

Pemanfaatan Ekstrak Kasar Daun Sirih Hijau (*Piper betle*) dan Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Sebagai Antimikroba Pada Daging Ayam Broiler Segar

ADOLF J.N. PARHUSIP*, SABRINA A. PUTRIDIMARA, ELIN KRISTIANTO, ALFREDO, JESSELINE FRAULENCIA

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pelita Harapan, Indonesia

Diterima: 10 Mei 2023 – Disetujui: 21 Agustus 2023
© 2023 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Cenderawasih

ABSTRACT

Green betel plants (*Piper betle*) and red betel plants (*Piper crocatum*) are plants that found in many parts of Indonesia which can be categorized as medicinal plants. This is due to the content contained in green and red betel leaves which has phenolic compounds, such as flavonoids, tannins, and saponins. The research objective of this study was to utilize the extract of green betel leaf and red betel leaf by extracting ethanol FG 96% as an antimicrobial compound. There are 4 types of tested bacteria used in this study, they are *Escherichia coli*, *Salmonella*, *S. aureus*, and *B. cereus*. The extract concentrations used for the two types of leaf extract were 0, 5, 10, 15, and 20%. The sample used for TPC was a fresh broiler chickens, with immersion time for 0, 24, 48, and 72 hours. The total phenolic properties of the green and red betel leaf extracts were 2630.1 mg GAE/g and 6294.8 mg GAE/g, respectively. The total flavonoids possessed by the green and red betel leaf extract were 679.0 mg QE/g and 1662.9 mg QE/g, respectively. Both types of betel leaf extract can function as the best antimicrobial at a concentration of 20%. The bacteria that most resistant to green and red betel leaf extract is *E. coli*, and the bacteria that most sensitive to green and red betel leaf extract is *S. aureus*. The MIC and MBC values of Gram positive bacteria (*S. aureus* and *B. cereus*) were lower than the MIC and MBC values of Gram negative bacteria (*E. coli* and *Salmonella*).

Key words: Green betel leaves; red betel leaves; extracts; fresh broiler chicken.

PENDAHULUAN

Daging ayam *broiler* merupakan produk pangan hewani yang baik untuk dikonsumsi karena mengandung protein yang tinggi. Jumlah konsumsi masyarakat pada daging ayam *broiler* semakin tinggi di setiap tahunnya (Hajrawati *et al.*, 2016). Sementara itu, daging konsumsi harus bebas dari bahan pencemar. Batas cemaran mikroba pada daging ayam *broiler* segar menurut

BSN (2009) maksimum sebanyak 1×10^6 cfu/g (Hajrawati *et al.*, 2016). Salah satu cara pengawetan bahan pangan adalah menggunakan ekstrak daun sirih. Daun sirih mengandung banyak asam amino, kecuali lisin, arginin, dan histidin. Kandungan flavonoid dan fenolik juga dapat ditemukan dalam daun sirih dengan jumlah yang besar (Kaintura *et al.*, 2020). Saat ini, banyak pedagang ayam *broiler* segar yang menggunakan bahan kimia berbahaya sebagai pengawet, contohnya seperti formalin (Nowshad *et al.*, 2018). Salah satu cara untuk memperpanjang umur simpan daging ayam *broiler* segar adalah dengan menggunakan ekstrak dari tanaman sirih yang aman untuk dikonsumsi. Daun sirih memiliki efek sebagai antibakteri yang bersifat bakteriostatik dan bakterisidal karena memiliki senyawa aktif

* Alamat korespondensi:

Program Studi Teknologi Pangan, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Pelita Harapan. Jl. M.H. Thamrin Boulevard 1100, Lippo Karawaci, Tangerang 15811, Banten, Indonesia. E-mail: adolf.parhusip@uph.edu.

berupa fenol dan turunannya yaitu saponin, tanin, dan flavonoid. Ekstrak terpurifikasi daun sirih hijau memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* yang sangat kuat dengan diameter hambat 21,08 mm pada konsentrasi 20 mg/mL (Carolia & Noventi, 2016).

Menurut Bustanussalam *et al.* (2015), konsentrasi ekstrak daun sirih hijau sebesar 25% memberikan hasil yang paling efektif sebagai senyawa alami antibakteri pada *Staphylococcus aureus*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Soleha *et al.* (2015) dan Retnaningsih *et al.* (2018), ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 100% memiliki hasil yang paling efektif sebagai senyawa alami antibakteri pada bakteri *S. aureus*. Berdasarkan kandungan antimikroba yang terdapat di dalam daun sirih merah dan hijau, diharapkan penelitian ini dapat diketahui jenis daun sirih, besarnya konsentrasi ekstrak, jenis bakteri yang paling resisten dan yang paling tidak resisten, dan lama waktu kontak ekstrak daun sirih dengan ayam *broiler* segar yang dapat memberikan hasil yang terbaik.

Ekstrak daun sirih dapat memperpanjang umur simpan daging ayam *broiler* segar. Terdapat banyak senyawa yang ada pada daun sirih, seperti senyawa fenolik, flavonoid, tanin, dan saponin. Untuk menentukan efektivitas senyawa yang terdapat pada daun sirih hijau dan daun sirih merah, digunakan kultur bakteri Gram positif (*S. aureus* dan *Bacillus cereus*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella*) sebagai kultur pengujian serta lama waktu perendaman sampel ayam *broiler* segar dengan ekstrak daun sirih sehingga dapat menghasilkan kualitas daging ayam *broiler* segar dengan jumlah mikroba yang masih layak konsumsi.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Agustus-November 2021 di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Pelita Harapan.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah *rotary vacuum evaporator*, *shaker* maserasi, *buchner funnel*, *erlenmeyer*, *beaker*, cawan petri, mikropipet, inkubator, *colony counter*, vorteks, bunsen, spektrofotometri, pipet volumetrik.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau (*Piper betle*) dan daun sirih merah (*Piper crocatum*) yang diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Hias Bogor, daging ayam *broiler* yang diperoleh dari salah satu *supermarket* di Lippo Karawaci, etanol *food grade* 96%, akuades, media agar *nutrient agar* (NA), garam fisiologis, kultur bakteri (*E. coli*, *Salmonella*, *S. aureus*, dan *B. cereus*), asam galat, folin, Na_2CO_3 , *quercetin*, etanol PA 96%, dan AlCl_3 .

