

EFEKTIVITAS DAUN SIRIH MERAH (*Piper crocatum*) PADA SANITASI DI RUANG PENAMPUNGAN SUSU

(The Effectiveness of Red Betel Leaf (Piper crocatum) on Room Milk Sanitation)

Marlina, E.T, E. Harlia, Y. A. Hidayati, D. Z. Badruzzaman

Laboratorium Mikrobiologi dan Penanganan Limbah Fakultas Peternakan

Universitas Padjadjaran Bandung

Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21 Sumedang 45363

Tlp. (022) 7798241 Fax. (022) 7798212

Penulis Koresponden: eulis.tanti@unpad.ac.id

Article Submitted: 29-08-2021

Article Accepted: 07-01-2022

ABSTRACT

Red betel is a multipurpose plant, because apart from being an ornamental plant, because of the beauty of its leaves, it also has several active compounds as antibacterial agents. The aim of this research was to study the effectiveness of red betel leaf extract as a natural disinfectant in the milk storage room through its inhibitory power against bacteria in situ and its effect on reducing the number of total bacteria on the floor, table, and walls in the milk storage room. The research used experimental method using completely randomized design with 3 treatments of red betel leaf extract concentration, P1 = 15%, P2 = 25%, P3 = 35%, each treatment was repeated 6 times. The research data were analyzed using analysis of variance and Tukey's test. The results showed that the highest reduction in the total number of bacteria was in the red betel leaf extract with a concentration of 35%, both on the floor, table, and walls in the milk storage room, respectively 52.40%, 59.96%, and 61.77%. The inhibition zone of red betel leaf extract against bacteria in situ was the highest at a concentration of 35% red betel leaf extract on the floor, table and wall, namely 9.12; 10.65; and 10.76 mm.

Keywords : *red betel leaf, disinfectant, total bacteria, inhibition zone*

PENDAHULUAN

Menjaga sanitasi lingkungan di area penyimpanan susu merupakan upaya yang dapat dilakukan dalam mempertahankan kualitas susu yang disimpan sebelum diproses lebih lanjut menjadi produk akhir seperti yogurt, susu pasteurisasi, susu UHT, dan lain-lain. Kegiatan disinfeksi pada industri pangan merupakan hal yang wajib dilakukan agar pangan yang diolah terjamin keamanannya. Disinfeksi adalah suatu upaya mengurangi jumlah mikroorganisme patogen seperti bakteri, virus, atau kapang yang berada di luar tubuh melalui penggunaan bahan kimia maupun secara fisik (Huguenin dan Colt, 2002; Dudeja dan Singh, 2017; Tao dkk., 2021). Diperlukan jumlah tertentu mikroorganisme untuk menyebabkan penyakit, namun demikian jumlah yang pasti tidak diketahui dengan baik pada setiap kondisi. Disinfeksi sangat

diperlukan pada : (1) fasilitas penampungan, dan alat-alat sebelum digunakan; dan (2) air yang digunakan dalam proses produksi (Dudeja dan Singh, 2017).

Efektivitas disinfektan tergantung kepada beberapa faktor, diantaranya : pembersihan objek sebelumnya dari kotoran yang ada, derajat cemaran mikroorganisme, sifat fisik objek (misal celah, lekukan), konsentrasi disinfektan, waktu kontak, suhu dan pH, kekeruhan dan jenis mikroorganisme. Semakin tinggi konsentrasi disinfektan, semakin cepat kerusakan sel-sel mikroorganisme terjadi (van Asselt dan Te Giffel, 2005; CDC, 2016). Tidak seperti sterilisasi, disinfeksi tidak bersifat sporadis. Lebih lanjut CDC (2016) menggolongkan disinfektan menjadi beberapa tingkat, yaitu Disinfektan tingkat tinggi, menengah, dan rendah. Disinfektan golongan

tingkat tinggi adalah disinfektan yang efektif mereduksi mikroorganisme dengan masa kontak yang cukup lama atau pada konsentrasi sama tetapi masa kontak lebih pendek. Disinfektan tingkat tinggi dapat mereduksi semua jenis mikroorganisme kecuali spora. Disinfektan tingkat menengah mungkin membunuh bakteri patogen, sel bakteri, virus, dan kapang tetapi tidak bisa membunuh spora. Disinfektan tingkat rendah dapat mereduksi sel bakteri dan kapang, dan sebagian virus.

