

Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Destilat Jahe dan Sirih terhadap *Mycoplasma gallisepticum* dan *Escherichia coli*

(ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ETHANOL EXTRACT AND DESTILAT OF GINGERS AND PIPER BETLES AGAINST MYCOPLASMA GALLISEPTICUM AND ESCHERICHIA COLI)

Min Rahminiwati¹, Aulia Andi Mustika¹,
Agung Zaim², Lina Novianti Sutardi³

¹Bagian Farmakologi, Departement Anatomi Fisiologi dan Farmakologi,

³Departement Klinik Reproduksi Patologi,

Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor

²Pusat Studi Biofarmaka, IPB

Jln. Agatis, Kampus IPB, Dramaga, Bogor 16680

Telepon 02518629462, email : minrahminiwati@yahoo.com

ABSTRAK

Ekstrak sirih dan perasan jahe telah dilaporkan mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *M. gallisepticum*. Hasil fraksinasi menunjukkan perbedaan potensi antibakterinya yang terkait dengan sifat kepolaran pelarut. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak beberapa jenis sirih dan jahe sebagai antibakteri terhadap *E.coli* dan *M. gallisepticum*. Jenis sirih yang diteliti aktivitas antibakterinya dengan metode cakram adalah sirih hijau besar, sirih hitam, sirih merah, dan tiga jenis jahe yaitu jahe gajah, jahe merah, dan jahe emprit yang diekstraksi dengan cara sokletasi menggunakan pelarut etanol 30%, 60%, dan 96% dan destilasi selama tiga dan lima jam. Sirih hijau besar dan sirih merah konsisten mempunyai efek anti-*E.coli*, sedangkan jahe gajah konsisten mempunyai efek anti-*M. gallisepticum*, baik diekstrak dengan cara destilasi maupun sokletasi. Sirih hijau besar sangat potensial menghasilkan destilat dan ekstrak yang mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi masing masing terhadap *E.coli* dan *M. gallisepticum* dengan daya hambat terhadap masing masing bakteri adalah 9,76 dan 22 mm .

Kata-kata kunci: *Mycoplasma gallisepticum*, sirih, jahe, *Escherichia coli*

ABSTRACT

Betle and ginger juice extracts have been reported to have antibacterial activity against *E. coli* and *M. gallisepticum*. However, fractionation analysis showed the have differences in their antibacterial potency which appeared to be associated with the nature of the solvent polarity. This study was conducted to obtain information about antibacterial activity of *Piper betles* and gingers extract against *E. coli* and *M. gallisepticum*. Three types of betle, *P. betle*, *P. betle var nigra*, *P. crocatum*, were examined for their antibacterial activity using disc method and three types of ginger, *Zingiber officinale*, *Z. officinale Linn var rubrum*, and *Z. majus rumph* which were extracted by soxhletation using ethanol 30%, 60% and 90% as well as distillation for three and five hours. *Piper betle* and *P. crocatum* consistently have antibacterial effect against *E. coli* whereas *Z. officinale* consistently has antibacterial effect against *M. gallisepticum*, either extracted by distillation or soxhletation. *Piper betle* is potential yield of distillate and extract that has the highest antibacterial activity against *E. coli*, and *M. gallisepticum* with inhibitory zone were 9.76 mm and 22 mm respectively.

Keywords : *Mycoplasma gallisepticum*, *Piper betle*, ginger, *Escherichia coli*.