Pembuatan Ekstrak Daun Sirih dan Uji Fitokimia

Penelitian tahap I memiliki dua faktor, yaitu konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dan daun sirih merah dengan jenis kultur bakteri uji. Daun sirih hijau dan daun sirih merah dicuci dengan air lalu ditiriskan. Kemudian, daun sirih dipotong kecil-kecil. Daun sirih yang telah dipotong kecil-kecil kemudian dikeringkan secara *sun dry*/pengeringan menggunakan panas matahari selama 3-5 hari hingga kadar airnya kurang dari 10% (Mufrod *et al.*, 2016). Daun sirih sebanyak 100 gram dimaserasi dengan etanol *food grade* 96% sebanyak 400 ml selama 24 jam. Filtrat hasil maserasi kemudian disaring menggunakan *buchner funnel*. Setelah itu, filtrat dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kasar. Ekstrak kasar daun sirih hijau dan daun sirih merah dibuat dengan konsentrasi sebesar 5, 10, 15, dan 20%. Setelah diperoleh ekstrak daun sirih dengan konsentrasi tertentu, kemudian dilakukan analisis uji yang meliputi kadar air (AOAC, 2005), *Total Plate Count* (TPC) (Yunita *et al.*, 2014; dengan modifikasi), uji daya hambat metode sumur (Suryani *et al.*, 2015; dengan modifikasi), uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dan *Minimum Bactericidal Concentration* (MBC) (Cepeda *et al.*, 2019; dengan

modifikasi), uji fenolik (Khadijah *et al.*, 2017; dengan modifikasi), uji flavonoid (Dewi *et al.*, 2018; dengan modifikasi), dan uji Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS).

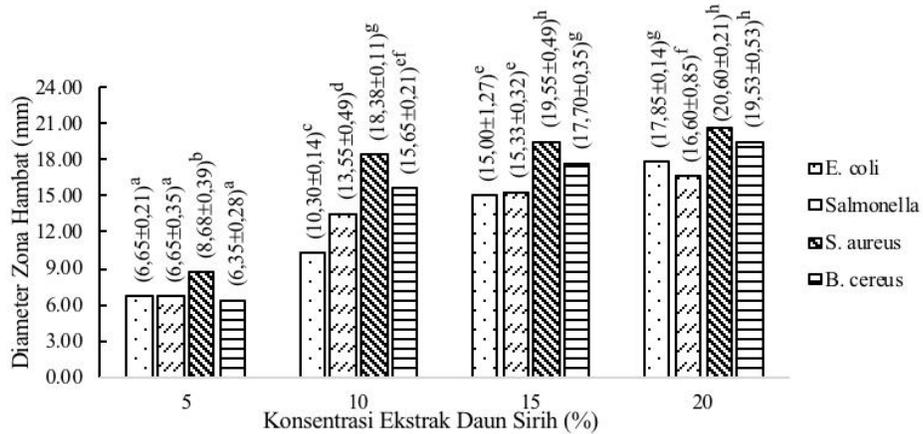
Perlakuan Ekstrak Daun Sirih Pada Ayam Broiler Segar

Penelitian tahap II memiliki satu faktor, yaitu durasi waktu kontak antara ayam *broiler* segar dengan ekstrak daun sirih terbaik. Ayam *broiler* segar direndam dalam larutan ekstrak daun sirih dengan konsentrasi terpilih (20%) selama 0, 24, 48, dan 72 jam pada suhu *refrigerator* (4°C).

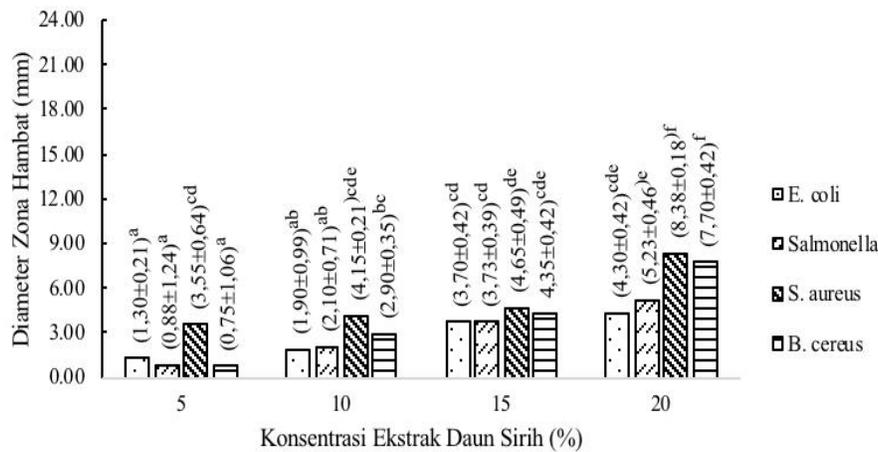
Pembuatan larutan rendam ekstrak daun sirih dengan cara ekstrak kasar daun sirih dilarutkan dengan akuades. Sebanyak 10 gram sampel dimasukkan ke dalam botol pengencer 100 ml yang telah berisi 90 ml garam fisiologis steril, kemudian diperoleh sampel ayam pengenceran 10⁻¹.

Rancangan Percobaan

Terdapat dua faktor pada penelitian tahap I, yaitu konsentrasi ekstrak daun sirih merah dan daun sirih hijau dan jenis kultur bakteri. Ekstrak daun sirih hijau dan merah (α) dibuat dengan



Gambar 1. Pengaruh jenis bakteri dan konsentrasi ekstrak daun sirih hijau terhadap diameter zona hambat bakteri (Ket.: otasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram menunjukkan beda signifikan, p<0,05).