Penampungan susu adalah tempat sementara susu disimpan sebelum diproses menjadi produk-produk yang diinginkan. Sanitasi pada ruang penampungan susu mutlak diperlukan karena susu adalah bahan yang mengandung nutrisi tinggi yang sangat disukai oleh mikroorganisme sehingga susu dikategorikan ke dalam bahan yang mudah rusak atau *perishable food* (Kushwaha and Nagar, 2012; UHD, 2019). Kemungkinan susu tercemar baik bakteri patogen dan non patogen yang berasal dari ternak sapi, alat-alat saat pemerahan, dan kebersihan ruang penampungan susu sementara (Volk, dan Wheeler, 1990). Beberapa mikroorganisme patogen yang dapat menyebabkan keracunan susu antara lain *Bacillus cereus*, *Brucella* spp, *Campylobacter jejuni* spp, *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*. Untuk itu, sangat perlu diperhatikan higiene susu yaitu faktor-faktor yang dapat menyebabkan kerusakan pangan asal susu sehingga nilai manfaat susu dapat dipertahankan sampai dikonsumsi (Winiati, 2008). Bakteri yang mencemari susu di ruang penyimpanan dapat terbawa melalui debu dan menempel pada lantai, meja, maupun dinding. Oleh karena itu, sanitasi di ruang penampungan susu dilakukan secara berkala, biasanya 2 kali setiap hari.

Disinfektan yang biasa digunakan pada sanitasi ruang penampungan susu biasanya menggunakan disinfektan kimia. Hal ini dikhawatirkan akan meninggalkan residu yang dapat mencemari lingkungan. Oleh karena itu penggunaan bahan alami asal tumbuh-tumbuhan sebagai disinfektan diharapkan dapat mensubstitusi penggunaan disinfektan kimia pada ruang penampungan susu. Beberapa bagian tumbuhan tertentu dapat digunakan sebagai disinfektan alami karena mengandung senyawa-senyawa yang bersifat antibakteri, salah satu diantaranya adalah daun sirih merah.

Tumbuhan sirih merah (*Piper crocatum*) lebih dikenal sebagai tanaman hias dengan batang bulat, warna daun hijau kemerahan. Seperti daun sirih pada umumnya, sirih merah juga mempunyai daun berbentuk jantung hati serta bergelombang dan mengkilap (Stefanny, 2010). Sirih merah merupakan tumbuhan merambat (Soedibjo, 1991). Sama halnya dengan sirih hijau, sirih merah bersifat antimikroorganisme. Perbedaan antara daun sirih merah dan daun sirih hijau adalah konsentrasi kandungan yang terdapat pada keduanya. Senyawa aktif yang terkandung dalam sirih merah sebagai antimikroorganisme diantaranya flavonoid, saponin dan tanin (Agustin, 2005). Selain itu daun sirih merah mengandung minyak atsiri yang terdiri dari kavikol, fenol, eugenol, trans-karyopilen dan beta-selinen dengan masing-masing mempunyai fungsi yang spesifik dalam mereduksi mikroorganisme (Haryadi, 2010; Kartika, 2018; Sujono dkk., 2019).

Beberapa penelitian sudah dilakukan untuk mengetahui kemampuan daun sirih merah sebagai antimikroorganisme. Penelitian menggunakan ekstrak daun sirih merah konsentrasi 25% yang dilarutkan dengan etanol dapat mereduksi jumlah bakteri gram positif sedangkan konsentrasi 6,25% dapat mereduksi bakteri gram negatif seperti *Escheria coli*. Sari daun sirih merah pada konsentrasi 10% sudah mampu menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dengan daya hambat sebesar 8,22 mm, dan menghambat pertumbuhan *Escheria coli* dengan daya hambat sebesar 6,69 mm (Gustina, dkk., 2012). Penelitian lainnya adalah ekstrak daun sirih merah berupa gel antiseptik dapat mengurangi jumlah total bakteri dengan konsentrasi 15%, sedangkan pada konsentrasi 25% semua bakteri yang tumbuh pada media agar tereduksi (Retno dan Dewi, 2006). Konsentrasi ekstrak daun sirih merah 18% menghambat pertumbuhan *Staphylococcus aureus* (Haryadi, 2010). Lebih lanjut Soleha dkk. (2015) menyatakan bahwa ekstrak daun sirih merah lebih efektif menghambat bakteri kelompok gram positif seperti *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan bakteri kelompok gram negatif seperti *Escherichia typhi*.

