statistik skoring tubulus ginjal dan glomerulus ginjal mencit ditunjukkan pada Tabel 4 dan tabel 5.



Gambar 1. Histopatologi ginjal mencit. pewarnaan Hematoxylin Eosin (HE), perbesaran 400x kelompok kontrol (A) kelompok T1 (B), T2 (C), dan T3 (D). Panah Merah (glomerulus); Panah Kuning (tubulus proksimal); Panah Hijau (tubulus distal); Panah Hitam (Retraksi lempeng glomerulus); Panah Biru (hilangnya *brush border*).

Tabel 4. Hasil analisis uji *Mann-Whitney* kerusakan pada tubulus ginjal mencit.

	K	P1	P2	P3
K	-	0.021*	0.020*	0.021*
P1	0.021*	-	0.189	0.144
P2	0.020*	0.189	-	1
P3	0.021*	0.144	1	-

*Perbedaan signifikan $p < 0,05$.

Tabel 5. Hasil analisis uji *Mann-Whitney* kerusakan pada glomerulus ginjal mencit.

	K	P1	P2	P3
K	-	0.019*	0.020*	0.019*
P1	0.019*	-	0.245	0.080
P2	0.020*	0.245	-	1
P3	0.019*	0.080	1	-

*Perbedaan signifikan $p < 0,05$.

Uji statistik skor tubulus ginjal (tabel 4) menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) antara kelompok kontrol dengan T1, T2, dan T3. Antar kelompok perlakuan perlakuan tidak menunjukkan perbedaan yang nyata ($p > 0,05$). Berdasarkan Tabel 5 hasil analisa statistik pada skor glomerulus menunjukkan antara kelompok kontrol (C) dengan perlakuan (T1, T2, dan T3) memiliki perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Pada keadaan tubuh normal, radikal bebas seperti ROS terbentuk sebagai respon normal dari rantai peristiwa biokimia dalam tubuh seperti pada mitokondria. ROS akan berusaha menarik elektron dari molekul di sekitarnya karena ROS merupakan molekul yang memiliki elektron yang tidak memiliki pasangan sehingga bersifat sangat reaktif dan dapat mengubah molekul lain menjadi radikal baru. akumulasi radikal bebas dapat merusak komponen membran sel seperti fosfolipid melalui peroksidasi lipid yang menghasilkan MDA sebagai hasil akhir (Ozbek, 2012).

Yoghurt susu sapi memiliki manfaat tinggi bagi tubuh khususnya aktivitas antioksidan dalam yogurt sebagai penangkal radikal bebas dengan menyumbangkan elektron. Fermentasi oleh bakteri asam laktat menghasilkan peptida bioaktif, dan asam laktat pada yogurt berfungsi sebagai antioksidan karena mengandung α -hidroxyacids (AHA) (Afiati dkk., 2015). Ekstrak rosella ungu berperan dalam peningkatan aktivitas antioksidan, khususnya oleh senyawa antosianin. Rosella memiliki kandungan antioksidan yang tinggi seperti senyawa fenolik sekaligus sumber antosianin yang baik (Choiriyah, 2017). Sebagai senyawa bioaktif, antosianin dapat berfungsi sebagai senyawa penghancur dan penangkal radikal bebas alami karena adanya susunan ikatan rangkap terkonjugasi pada struktur antosianin. Penelitian yang dilakukan oleh Suharto *et al.* (2017) memperlihatkan bahwa yogurt susu sapi probiotik yang ditambahkan dengan rosella memiliki nilai aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan dengan yogurt tanpa pemberian rosella.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil studi ini, maka dapat disimpulkan bahwa pemberian yoghurt susu sapi fortifikasi ekstrak rosella ungu

dengan konsentrasi 5%, 10% dan 15% dapat menurunkan kadar MDA organ ginjal mencit. Konsentrasi 15% ekstrak rosella

ungu merupakan konsentrasi terbaik dalam mencegah kenaikan kadar MDA ginjal mencit.