Gambar 2. Pengaruh jenis bakteri dan konsentrasi ekstrak daun sirih merah terhadap diameter zona hambat bakteri (Ket.: Notasi huruf *superscript* yang berbeda pada diagram menunjukkan beda signifikan, p<0,05).

konsentrasi sebesar 0% (α_1), 5% (α_2), 10% (α_3), 15% (α_4), dan 20% (α_5). Jenis kultur bakteri yang digunakan pada penelitian ini adalah *E. coli* (β_1), *Salmonella* (β_2), *S. aureus* (β_3), dan *B. cereus* (β_4). Pengulangan dilakukan sebanyak dua kali. Perlakuan penelitian tahap II dilakukan dengan satu faktor, yaitu lama perendaman sampel ayam *broiler* segar dalam ekstrak daun sirih. Perlakuan terpilih ekstrak daun sirih hijau dan merah pada penelitian tahap I dengan faktor lama perendaman selama 0 jam (β_1), 24 jam (β_2), 48 jam (β_3), dan 72 jam (β_4). Rancangan percobaan yang dilakukan menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis secara statistik *univariate* dan *Analysis of variance* (Anova) *one-way* dan dilanjutkan dengan uji *post hoc* Duncan (*Duncan Multiple Range Test*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Konsentrasi Ekstrak dan Bakteri Terhadap Zona Hambat Kultur Bakteri

Berdasarkan analisis statistik ANOVA *univariate* dan *post hoc* Duncan, didapatkan hasil bahwa terdapat interaksi antara jenis bakteri dengan konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dan merah. Bakteri *S. aureus* memiliki diameter zona hambat terbesar ($20,60 \pm 0,21$ mm) pada penggunaan ekstrak daun sirih hijau 20%. Penggunaan ekstrak daun sirih hijau 20% terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* memiliki respon hambatan pertumbuhan yang tergolong kuat.

Kuatnya daya hambat ekstrak daun sirih hijau terhadap bakteri *S. aureus* disebabkan oleh senyawa-senyawa yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih hijau, seperti senyawa fenol dan tanin, yang dapat menyebabkan rusaknya sel bakteri, yang bekerja lebih efektif sebagai antibakteri pada bakteri Gram positif (Lubis *et al.*, 2020). Menurut Huong & Hue (2019), tanin pada ekstrak daun sirih hijau sangat efektif untuk menghambat

pertumbuhan bakteri *S. aureus*. Flavonoid pada ekstrak daun sirih juga memiliki sifat sebagai antimikroba yang lebih besar pada bakteri Gram positif, hal ini disebabkan struktur membran bakteri Gram negatif yang lebih kompleks dibandingkan dengan struktur membran bakteri Gram positif (Lubis *et al.*, 2020). Hal ini menyebabkan rata-rata diameter zona hambat bakteri *E. coli* dan *Salmonella* (bakteri Gram negatif) lebih kecil dibandingkan bakteri *S. aureus* dan *B. cereus* (bakteri Gram positif).

Berdasarkan Gambar 1., diketahui bahwa ekstrak daun sirih hijau dengan konsentrasi 10, 15, dan 20% merupakan senyawa antibakteri yang tergolong kuat (diameter zona hambat 11-20 mm) untuk bakteri *Salmonella*, *S. aureus*, dan *B. cereus*, tergolong sedang pada konsentrasi 10% untuk bakteri *E. coli*, dan tergolong sedang pada konsentrasi 5% untuk keempat jenis bakteri. Bakteri *E. coli* memiliki rerata diameter zona hambat yang paling kecil ($6,65 \pm 0,21$ mm) dan memiliki diameter zona hambat dengan notasi yang sama (tidak berbeda secara signifikan ($p < 0,05$)) dengan bakteri *B. cereus* yang memiliki diameter zona hambat terkecil pada konsentrasi 5%. Bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *Salmonella*) memiliki rerata diameter zona hambat yang lebih kecil dibandingkan rerata diameter yang dimiliki oleh bakteri Gram positif (*S. aureus* dan *B. cereus*). Bakteri *E. coli* dan *Salmonella* memiliki struktur yang lebih kompleks dibandingkan struktur membran bakteri *S. aureus* dan *B. cereus*.

Struktur dari bakteri Gram negatif terdiri dari 3 lapisan yaitu, membran bagian luar, dinding sel (lapisan murein), dan membran plasma dalam. Struktur bakteri Gram negatif terdiri dari lapisan peptidoglikan tipis, membran di luar peptidoglikan, yang dikelilingi oleh lipoprotein, lipopolisakarida, fosfolipid, dan beberapa protein (Huong & Hue, 2019). Dengan struktur membran yang lebih kompleks dibandingkan bakteri Gram positif (*S. aureus*), maka senyawa ekstrak daun sirih akan lebih sulit untuk menembus dinding sel membran, sehingga *E. coli* memiliki diameter zona hambat yang lebih

Tabel 1. Nilai MIC dan MBC kultur bakteri.

Bakteri uji	Ekstrak	MBC (%)	MIC (%)
<i>E. coli</i>	Sirih hijau	4,53	1,13
	Sirih merah	5,21	1,30
<i>Salmonella</i>	Sirih hijau	3,63	0,90
	Sirih merah	5,75	1,44
<i>S. aureus</i>	Sirih hijau	3,29	0,82
	Sirih merah	4,48	1,12
<i>B. cereus</i>	Sirih hijau	4,06	1,02
	Sirih merah	6,11	1,53

Tabel 2. Total fenolik ekstrak daun sirih hijau dan merah.

Jenis daun sirih	Total fenolik (mg GAE/g)
Daun sirih hijau	2630,1 ± 0,82
Daun sirih merah	6294,8 ± 0,49

Tabel 3. Total flavonoid ekstrak daun sirih hijau dan merah

Jenis daun sirih	Total flavonoid (mg QE/g)
Daun sirih hijau	679,0 ± 0,25
Daun sirih merah	1662,9 ± 0,11

kecil dibandingkan dengan *S. aureus* yang merupakan bakteri Gram positif. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Pangaribuan *et al.* (2019), pada konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau yang sama yaitu sebesar 20%, bakteri *Salmonella* memiliki rerata zona hambat yang lebih kecil dibandingkan diameter zona hambat yang dimiliki oleh bakteri *S. aureus* pada empat kali pengulangan. Hasil yang diperoleh pada Gambar 2. sama seperti pada Gambar 1., bahwa bakteri *S. aureus* pada konsentrasi ekstrak daun sirih merah 20% memiliki diameter yang paling besar (8,38±0,18 mm).

Berdasarkan Gambar 2., dapat diketahui bahwa ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 20% merupakan senyawa antibakteri

yang tergolong sedang (diameter zona hambat 6-10 mm) untuk kultur bakteri *S. aureus*, *Salmonella*, dan *B. cereus*, tergolong lemah pada konsentrasi 20% untuk bakteri *E. coli*, dan tergolong lemah (diameter zona hambat <5 mm) pada konsentrasi 5, 10, dan 15% untuk keempat jenis bakteri. Rerata diameter zona hambat bakteri Gram negatif lebih kecil dibandingkan rerata diameter zona hambat bakteri Gram positif, hal ini disebabkan lapisan membran bakteri Gram negatif yang lebih kompleks dibandingkan lapisan membran bakteri Gram positif (Pangaribuan *et al.*, 2019).