Informasi aplikasi daun sirih merah sebagai disinfektan alami pada proses sanitasi belum banyak diperoleh. Pada penelitian ini akan dipelajari efektivitas ekstrak daun sirih

merah sebagai disinfektan alami pada proses sanitasi ruang penampungan susu.

METODE PENELITIAN

Persiapan Ekstrak Daun Sirih Merah

Daun sirih merah dicuci sampai bersih kemudian dikeringkan menggunakan oven suhu 50°C selama 2 jam sampai mencapai bahan kering 85 %, kemudian diblender sampai menjadi serbuk. Merendam 500 gram simplisia daun sirih merah dalam etanol 70% sebanyak 2000 ml (sampai terendam) selama 24 jam. Menyaring larutan daun sirih merah menggunakan kertas saring dan diperas sehingga diperoleh filtrat, selanjutnya filtrat diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50°C selama 24 jam sampai mengental. Ekstrak daun sirih merah siap digunakan.

Persiapan Media *Nutrient Agar*

Media *Nutrient Agar* (NA) oxoid 28 gram dilarutkan dalam 1000 ml aquadest sampai homogen, kemudian dilakukan proses sterilisasi media menggunakan autoclave menggunakan suhu 121°C pada tekanan 1 atmosfer dengan waktu 15 menit.

$$\frac{\text{Jumlah mikroorganisme}}{100\text{cm}^2} = \text{Jumlah koloni} \times \frac{100}{\text{jumlah agar yang terkena kontak (cm}^2\text{)}}$$

Perhitungan persentase penurunan jumlah bakteri di lantai, meja, dan dinding ruang penampung susu dilakukan dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\frac{\Sigma \text{bakteri awal} - \Sigma \text{bakteri akhir}}{\Sigma \text{bakteri awal}} \times 100\%$$

Perhitungan Zona Hambat Bakteri

Pengukuran zona hambat bakteri menggunakan metode difusi agar. Terbentuknya zona hambat pada media agar diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan pengukuran milimeter (mm). Bakteri penguji yang digunakan adalah bakteri *in situ*, yaitu bakteri yang diisolasi dari lantai, meja, dan dinding pada ruang penampungan susu.

Analisis Statistik

Data yang diperoleh dihitung menggunakan Analisis Sidik Ragam dengan uji lanjut menggunakan *Uji Tukey*

Perhitungan Jumlah Bakteri pada Lantai, Meja, dan Dinding di Ruang Penampungan Susu

Perhitungan bakteri dilakukan dengan cara menumbuhkan terlebih dahulu bakteri yang terdapat pada lantai, permukaan meja dan dinding ruang penampungan susu menggunakan metode RODAC (*the Replicate Organism Direct Agar Contact*) (Lukman dan Soejoedono, 2009). Nutrient Agar steril dimasukkan ke dalam syringe diameter 42 mm kapasitas 150 ml. Syringe dimodifikasi dengan membuka bagian ujungnya agar NA mudah untuk dikeluarkan. Kontak media dengan permukaan meja, lantai, dan dinding yang diuji dilakukan selama 10 menit, kemudian media agar dipotong dengan ketebalan 5 cm dimasukkan dalam cawan petri dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Semua prosedur dilakukan secara aseptik dengan menggunakan alat-alat yang sudah steril. Pengamatan dilakukan dengan menghitung adanya pertumbuhan mikroorganisme pada media agar yang telah kontak dengan permukaan lantai, meja, dan dinding, dan hasilnya dinyatakan sebagai jumlah koloni per 100 cm². Perhitungan bakteri di ruang penampungan susu menggunakan rumus sebagai berikut:

menggunakan program SPSS versi 23 (IBM, 2016).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sanitasi ruang penampungan susu terdiri dari sanitasi pada meja, lantai, dan dinding. Sebelum aplikasi disinfektan ekstrak sirih merah, terlebih dahulu ruang penampungan dibersihkan dengan dilap dengan lap basah untuk dinding, meja, dan lantai. Sebagai control pada penelitian ini digunakan air dan cairan disinfektan kimia yang biasa digunakan sehari-hari di ruang penampungan susu, yaitu disinfektan yang

berbahan dasar senyawa aktif sodium hypochlorite. Rataan penurunan total

bakteri tersaji pada Tabel 1.