Pemberian yoghurt susu sapi fortifikasi ekstrak rosella ungu mempengaruhi gambaran histologi ginjal, pemberian

yogurt dengan konsentrasi ekstrak rosella ungu 15% mampu memperbaiki tingkat kerusakan ginjal. Perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengenai penggunaan yogurt fortifikasi rosella ungu sebagai kandidat pangan fungsional.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh dana hibah penelitian DPP SPP FKH Universitas Brawijaya tahun

anggaran 2021 dengan nomor kontrak 11/UN10F13.06/PN/2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Afiati, Fifi., Nina, A.W., Kusmiati. 2015. Pengaruh Antioksidan Eksopolisakarida dari Tiga Galur Bakteri Asam Laktat pada Sel Darah Domba Terinduksi tert-Butil Hidroperoksida (t-BHP). *Jurnal Biologi Indonesia* 11 (2): 225-232.
- Al-Ansary, A. M. F., R. A. H. Nagwa, M. E.S. Ottai and R. A. El-Mergawi. 2016. Gamma irradiation effect on some morphological and chemical characters of Sudani and Masri Roselle varieties. *Int. J. ChemTech Res.*, 9(3) : 83-96.
- Choiriyah, N. A. 2017. Ekstraksi Senyawa Antosianin dan Fenolik Rosella Ungu dengan Variasi Pelarut. *Darrusalam Nutrition Journal*. 1(1): 16-2.
- Fisberg, M., & Machado, R. 2015. History of yogurt and current patterns of consumption. *Nutrition Reviews*, 73, 4–7.
- Khalid, Usman, Gilda Pino-Chavez, Prabhu Nesargikar, Robert H Jenkins, Timothy Bowen, Donald J Fraser, and Rafael Chavez. 2016. Kidney Ischaemia Reperfusion Injury in the Rat: The EGTI Scoring System as a Valid and Reliable Tool for Histological Assessment. *Journal of Histology and Histopathology* 3, no. 1
- Liyanage, C. and Hettiarachchi, M. 2011. Food fortification. *Ceylon Medical Journal*, 56(3), pp.124–127
- Noviatri, A., Setianingrum, A., &

- Haskito, A, E, P. 2020. Organoleptic properties evaluation of purple Hibiscus sabdariffa L (Roselle) Calyx extract-fortified yogurt. *Journal of Physics: Conference Series*, 1430(1), 8-13.
- Ohkawa, H., N. Ohishi, K. Yagi. 1979. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* 95(2). 351-8.
- Ozbek, Emin. 2012. Review Article Induction of Oxidative Stress in Kidney. *International Journal of Nephrology* Volume 2012, Article ID 465897
- Rachman, A., Taufik E., Arief I.I. 2018. Karakteristik Yoghurt Probiotik Rosella Berbahan Baku Susu Kambing dan Susu Sapi Selama Penyimpanan Suhu Ruang. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan.* 6(2): 73-80.
- Riaz, G, & Chopra, R. 2018. A review on Phytochemistry and therapeutic uses of Hibiscus sabdariffa L. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 102(March) 575-586.
- Samichah dan Syauqy, Ahmad. 2014. Aktivitas Antioksidan dan Penerimaan Organoleptik Yoghurt Sari Wortel (Daucus Carrota L). *Journal of Nutrition College*, Volume 3, Nomor 4.
- Sani, M., Ghanem-Boughanmi, N., Gadacha, W., Sebai, H., Boughattas, N. A., Reinberg, A., & Ben-Attia, M. 2007. Malondialdehyde content and circadian variations in brain, kidney, liver, and plasma of mice. *Chronobiology International*, 24(4), 671-685.
- Setyawati, Ayu. 2015. Struktur Histologi Hati, Ginjal Dan Pankreas Mencit (Mus musculus) Dengan Perlakuan Ekstrak Batang Akar Kuning (Fibraurea tinctoria L.) Selama Organogenesis [Skripsi]. Bogor : IPB
- Suharto, E.L.S., Arief, I.I., Taufik, E. 2017. Quality and Activity of Yogurt Supplemented with Roselle During Cold Storage. *Journal Media Peternakan* 39(2):82- 89.
- Setianingrum, A., Noviatry, A., & Haskito, A. E. P. (2020). Aktivitas Antioksidan dan Total Bakteri Asam Laktat pada Yogurt Fortifikasi dengan Konsentrasi Bertingkat Ekstrak Rosella Ungu. *Konferensi Ilmiah Veteriner Nasional*

- Virtual Ke-16, 30–31.
- Setianingrum, A., Francia, A.J., kusumaningdyah, D., Widodo, E., Noviatri, A., Haskito, A. E. P. 2020 Yogurt Fortified with Purple Roselle Extract as Prevention of Dioxin Intoxicaion Based on Malondialdehyde Levels and Histopathology of Rats (*Rattus norvegicus*) Kidney. *Veterinary Practitioner*, 21(2), 497-501
- Yulia, R., Lidya, K., Veronica, dan Juliana, C. 2014. Efek Glycine Max Variety Anjasmoro terhadap Kadar Timbal dan Malondialdehid pada Mencit Terintoksikasi Timbal. *Jurnal Farmasi Indonesia*, Volume 7, Nomer 1.