Berdasarkan hasil analisis GC-MS peneliti, didapatkan hasil bahwa senyawa-senyawa aktif yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih merah lebih banyak dibandingkan senyawa-senyawa yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih hijau. Akan tetapi, hampir seluruh senyawa aktif yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih merah tidak memiliki sifat sebagai senyawa antimikroba. Ekstrak daun sirih hijau meskipun memiliki jumlah senyawa aktif yang lebih sedikit, tetapi seluruhnya berfungsi sebagai antimikroba, seperti *propenyl* (Shinsetsu *et al.*, 2015), *isoeugenol* (Nejad *et al.*, 2017), dan asam benzoat (Castillo *et al.*, 2020), sehingga ekstrak daun sirih hijau lebih efektif bekerja sebagai senyawa antimikroba dibandingkan ekstrak daun sirih merah. Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat bakteri penggunaan ekstrak daun sirih merah lebih kecil dibandingkan rerata diameter zona hambat bakteri penggunaan ekstrak daun sirih hijau pada konsentrasi yang sama.

Pengaruh interaksi dan konsentrasi ekstrak daun sirih terhadap kultur bakteri

Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat interaksi antara jenis daun ekstrak daun sirih dengan konsentrasi ekstrak daun sirih terhadap diameter zona hambat kultur bakteri. Ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak daun sirih merah dengan konsentrasi 20%, memberikan diameter zona hambat yang paling besar, yaitu masing-masing (17,85 ± 0,14 mm) dan (4,30 ± 0,42 mm) pada bakteri *E. coli*, (16,60 ± 0,85 mm) dan

($5,23 \pm 0,46$ mm) pada bakteri *Salmonella*, ($20,60 \pm 0,21$ mm) dan ($8,38 \pm 0,18$ mm) pada bakteri *S. aureus*, dan ($19,53 \pm 0,53$ mm) dan ($7,70 \pm 0,42$ mm) pada bakteri *B. cereus*. Menurut Fallo *et al.* (2022), salah satu faktor yang dapat memengaruhi perbedaan zona hambat yaitu konsentrasi ekstrak, dimana semakin rendah konsentrasi, maka diameter zona hambat akan semakin kecil. Pernyataan tersebut didukung oleh teori yang disampaikan Pangaribuan *et al.* (2019), bahwa semakin tinggi konsentrasi berpengaruh terhadap zona hambat yang dihasilkan. Selain itu, menurut Puspita *et al.* (2018), ekstrak daun sirih merah memiliki aktivitas antibakteri yang lebih rendah jika dibandingkan dengan ekstrak daun sirih hijau.

Dibutuhkan konsentrasi sebesar 100% pada ekstrak daun sirih merah agar dapat menjadi antibakteri yang efektif (Puspita *et al.*, 2018), hal ini dapat disebabkan karena kandungan kavikol yang terdapat dalam ekstrak daun sirih hijau yang lebih besar dibandingkan pada ekstrak daun sirih merah. Senyawa kavikol pada minyak atsiri ekstrak daun sirih merupakan salah satu turunan fenol yang dapat bertindak sebagai antibakteri yang lebih kuat dari turunan fenol yang lainnya (Pangesti *et al.*, 2017). Oleh sebab itu, ekstrak daun sirih hijau yang memiliki kandungan minyak atsiri yang lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak daun sirih merah memiliki sifat sebagai antibakteri yang lebih kuat. Bakteri yang memiliki zona hambat yang paling besar, baik menggunakan ekstrak daun sirih hijau dan merah, adalah bakteri *S. aureus* yang merupakan bakteri Gram positif. Hasil ini dapat disebabkan oleh struktur membran bakteri Gram positif yang lebih mudah dilewati dan dirusak oleh senyawa fenol pada ekstrak daun sirih (Pangaribuan *et al.*, 2019).

Nilai MBC dan MIC pada Bakteri Uji

Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri Gram positif memiliki rerata nilai MIC dan MBC yang lebih kecil dibandingkan dengan bakteri Gram negatif. Berdasarkan Tabel 1, bakteri yang memiliki nilai MBC dan MIC terkecil adalah bakteri *S. aureus* (3,29% dan 0,82%) dengan

menggunakan ekstrak daun sirih hijau dan bakteri yang memiliki nilai MIC dan MBC terbesar adalah bakteri *B. cereus* dengan menggunakan ekstrak daun sirih merah. Semakin besar nilai MIC dan MBC, maka diperlukan konsentrasi yang lebih besar untuk menghambat atau membunuh bakteri tersebut. Bakteri Gram negatif memiliki struktur dinding sel yang lebih kompleks dibandingkan dengan bakteri Gram positif (Pangaribuan *et al.*, 2019). Diperlukan konsentrasi yang lebih tinggi untuk dapat menembus dinding sel bakteri Gram negatif.

Dinding sel bakteri Gram negatif terdiri dari 3 lapisan, yaitu membran bagian luar, lapisan murein, dan membran plasma bagian dalam (Huong & Hue, 2019). Selain itu, kandungan lipid pada bakteri Gram negatif *E. coli* cenderung tinggi pada bagian dinding sel, hal ini menyebabkan senyawa-senyawa pada ekstrak daun sirih sulit untuk menembus dinding sel *E. coli* (Huong & Hue, 2019). Rerata MIC dan MBC kultur bakteri dengan ekstrak daun sirih hijau lebih kecil dibandingkan dengan rerata MIC dan MBC kultur bakteri dengan ekstrak daun sirih merah, hal ini disebabkan kandungan kavikol pada ekstrak daun sirih hijau yang lebih tinggi dari kavikol pada ekstrak daun sirih merah (Pangesti *et al.*, 2017).

Analisis GC-MS

Analisis GC-MS dilakukan untuk mengetahui komponen-komponen yang terdapat di dalam ekstrak daun sirih hijau dan merah. Berdasarkan hasil analisis GC-MS ekstrak daun sirih hijau, senyawa aktif yang memiliki komposisi terbesar pada ekstrak daun sirih hijau adalah asam benzoat (84,95%). Asam benzoat merupakan asam karboksilat aromatik. Asam benzoat memiliki fungsi sebagai antimikroba dan pengawet makanan (Foo *et al.*, 2015). Mekanisme kerja asam benzoat sebagai senyawa antimikroba adalah melalui pengasaman sitoplasma mikroba, dan menghambat proses metabolik enzim mikroba, termasuk makroautofagi (Kim *et al.*, 2019).