Tabel 1. Rataan Persentase (%) Penurunan Jumlah Total Bakteri pada Ruang Penampungan Susu

Bagian	Perlakuan Ekstrak Sirih Merah			Kontrol	
	Konsentrasi 15%	Konsentrasi 25%	Konsentrasi 35%	Air	Sodium hypochlorite 1 %
	Persentase (%)				
Lantai	26,03 ± 8,00 ^a	29,75 ± 5,26 ^a	52,40 ± 7,90 ^a	21,74 ± 7,12	78,24 ± 14,50
Meja	38,74 ± 14,09 ^a	42,21 ± 14,08 ^a	59,96 ± 10,05 ^b	35,20 ± 10,25	89,90 ± 12,70
Dinding	35,35 ± 9,24 ^a	49,29 ± 8,85 ^b	61,77 ± 8,79 ^c	37,15 ± 8,40	90,50 ± 10,22

Keterangan: Huruf berbeda ke arah kolom menunjukkan signifikansi (P<0,05)

Ekstrak daun sirih mampu menurunkan jumlah total bakteri pada proses sanitasi di ruang penampungan susu, baik pada lantai, meja maupun pada dinding. Persentase penurunan jumlah total bakteri paling besar terdapat pada konsentrasi ekstrak daun sirih 35% sedangkan penurunan paling kecil pada perlakuan konsentrasi ekstrak daun sirih merah 15 % (Tabel 1). Konsentrasi disinfektan sangat menentukan keberhasilan dalam proses sanitasi. Konsentrasi sangat erat kaitannya dengan sifat suatu disinfektan yaitu bersifat bakteristatik atau bakterisidal. Bakteristatik adalah kemampuan disinfektan menghambat pertumbuhan dan perkembangan bakteri sedangkan bakterisidal adalah bekerja mematikan bakteri tersebut (Drauch dkk., 2020). Efektivitas disinfektan terutama tergantung pada senyawa aktif yang dipilih, konsentrasinya dan kebersihan permukaan yang dioleskan (Featherstone dkk., 2010).

Rataan penurunan jumlah total bakteri pada konsentrasi 35% pada lantai, meja, dan dinding berturut-turut 52,40 %; 59,96 %; dan 61,77% (Tabel 1). Penurunan jumlah total bakteri pada dinding lebih tinggi daripada pada lantai. Hal ini diduga jumlah awal bakteri pada lantai lebih tinggi mengingat lantai merupakan bagian pada ruang penampungan susu yang intensitas kontak dengan pencemar, seperti kaki orang yang berlalu lalang di ruangan,

lebih tinggi dibandingkan bagian meja dan dinding. Dengan demikian jumlah awal bakteri pada bagian lantai lebih tinggi dibandingkan meja dan dinding.

Penurunan jumlah total bakteri ini menggambarkan adanya aktivitas antibakteri ekstrak daun sirih merah. Senyawa aktif yang bersifat antimikroorganisme pada daun sirih merah adalah senyawa fenolik antara lain flavonoid, fenol, tanin, dan saponin. Senyawa aktif ini secara efektif mampu mereduksi jumlah bakteri dalam suatu media melalui penghambatan pertumbuhannya (Agustin, 2005; Syafriana dan Rusyita, 2017; Marlina dkk., 2020). Selain itu juga beberapa referensi menyatakan bahwa senyawa aktif pada sirih merah berupa minyak atsiri mempunyai sifat sebagai antibakteri (Andayani dkk., 2014; Kartika dkk, 2018; Saraswati, 2018). Minyak atsiri yang terkandung dalam sirih merah bersifat bakteristatik pada bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi 25-100% (Rizkita dkk., 2017) dan dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan bakteri gram negative *Salmonella Thypi* (Soleha dkk., 2015).