PENDAHULUAN

Mycoplasma gallisepticum (*M. gallisepticum*) dan *Escherichia coli* adalah mikro-organisme penyebab penyakit pernapasan kronik pada ayam yang dikenal dengan penyakit ngorok atau *Chronic Respiratory Disease* (CRD). Tingginya angka morbiditas dan mortalitas yang bisa mencapai 25% lebih dan buruknya angka *feed conversion ratio* (FCR) menyebabkan penyakit CRD mempunyai arti ekonomi yang penting dalam industri peternakan. Pentingnya penyakit CRD dalam industri peternakan unggas, ditunjukkan oleh data hasil penelitian Romindo tahun 2010. Dari sepuluh penyakit yang banyak menyerang unggas, CRD menduduki peringkat nomor satu, dengan kerugian ditaksir sekitar 305 milyar rupiah per tahunnya (Soeripto, 2001). Berbagai upaya pengendalian CRD dengan pemberian antibiotik yang termasuk golongan makrolide dan kuinolon (Nagwa *et al.*, 2013; Mavromati, 2011) telah banyak dilakukan. Akan tetapi, kejadian CRD masih terus mewabah (Soeripto, 2009; Vance *et al.*, 2008). Keadaan ini diperparah dengan meningkatnya kasus resistensi dan residu pada pangan asal ayam, sehingga penggunaan antibiotik mulai dibatasi (Purwadikarta dan Soeripto, 1990; Soeripto 1996). Informasi tentang bahaya resistensi dan residu antibiotik pada produk pangan khususnya daging ayam dan telur semakin penting seiring dengan meningkatnya kesadaran konsumen akan penyediaan bahan makanan yang aman, sehat, utuh, dan halal.

Tanaman merupakan sumber bahan baku obat yang potensial untuk digali potensinya sebagai anti-CRD yang aman. Rahminiawati *et al.* (2009; 2010) telah melaporkan potensi sambiloto, sirih, kencur, jahe, dan temulawak sebagai pelega saluran pernapasan, pengencer lendir, dan memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *M. gallisepticum*. Dari kelima tanaman tersebut sirih dan jahe adalah tanaman yang paling berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut sebagai anti-CRD.

Aktivitas antibakteri ekstrak jahe tergantung pada jenis jahe, suhu, dan lamanya ekstraksi (Chen *et al.*, 1985; Chrubasik *et al.*, 2005). Nursal (2006) menunjukkan bahwa ekstrak jahe yang diperoleh dengan cara sokletasi menggunakan pelarut etanol menghasilkan ekstrak anti-*E.coli*. Namun, hal yang sama tidak ditemukan dari perasan

segarnya (Rahminiawati *et al.*, 2010). Jahe sangat potensial dikembangkan sebagai anti-CRD terkait aktivitas farmakologinya sebagai antibakteri (Akoachere *et al.*, 2002), bronkodilator dan antiinflamasi, sementara ekstrak sirih potensinya cukup besar sebagai antibakteri terhadap agen penyebab penyakit CRD. Peneliti lain mengemukakan bahwa kandungan gingerol pada jahe sebagai senyawa yang diduga mempunyai peran penting sebagai antibakteri sangatlah labil (Chen *et al.*, 1985; Chrubasik *et al.*, 2005).

Jenis jahe yang diketahui sampai saat ini adalah jahe gajah (*Zingiber officinale*), jahe emprit (*Z. majus Rumph*) dan jahe merah (*Z. officinale Linn var rubrum*). Sementara ragam jenis sirih, seperti sirih hijau (*Piper betle*) sirih hitam (*P. betle var nigra*), dan sirih merah (*P. crocatum Ruiz dan Pav.*) juga mempunyai komposisi senyawa kimia yang beragam (Batubara *et al.*, 2011; Jolad *et al.*, 2004). Potensi jahe emprit dan jahe merah, sirih merah dan sirih hitam sebagai anti-CRD belum banyak dilaporkan.

Aktivitas antibakteri sirih hijau cukup luas, meliputi bakteri *M. gallisepticum* dan *E. coli* (Rahminiawati *et al.*, 2009; Marliyana, 2013), sedangkan aktivitas antibakteri jahe dan temulawak hanya dilaporkan terhadap *M. gallisepticum* saja. Fraksi yang berpotensi sebagai anti-*M. gallisepticum* adalah fraksi heksan, kloroform, etil asetat, dan air. Aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* terlihat pada ekstrak sirih dan fraksinya di antaranya fraksi heksan, chloroform, dan etil asetat. Berdasarkan hal tersebut bahan berkhasiat antibakteri diduga dapat larut dalam pelarut polar, semi polar, dan non polar. Etanol merupakan pelarut polar yang bisa menarik senyawa senyawa yang bersifat polar. Dengan demikian etanol dapat dipakai untuk menarik bahan berkhasiat anti-CRD dari sirih dan jahe.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh informasi mengenai potensi tiga jenis sirih dan jahe sebagai antibakteri terhadap *M. gallisepticum* dan *E. coli* serta membandingkan potensi antibakteri ekstrak yang diperoleh dengan cara sokletasi dan destilasi terhadap *M. gallisepticum* dan *E. coli*.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sirih hijau besar, sirih hitam, sirih