Senyawa kedua yang memiliki komposisi terbesar pada ekstrak daun sirih hijau adalah

Tabel 4. Jumlah mikroba TPC perendaman sampel ayam *broiler* segar dalam ekstrak daun sirih.

Durasi Perendaman	Jenis Ekstrak	Jumlah Mikroba (cfu/ml)
0 jam	Kontrol	$1,2 \times 10^{3(b)}$
24 jam		$1,4 \times 10^{3(b)}$
48 jam		$1,4 \times 10^{4(d)}$
72 jam		$2,5 \times 10^{4(d)}$
24 jam	Sirih merah	$1,3 \times 10^{3(b)}$
48 jam		$4,3 \times 10^{3(c)}$
72 jam		$6,1 \times 10^{3(c)}$
24 jam	Sirih hijau 20%	0,00 ^(a)
48 jam		0,00 ^(a)
72 jam		0,00 ^(a)

isoeugenol (5,20%). Senyawa isoeugenol merupakan komponen fenolik yang memiliki fungsi sebagai senyawa antimikroba (Nejad *et al.*, 2017). Senyawa isoeugenol memiliki sifat sebagai bakterisida terhadap bakteri *E. coli*. Mekanisme kerja isoeugenol sebagai senyawa antimikroba adalah dengan mengganggu kestabilan membran sel mikroba. Komponen aktif lainnya, yaitu propenil dan *diacetoxybenzene*. Senyawa propenil berfungsi sebagai senyawa antibakteri. Senyawa propenil dapat berfungsi secara efektif sebagai senyawa antibakteri khususnya pada bakteri Gram positif. *Diacetoxybenzene* merupakan senyawa yang umum ditemukan pada daun sirih hijau yang dapat berfungsi sebagai *antifungal* (Muruganandam *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil analisis GC-MS, diketahui bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan ekstrak daun sirih hijau. Komposisi senyawa aktif terbesar pada ekstrak daun sirih merah adalah *benzocyclohepene (methylene)* sebesar 31,07%. Senyawa *benzocyclohepene (methylene)* memiliki fungsi sebagai *anti-inflammatory* (Wahjuni *et al.*,

2016). Rata-rata senyawa aktif pada ekstrak daun sirih merah memiliki fungsi sebagai *anti-inflammatory*, serta fungsi lain seperti *amethylhexadecyl* yang dapat berfungsi sebagai antikanker (Kurnia *et al.*, 2019), dan penyusun klorofil yang merupakan fungsi dari *phytol* (Carvalho *et al.*, 2020), dan bukan fungsi dari antibakteri. Hanya terdapat sedikit senyawa aktif pada ekstrak daun sirih merah yang berfungsi sebagai antibakteri, yaitu propenil, *caryophyllene*, *sesquisabinene*, dan *germacrene* (Moo, 2020; Noriega, 2020; Shinsetsu *et al.*, 2015; Sitarek *et al.*, 2017), sedangkan 7 senyawa aktif pada ekstrak daun sirih hijau semua berfungsi sebagai senyawa antimikroba, sehingga dari hasil analisis GC-MS dapat diketahui bahwa ekstrak daun sirih hijau lebih efektif sebagai senyawa antimikroba dibandingkan ekstrak daun sirih merah.

Kandungan Fitokimia

Analisis fitokimia digunakan untuk mengetahui komponen-komponen fitokimia yang terdapat di dalam ekstrak daun sirih hijau dan merah. Komponen-komponen fitokimia berfungsi sebagai senyawa antibakteri dari ekstrak. Senyawa fitokimia diuji secara kualitatif yang meliputi senyawa fenolik dan flavonoid.

Total fenolik

Berdasarkan Tabel 2 didapatkan hasil total fenolik ekstrak daun sirih hijau sebesar 2630,1 mg GAE/g dan total fenolik ekstrak daun sirih merah sebesar 6294,8 mg GAE/g. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Prayitno *et al.* (2018), total fenolik yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih merah dengan menggunakan etanol 50% dan 70% sebagai pelarut masing-masing sebanyak 142,56 mg GAE/g dan 157,61 mg GAE/g. Total fenolik yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih hijau dengan menggunakan etanol 50% dan 70% sebagai pelarut masing-masing sebanyak 82,29 mg GAE/g dan 147,96 mg GAE/g. Besarnya kandungan fenolik pada penelitian ini dapat dipengaruhi oleh pelarut etanol yang digunakan yaitu etanol FG 96%. Seperti penelitian yang

dilakukan oleh Prayitno *et al.* (2018), semakin tinggi kadar etanolnya maka semakin besar kandungan fenolik yang didapatkan (Prayitno *et al.*, 2018).

Ekstrak daun sirih hijau memiliki kandungan minyak atsiri sebesar 4,2% (Huong & Hue, 2019), sedangkan ekstrak daun sirih merah memiliki kandungan minyak atsiri sebesar 0,24% (Utami *et al.*, 2017). Perbedaan jumlah minyak atsiri menentukan seberapa banyak jumlah senyawa yang terdapat di dalam ekstrak daun sirih, salah satu senyawa penting dalam fungsinya sebagai antimikroba adalah senyawa kavikol (turunan fenol) yang sangat efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Pangesti *et al.*, 2017). Dari hasil analisis GC-MS, didapatkan bahwa ekstrak daun sirih merah memiliki senyawa aktif yang lebih banyak dibandingkan ekstrak daun sirih hijau, tetapi tidak memiliki banyak senyawa aktif fenol yang dapat berfungsi sebagai antimikroba, sehingga total fenolik ekstrak daun sirih merah lebih tinggi dibandingkan total fenolik ekstrak daun sirih hijau.

Total flavonoid

Berdasarkan Tabel 3, didapatkan hasil total flavonoid ekstrak daun sirih hijau sebesar 679,0 mg QE/g dan total flavonoid ekstrak daun sirih merah sebesar 1662,9 mg QE/g. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Prayitno *et al.* (2018), total flavonoid yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih merah dengan menggunakan etanol 50% dan 70% sebagai pelarut masing-masing sebanyak 155,27 mg QE/g dan 168,33 mg QE/g. Total flavonoid yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih hijau dengan menggunakan etanol 70% sebagai pelarut sebanyak 80,334 mg QE/g (Insanu *et al.*, 2017). Banyaknya total flavonoid pada penelitian ini dapat dipengaruhi oleh pelarut etanol yang digunakan yaitu etanol FG 96%. Semakin tinggi konsentrasi etanol, maka semakin banyak senyawa metabolit yang terekstrak, yang bersifat polar maupun semipolar (Prayitno *et al.*, 2018).