Flavonoid adalah senyawa aktif yang bersifat antibakteri lainnya yang terkandung dalam daun sirih merah. Senyawa flavonoid efektif dalam menghambat perkembangan bakteri *Staphylococcus aureus* (Sujono dkk, 2019). Mekanisme kerja flavonoid sebagai

antibakteri menurut beberapa literatur adalah dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu system dalam membran sel bakteri, menghambat sintesis asam nukleat, menghambat fungsi membran sitoplasma, menghambat metabolisme energi, menghambat perlekatan dan pembentukan biofilm, menghambat porin pada membran sel (Xie dkk., 2015).

Air dapat mereduksi jumlah total bakteri pada permukaan lantai, meja, dan dinding. Pada penelitian ini air yang digunakan adalah air tanah yang diambil dengan cara penarikan menggunakan pompa listrik, kemudian diaplikasikan untuk mengelap permukaan lantai, meja, dan dinding ruang penampungan susu. Bakteri menempel pada permukaan lantai, meja, dan dinding bersama-sama dengan debu (Yonata dkk., 2020). Dengan terbilasnya debu oleh air pada permukaan suatu benda maka bakteri juga turut tereduksi, dengan demikian jumlah bakteri di atas permukaan lantai, meja dan dinding pun dapat menurun setelah pembersihan menggunakan air

(Tabel 1). Sebagai control, pada penelitian ini juga digunakan disinfektan kimia yang biasa digunakan pada proses sanitasi di ruang penyimpanan susu yakni disinfektan komersil yang mengandung senyawa aktif berupa sodium hypoclorit 1%. Sodium hypochlorite atau Natrium Hypochlorite mempunyai gugus kimia NaOCl sudah sejak lama digunakan sebagai antiseptic pada proses sanitasi di lingkungan pengolahan pangan. Senyawa ini bersifat bakterisidal pada konsentrasi tinggi, pada konsentrasi 1% sudah dapat membunuh bakteri (Widiastuti dkk., 2019). Hal ini yang menjelaskan capaian penurunan jumlah bakteri yang tinggi pada permukaan lantai, meja, dan dinding menggunakan larutan NaOCl 1%. Namun demikian, penggunaan disinfektan kimia dikhawatirkan meninggalkan residu yang akan mencemari produk susu. Lebih jauh lagi penggunaan disinfektan kimia yang dilakukan secara massif pada suatu lingkungan dapat menyebabkan pencemaran terhadap lingkungan sekitar yang berdampak pada timbulnya resistensi terhadap bakteri-bakteri tertentu.

Tabel 2. Rataan Zona Hambat Ekstrak Daun Sirih Merah terhadap Total Bakteri *in situ*

Perlakuan Ekstrak Daun Sirih Merah	Zona Hambat (mm)		
	Lantai	Meja	Dinding
Konsentrasi 15%	6,26 ± 3,98 ^a	6,75 ± 1,70 ^a	6,14 ± 2,10 ^a
Konsentrasi 25%	6,65 ± 2,42 ^a	9,15 ± 2,25 ^b	5,25 ± 1,80 ^a
Konsentrasi 35%	9,12 ± 2,68 ^b	10,65 ± 3,20 ^b	10,76 ± 2,25 ^b

Keterangan: angka yang berbeda ke arah baris menunjukkan signifikan ($P < 0,05$)

Pembentukan zona hambat pada media tumbuh bakteri merupakan salah satu parameter yang digunakan untuk mengetahui efektivitas disinfektan sebagai antimikroba. Konsentrasi ekstrak sirih daun merah yang semakin tinggi akan diikuti dengan terbentuknya zona hambat yang semakin lebar (Tabel 2). Diduga disebabkan karena semakin tingginya kandungan senyawa aktif yang bersifat antibakteri sejalan dengan meningkatnya konsentrasi larutan

disinfektan (Surjowardojo dkk., 2015). Zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi ekstrak daun sirih merah 35% lebih tinggi dibandingkan pada konsentrasi 15 % dan 25 % (Tabel 2). Merujuk kepada pengelompokan daya hambat bakteri (Davis dan Stout, 1971) maka pada penelitian ini ekstrak daun sirih merah mempunyai daya hambat pada bakteri asal lingkungan ruang penampungan susu berkisar pada kuat sampai sedang.