Jenis flavonoid yang dimiliki oleh daun sirih hijau adalah flavon, dan jenis flavonoid yang dimiliki oleh daun sirih merah adalah flavonol. Terdapat perbedaan antara flavon dan flavonol, yaitu flavon tidak memiliki gugus hidroksil pada atom C-3. Contoh flavon yang umum terdapat pada daun adalah luteolin dan apigenin. Senyawa flavonol memiliki gugus hidroksil pada atom C-3. Selain itu, senyawa flavonol juga banyak tersebar sebagai pigmen antosianin pada daun. Contoh senyawa flavonol adalah kaempferol, kuersetin, dan mirisetin. Karena kandungan yang berbeda ini, serta ada dan tidak adanya gugus hidroksil pada atom C-3, maka jika diuji dari total flavonoid, ekstrak daun sirih merah memiliki total flavonoid yang lebih besar dibandingkan ekstrak daun sirih hijau (Arifin & Ibrahim, 2018). Penelitian yang dilakukan oleh Mustamin *et al.* (2016), juga memberikan hasil bahwa ekstrak daun sirih hijau memiliki total flavonoid yang lebih rendah dibandingkan total flavonoid yang dimiliki oleh ekstrak daun sirih merah.

Pengaruh Lama Perendaman Sampel Ayam Broiler Segar dengan Ekstrak Daun Sirih Terhadap TPC Sampel

Berdasarkan hasil perhitungan TPC sampel, didapatkan hasil bahwa semakin lama waktu perendaman sampel ayam *broiler* segar dengan ekstrak daun sirih maupun kontrolnya, maka jumlah mikroba akan semakin banyak. Berdasarkan Tabel 4, diketahui bahwa semakin lama perendaman sampel dengan ekstrak dan semakin lama waktu penyimpanan sampel, maka jumlah mikroba akan semakin banyak (Putri *et al.*, 2018).

Sampel kontrol (0% ekstrak) merupakan sampel yang memiliki rerata jumlah mikroba yang paling banyak. Rerata jumlah mikroba sampel ayam *broiler* yang direndam dengan sirih merah dengan konsentrasi 20% memiliki jumlah yang lebih besar dibandingkan rerata jumlah mikroba sampel yang direndam dengan sirih hijau dengan konsentrasi 20%. Sirih merah memiliki aktivitas senyawa antibakteri yang lebih

rendah dibandingkan sirih hijau dan ekstrak sirih merah dapat berfungsi sebagai senyawa antimikroba yang efektif pada konsentrasi 100% (Puspita *et al.*, 2018).

Berdasarkan Tabel 4, terdapat perbedaan yang signifikan TPC antara sampel kontrol (0% ekstrak) dengan sampel ayam *broiler* segar yang direndam dalam ekstrak daun sirih merah dengan lama perendaman yang sama selama 48 jam 72 jam. Terdapat perbedaan yang signifikan antara sampel kontrol (0%) ekstrak dan sampel ayam *broiler* segar yang direndam dalam ekstrak daun sirih merah (20%) dengan sampel ayam *broiler* segar yang direndam dalam ekstrak daun sirih hijau (20%). Tidak terdapat mikroba yang tumbuh pada media PCA pada sampel ayam *broiler* segar yang direndam di dalam ekstrak daun sirih hijau 20%, hal ini menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau efektif sebagai senyawa antimikroba pada sampel ayam *broiler* segar.

Berdasarkan data analisis pada uji diameter zona hambat, didapatkan hasil bahwa ekstrak daun sirih hijau tergolong sebagai antibakteri yang kuat (diameter zona hambat 11-20 mm) terhadap bakteri *E. coli* dan *Salmonella*, sedangkan ekstrak daun sirih merah tergolong sebagai antibakteri yang lemah (diameter zona hambat <5 mm) terhadap bakteri *E. coli* dan *Salmonella*. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ramadhani *et al.* (2020), terdapat bakteri *E. coli* dan *Salmonella* pada uji TPC sampel ayam *broiler* segar. Hasil TPC sampel ayam *broiler* segar yang didapatkan oleh peneliti adalah tidak terdapat mikroba yang tumbuh pada sampel ayam yang direndam dalam ekstrak daun sirih hijau, maka dapat dikatakan bahwa ekstrak daun sirih hijau dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *Salmonella* pada sampel ayam *broiler* segar dengan golongan sedang, sedangkan sampel ayam yang direndam di dalam ekstrak daun sirih merah masih terdapat mikroba yang tumbuh, karena ekstrak daun sirih merah tergolong sebagai antibakteri yang lemah terhadap bakteri *E. coli* dan *Salmonella*, meskipun hasil TPC perendaman sampel selama 48 dan 72 jam, perbedaan antara

sampel kontrol dan sampel yang direndam dalam ekstrak daun sirih merah berbeda secara signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan Standar Nasional Indonesia Nomor 3924:2009 Tentang Mutu Karkas dan Daging Ayam mengenai syarat mutu mikrobiologis ayam *broiler*, jumlah maksimum mikroba dengan jenis uji TPC adalah 1×10^6 cfu/g. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan bahwa sampel kontrol (tanpa ekstrak) dengan lama perendaman 72 jam (perendaman dengan waktu yang paling lama), jumlah mikroba pada daging ayam *broiler* masih dibawah 1×10^6 cfu/g, yaitu sebesar $2,5 \times 10^4$ cfu/ml. Hal ini dapat terjadi karena sampel daging ayam *broiler* yang dibeli di salah satu supermarket di Karawaci, Tangerang. Penelitian yang dilakukan oleh Ramadhani *et al.* (2020), didapatkan bahwa sampel daging ayam *broiler* yang dibeli di pasar tradisional tidak memenuhi syarat mutu mikrobiologis pada uji TPC ($> 1 \times 10^6$ cfu/g), dikarenakan kondisi pasar yang tidak bersih seperti di supermarket pada umumnya.

KESIMPULAN

Pada penelitian ini, hasil terbaik didapatkan dengan menggunakan ekstrak daun sirih hijau sebagai senyawa antimikroba. Ekstrak daun sirih hijau mampu menghasilkan diameter zona hambat terbesar pada keempat jenis bakteri dan memiliki senyawa aktif yang lebih banyak berfungsi sebagai antimikroba dibandingkan senyawa aktif pada ekstrak daun sirih merah yang didapatkan dari hasil analisis GC-MS. Konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dan merah sebesar 20% memberikan hasil diameter zona hambat kultur bakteri yang paling besar pada bakteri *S. aureus* sebesar $20,60 \pm 0,21$ mm pada ekstrak daun sirih hijau, sedangkan menggunakan ekstrak daun sirih merah sebesar $8,38 \pm 0,18$ mm.

Bakteri yang paling resisten terhadap ekstrak daun sirih hijau dan merah adalah bakteri *E. coli* dan bakteri yang paling sensitif terhadap ekstrak

daun sirih hijau dan merah adalah bakteri *S. aureus*. Penggunaan ekstrak daun sirih hijau sebagai larutan perendam sampel ayam *broiler* segar memberikan hasil paling baik dengan penyimpanan selama 72 jam pada suhu *refrigerator* (4°C).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima kasih kepada Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Pelita Harapan (UPH), Program Studi Teknologi Pangan serta LPPM UPH yang sudah menjembatani dan memfasilitasi terselesainya penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC. 2005. *Official methods of analysis of the association of official analytical chemists*. AOAC Inc., Arlington.
- Arifin, B., dan S. Ibrahim. 2018. Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*. 6(1): 21-29. <https://doi.org/10.31629/zarah.v6i1.313>
- Badan Standardisasi Nasional. 2009. Standar nasional Indonesia (SNI) nomor 3924:2009 tentang mutu karkas dan daging ayam. BSN. Jakarta.
- Bustanussalam, D. Apriasi, E. Suhardi, dan D. Jaenudin. 2015. Efektivitas antibakteri ekstrak daun sirih (*Piper betle Linn*) terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. *Fitofarmaka*. 5(2): 58-64. <https://doi.org/10.33751/jf.v5i2.409>.
- Carolia, N., dan W. Noventi. 2016. Potensi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L.*) sebagai alternatif terapi *Acne vulgaris*. *Majority*. 5(1): 140-145.
- Carvalho, A.M.S., L. Heimfarth, E.W.M. Pereira, F.S. Oliveira, I.R.A. Menezes, H.D.M. Coutinho, L. Picot, A.R. Antonioli, J.S.S. Quintans, and L.J.Q. Junior. 2020. Phytol, a chlorophyll component, produces antihyperalgesic, anti-inflammatory, and antiarthritic effects: Possible NFκB pathway involvement and reduced levels of the proinflammatory cytokines TNF-α and IL-6. *Journal of Natural Products*. 83(4): 1107-1117. <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.9b01116>.
- Castillo, Y.P., T.C. Lima, A.R. Ferreira, C.R. Silva, R.S. Campos, J.B.A. Neto, H.I.F. Magalhaes, B.C. Cavalcanti, H.V.N. Junior, and D.P. Sousa. 2020. Bioactivity and molecular docking studies of derivatives from cinnamic and benzoic acids. *BioMed Research International*. 2020: 1-13. <https://doi.org/10.1155/2020/6345429>.
- Cepeda, G.N., M.M. Lisangan, dan I. Silamba. 2019. Aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit kayu akway (*Drimys piperita* Hook.f.) pada beberapa tingkat konsentrasi, keasaman (pH) dan kandungan garam. *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 8(4): 149-154. <https://doi.org/10.17728/jatp.4692>.
- Dewi, S.R., B.D. Argo, dan N. Ulya. 2018. Kandungan flavonoid dan aktivitas antioksidan ekstrak *Pleurotus ostreatus*. *Jurnal Rona Teknik Pertanian*. 11(1): 1-11. <https://doi.org/10.17969/rtp.v11i1.9571>.
- Fallo, G., L. Pardosi, dan A.M.D. Cruz. 2022. Karakterisasi bakteri endofit tanaman sirih Timor (*Piper betle L.*) penghasil antibakteri. *Jurnal Biologi Papua*. 14(2): 102-108. <https://doi.org/10.31957/jbp.2366>.
- Foo, L.W., E. Salleh, and S.N.H. Mamat. 2015. Extraction and qualitative analysis of *Piper betle* leaves for antimicrobial activities. *International Journal of Engineering Technology Science and Research*. 2: 1-8.
- Hajrawati, F.M., Wahyuni, dan I.I. Arief. 2016. Kualitas fisik, mikrobiologis, dan organoleptik daging ayam *broiler* pada pasar tradisional di Bogor. *Jurnal Ilmu Produksi dan Teknologi Hasil Peternakan*. 4(3): 386-389.
- Huong, B.M., dan T.T.K. Hue. 2019. Antibacterial finishing on cotton 100 % and cvc fabrics with tannin from *Piper betle* extract. *Vietnam Journal of Science and Technology*. 57(6): 693-702.
- Insanu, M., L. Marliani, dan N.P. Dinilah. 2017. Perbandingan aktivitas antioksidan dari ekstrak daun empat tanaman marga *Piper*. *Jurnal Pharmacia*. 7(2): 305-312. <https://doi.org/10.12928/pharmacia.v7i2.6935>.
- Kaintura, P., M. Bhandari, and R. Kumar. 2020. Medicinal values of betel leaves and its application in food products: a review. *The Pharma Innovation Journal*. 9(6): 344-348.
- Khadijah, A.M., Jayali, S. Umar, dan I. Samista. 2017. Penentuan total fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak etanolik daun samama (*Anthocephalus macrophyllus*) asal Ternate, Maluku Utara. *Jurnal Kimia Mulawarman*. 15(1): 11-18. <https://doi.org/10.30872/jkm.v15i1.495>.
- Kim, H.W., Y.S. Seok, and M.S. Rhee. 2019. Synergistic staphylocidal interaction of benzoic acid derivatives (benzoic acid, 4-hydroxybenzoic acid and β-resorcylic acid) and capric acid: mechanism and verification study using artificial skin. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 75(3): 1-5. <https://doi.org/10.1093/jac/dkz494>.
- Kurnia, A., F.C. Saputri, and Hayun. 2019. Synthesis and anticancer potential of aminomethyl derivatives of methyl-substituted asymmetrical curcumin monocarbonyl. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 9(8): 18-24. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90803>
- Lubis, R.R., Marlisa, and D.D. Wahyuni. 2020. Antibacterial activity of betle leaf (*Piper betle L.*) extract on inhibiting *Staphylococcus aureus* in conjunctivitis patient. *American Journal of Clinical and Experimental Immunology*. 9(1): 1-5.