KESIMPULAN DAN SARAN

Ekstrak daun sirih merah (*Piper crotatum*) mampu menurunkan bakteri yang terdapat pada permukaan lantai, meja, dan dinding di ruang penampungan susu. Ektrak daun sirih merah konsentrasi 35% efektif digunakan sebagai disinfektan pada proses sanitasi di ruang penampungan susu.

DAFTAR PUSTAKA

Agustin, W. D. 2005. *Perbedaan Khasiat Antibakteri Bahan Irigasi Antara Hydrogen Peroksida 3% Dan Infusum Daun Sirih 20% Terhadap Bakteri Mix*. Dent. J, 38(1): 45-47.

Andayani, T., Y. Hendrawan, R. Yulianingsih. 2014. *Minyak Atsiri Daun Sirih Merah (Piper crotatum) sebagai Pengawet Alami pada Ikan Teri (Stolephorus indicus)*. Jurnal Bioproses Komoditas Tropis. 2(2): 123-130.

Centers for Disease Control and Preventio/CDC. 2016. *Disinfection and Sterilization: Introduction, Methods, Definition of Term*. National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Disease (NCEZID), Division of Healthcare Quality Promotion. U.S. Departement of Health & Human Servive. <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/introduction.html>

Davis dan Stout. 1971. *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Essay*. Journal of Microbiology. Vol 22 No 4.

Dudeja, P and A. Singh. 2017. *Food safety in large organized eating establishments in: Food Safety in the 21st Century*. P. 339-353. Academic

Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801773-9.00027-3>

Drauch, V., C. Ibesich, C. Volg, M. Hess, C. Hess. 2020. *In-Vitro testing of bacteristatic and bactericidal efficacy of commercial disinfectant against Salmonella Infantis reveals substantial differences between products and bacterial strains*. International Journal of Food Microbiology 328 (2020) 108660.

Featherstone, C.A., R. Reichel, L.C. Snow, R.H. Davies, K.H. Christiansen, J.J. Carrique-Mas, S.J. Evans. 2010. *Investigations of risk factors for Salmonella on fattening-turkey farms*. Epidem. Infect., 138 (2010) : 1427-1438.

Gustina, I., Agustin, dan Widiana, Rina. 2012. *Daya Hambat Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav) terhadap Pertumbuhan Bakteri Escheria coli dan Staphylococcus aureus*. Padang: Jurnal Sainstek. Vol. IV, No. 2: 141-144.

Huguenin, J.E and J. Colt. 2002. *Design and Operating Guide for Aquaculture Seawater Systems*. In: *Developments in Aquaculture and Fisheries Science*. 2nd Eds. Vol. 33 p. 183-192. [https://doi.org/10.1016/S0167-9309\(02\)80013-8](https://doi.org/10.1016/S0167-9309(02)80013-8)

Haryadi, R. B. E. 2010. *Daya Antibakteri Daun Sirih (Piper Betle) dan Daun Sirih Merah (Piper crocatum) terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Secara In Vitro Sebagai Materi Praktikum Mikrobiologi*. Tesis Pendidikan Biologi Program Pascasarjana Universitas Negeri Malang.