- Moo, C.L., S.K. Yang, M.A. Osman, M.H. Yuswan, J.Y. Loh, W.M. Lim, S.H.E. Lim, dan K.S. Lai. 2020. Antibacterial activity and mode of action of β -caryophyllene on *Bacillus cereus*. *Polish Journal of Microbiology*. 69(1): 49-54. <https://doi.org/10.33073/pjm-2020-007>.
- Mufrod, Suwaldi, dan S. Wahyuno. 2016. Patch ekstrak daun sirih (*Piper betle* L.): Pengaruh penambahan *release enhancer substances* terhadap sifat fisikokimia dan aktivitas antibakteri. *Majalah Farmaseutik*. 12(2): 431-442.
- Muruganandam, L., A. Krishna, J. Reddy, and G. S. Nirmala. 2017. Optimization of extraction of phytochemicals from betel leaves. *Resource Efficient Technologies*. 3: 385-393. <https://doi.org/10.1016/j.refit.2017.02.007>.
- Mustamin, M.I., N. Rustam, dan K. Kasman. 2016. Analisis nilai absorbansi kadar flavonoid daun sirih merah (*Piper crocatum*) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.). *Gravitasi*. 15(1): 1-8.
- Nejad, S.M., H. Özgüneş, and N. Basaran. 2017. Pharmacological and toxicological properties of eugenol. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 14(2): 201-206. <https://doi.org/10.4274/tjps.62207>.
- Noriega, P., J. Ballesteros, A.D.L. Cruz, dan T. Veloz. 2020. Chemical composition and preliminary antimicrobial activity of the hydroxylated sesquiterpenes in the essential oil from *Piper barbatum* Kunth leaves. *Journal Plants*. 9(2): 1-9. <https://doi.org/10.3390/plants9020211>.
- Nowshad, F., M.D. Islam, dan M.S. Khan. 2018. Analysis of the concentration and formation behavior of naturally occurring formaldehyde content in food. *International Journal of Food Engineering*. 4(1): 71-75. <https://doi.org/10.18178/ijfe.4.1.71-75>.
- Pangaribuan, B.B.P., T.U. Soleha, dan M.R. Ramadhian. 2019. Perbandingan daya hambat konsentrasi ekstrak etanol daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi* dan *Staphylococcus aureus*. *J Agromedicine*. 6(2): 400-404.
- Pangesti, R.D., E. Cahyono, dan E. Kusuma. 2017. Perbandingan daya antibakteri ekstrak dan minyak *Piper betle* L. terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *Indonesian Journal of Chemical Science*. 6(3): 271-278.
- Prayitno, S.A., J. Kusnadi, dan E.S. Murtini. 2018. Karakteristik (total flavonoid, total fenol, aktivitas antioksidan) ekstrak serbuk daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). *Foodscitech*. 1(2): 26-34. <https://doi.org/10.25139/fst.v1i2.1355>.
- Puspita, P.J., M. Safithri, dan N.P. Sugiharti. 2018. Antibacterial activities of sirih merah (*Piper crocatum*) leaf extracts. *Current Biochemistry*. 5(3): 1-10. <https://doi.org/10.29244/cb.5.3.1-10>.
- Putri, R.M.S., Nurjanah, dan K. Tarman. 2018. Analisis kuantitatif mikrobiologi serbuk minuman fungsional lintah laut (*Discodoris* sp.) pada suhu yang berbeda selama penyimpanan. *A Scientific Journal*. 35(3): 124-130.
- Ramadhani, W.M., I. Rukmi, dan S.N. Jannah. 2020. Kualitas mikrobiologi daging ayam *broiler* di pasar tradisional banyumanik semarang. *Jurnal Biologi Tropika*. 3(1): 8-16.
- Retnaningsih, A., A.M. Ulfa, dan D.M. Khomsatun. 2018. Uji daya hambat anti bakteri infusa daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) dan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode difusi. *Jurnal Analisis Farmasi*. 3(1): 79-88.
- Shinsetsu, A.S., V.M. Aditya, dan S. Fauziyah. 2015. Sintesis eugenol menjadi 2-metoksi-4-(1-propenil) fenol melalui reaksi isomerisasi dan aplikasinya sebagai bahan suplemen pada *mouthwash*. *Jurnal Sains dan Teknologi*. 13(2): 87-92.
- Sitarek, P., P. Rijo, C. Garcia, E. Skala, D. Kalemba, A.J. Bialas, J. Szemra, D. Pytel, M. Toma, H. Wysokinskaska, and T. Sliwinski. 2017. Antibacterial, anti-inflammatory, antioxidant, and antiproliferative properties of essential oils from hairy and normal roots of *Leonurus sibiricus* L. and their chemical composition. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2017: 1-12. <https://doi.org/10.1155/2017/7384061>.
- Soleha, T.U., N. Carolia, dan S.W. Kurniawan. 2015. The inhibition test of red betel leaves (*Piper crocatum*) towards *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *J. Majority*. 4(5): 117-122.
- Suryani, Y., L.W. Sophia, T. Cahyanto, dan I. Kinasih. 2015. Uji aktivitas antibakteri dan antioksidan infusum cacing tanah (*Lumbricus rubellus*) dengan tambahan kitosan udang pada *Salmonella thypi*. *Jurnal Istek*. 9(2): 264-281.
- Utami, M.R., I. Batubara, dan L.K. Darusman. 2017. Isolasi minyak atsiri daun sirih merah (*Piper cf. fragile* Benth). *Jurnal Agrotek Indonesia*. 2(1): 39-43. <https://doi.org/10.33661/jai.v2i1.719>.
- Wahjuni, S., I.W. Wita, dan I.N.M. Astawa. 2016. Anti-inflammatory effect of red *Piper Crocatum* leaves extract decrease TNF- α and IL-6 levels in wistar rat with atherosclerosis. *Bali Medical Journal*. 5(2): 240-244. <https://doi.org/10.15562/bmj.v5i2.210>.
- Yunita, M., Y. Hendrawan, dan R. Yulianingsih. 2015. Analisis kuantitatif mikrobiologi pada makanan penerbangan (Aerofood ACS) Garuda Indonesia berdasarkan TPC (*total plate count*) dengan metode *pour plate*. *Jurnal Keteknik Pertanian Tropis dan Biosistem*. 3(3): 237-248.