IBM. 2014. *SPSS Software*. IBM.com

- Kartika, E.P., Marchaban, Sudarsono. 2018. *Aktivitas Antibakteri Minyak Sirih Merah (Piper crotatum Ruiz & Pav.) Dalam Bentuk Sediaan Emulsi dan Mikroemulsi*. Majalah Farmaseutik 14(2): 79-86.
- Kushwaha, A dan G.B. P. Nagar. 2012. *Food Preservation and Storage : Classification of Food Based on Perishability*. <http://ecoursesonline.iasri.res.in/mod/page/view.php?id=19549>. Diakses 27 Agustus 2021.
- Lukman, D.W., R. R. Soejoedono. 2009. *Uji Sanitasi Dengan Metode RODAC Penuntun Praktikum Higiene Pangan Asal Ternak*. Bagian Kesehatan Masyarakat Veteriner. Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet. Fakultas Kedokteran Hewan. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Marlina, E.T., E. Harlia, Y.A. Hidayati, D.Z. Badruzzaman, W. Juanda. 2020. *Pengaruh Penggunaan Kulit Lidah Buaya sebagai Disinfektan Alami terhadap Daya Hambat di Ruang Penampungan Susu*. Jurnal Ilmu Ternak 20(2): 158-163. DOI: 10.24198/jit.v20i2.31798
- UHD. 2019. *Classification of Perishable Foods*. University of Houston Downtown. <https://www.uhd.edu/administration/environmental-health-safety/Pages/Classification-of-Perishable-Foods.aspx>. Diakses 27 Agustus 2021.
- Retno, S. dan Dewi. 2006. *Studi Efektivitas Sediaan Gel Antiseptik Tangan Ekstrak Daun Sirih : I. Studi Formulasi*, Laporan Penelitian, Fakultas Farmasi, Universitas Airlangga Surabaya.
- Rizkita, A.D., E. Cahyono, S. Mursiti. 2017. *Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Atsiri Hijau dan Merah terhadap Streptococcus mutans*. Indo. J. Chem. Sci. 6(3): 279-286.
- Soleha, T.U., N. Carolia, S.W. Kurniawan. 2015. *The inhibition test of red betel leaves (Piper crotatum) towards Staphylococcus aureus and Salmonella typhi*. J. Majoruty 4(5): 117-122.
- Saraswati, A. 2018. *Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Minyak Atsiri Sirih Hijau (Piper betle L.) dan Daun Sirih Merah (Piper crocatum Ruiz & Pav.) Berasal dari Kupang NTT*. Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. 7(2): 1640-1659.
- Syafriana, V. dan R. Rusyita. 2017. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (Piper crocatum) terhadap Pertumbuhan Propionibacterium acnes*. Sainstech Farma 10 (2): 9-11.
- Stefanny, G. 2010. *Mekanisme Daya Hambat Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (Piper Betle linn.) Dan Ekstrak Daun Sirih Merah (Piper Crocatum) Terhadap Pertumbuhan Candida Albicans*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya.
- Sujuno, H., S. Rizal, S. Purbaya, Jasmansyah. 2019. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Sirih Hijau (Piper betle L.) terhadap Bakteri Streptococcus pyogenes dan Staphylococcus aureus*. J. Kartika Kimia. 2(1):30-36. DOI: <https://doi.org/10.26874/jkk.v2i1.27>
- Surjowardojo, P., T.E. Susilorini, G.R.B. Sirait. 2015. *Daya Hambat Dekok*

- Kulit Apel Manalagi (Malus sylvestris Mill.) terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus dan Pseudomonas sp. Penyebab Mastitis pada Sapi Perah.* J. Ternak Tropika 16(2): 40-48.
- Soedibjo, M. 1991. *Alam Sumber Kesehatan Manfaat dan Penggunaan.* Balai Pustaka, Jakarta.
- Tao, M., T. Ao, X. Mao, X. Yan, R. Javed, W. Hou, Y. Wang, C. Sun, S. Lin, T. Yu, Q. Ao. 2021. *Sterilization and disinfection methods for decellularized matrix materials: Review, consideration and proposal.* *Bioactive Materials.* 6 (2021): 2927-2945. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.02.010>
- Van Asselt, A.J.; Te Giffel, M.C. 2009. *Hygienic practices in liquid milk dairies.* In *Market Milks—Processing and Quality Management*; Tamime, A.Y., Ed.; Blackwell Publishing: Oxford, UK; pp. 48–71.
- Volk, W. A dan M. F. Wheeler. 1990. *Mikrobiologi Dasar.* Terjemahan Adisoemarto. Edisi ke-5. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Widiatuti, D. I. F. Karima, E. Setiyani. 2019. *Efek Antibakteri Sodium Hypochlorite terhadap Staphylococcus aureus.* *Jurnal Ilmiah Kesehatan Masyarakat* 11(4): 295-302.
- Winiati, P. Rahayu. 2008. *Keamanan Pangan dan Peduli Kita Bersama.* Penebar Swadaya – IPB Press. Bogor.
- Xie, Y., W. Yang, F. Tang, X. Chen, L. Ren. 2015. *Antibacterial Activities of flavonoids: Structure-Activity Relationship and Mechanism.* *Current Medical Chemistry* 22(1): 132-149.
- Yonata, Q.U., I. Thohari, Marlik. 2020. *Faktor yang berhubungan dengan angka kuman udara di Rumah Sakit Soemitro Surabaya.* *Jurnal Penelitian Kesehatan Suara Forikes* 11 (3): 264-266.