merah, jahe gajah, jahe merah, dan jahe emprit. Bahan-bahan tersebut diperoleh dari sekitar Bogor. Bahan lain seperti etanol 96% teknis, *nutrient agar* untuk biakan *E. coli*, dan media *broth* Frey untuk *M. gallisepticum* dipersiapkan untuk penelitian ini.

Prosedur untuk Memperoleh Destilat

Daun sirih mulai nomor tiga dari pucuk ke bawah dipetik pada pagi hari, kemudian dicuci dengan air mengalir dan ditiriskan. Setelah dipotong potong dengan ukuran 3x4 cm, 200 g sirih segar dimasukkan kedalam alat destilasi yang berisi 2 L aquadestilata. Destilasi dilakukan selama empat dan lima jam menggunakan kompor listrik sebagai alat pemanas. Pemanas diatur pada temperatur yang setara dengan daya listrik 600 watt. Destilat yang diperoleh dimasukkan ke dalam botol gelas kedap cahaya, kemudian ditutup *aluminium foil* dan disimpan dalam *freezer* sampai dilakukannya pengujian antibakteri.

Jahe diperoleh dari Kebun Biofarmaka, di Kampung Cikabayan, Bogor. Setelah dicuci bersih dan ditiriskan, jahe diparut kemudian didestilasi dan disokletasi dengan cara yang sama dengan cara yang dilakukan pada sirih.

Prosedur Sokletasi

Sokletasi dilakukan terhadap 50 g rajangan sirih atau parutan jahe menggunakan pelarut etanol 30%, 60%, dan 96% dengan nisbah bobot jahe pelarut adalah 1:10. Sokletasi dilakukan selama empat jam. Sokletasi dilakukan sebanyak tujuh kali, semua hasilnya disatukan dan disimpan dalam eksikator untuk pemeriksaan efek antibakteri selanjutnya. Prosedur sokletasi dan destilasi mengacu pada Harborne (1987).

Aktivitas Antibakteri

Bahan yang diperlukan dalam hal ini meliputi *Nutrient Agar* (NA) untuk biakan *E. coli*, medium *broth* Frey untuk *M. gallisepticum*, dan media penyubur yang terdiri dari serum babi (diinaktifkan pada suhu 56°C selama 30 menit), ekstrak ragi (Difco), DNA (Koch Light), dan amoksisilin (Beecham PI). Untuk mencegah kontaminasi cendawan, medium diberi aktidion (Up John). Potensi antibakteri destilat diuji pada konsentrasi 100% masing masing sebanyak 15 µL, sedangkan untuk ekstrak yang diperoleh dari poses sokletasi diuji pada konsentrasi 20%. Sebagai pembanding digunakan antibiotik oksitetrasiklin yang

berspektrum luas.

Medium *broth* Frey disterilkan pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian didinginkan. Setelah suhunya mencapai 50°C, medium penyubur dimasukan kedalam medium Frey. Aktivitas antimikrob destilat dan ekstrak terhadap *M. gallisepticum* dan *E. coli* dievaluasi berdasarkan ada tidaknya zona bening di sekitar cakram yang dikembangkan oleh Kirby Bauer (Capucino, 2001). Medium *M. gallisepticum* sebanyak 20 mL dimasukan ke dalam cawan petri yang telah disterilisasi dengan *autoclave*. Bakteri *M. gallisepticum* (konsentrasi 10⁷) sebanyak 1 mL diinokulasikan pada permukaan media yang telah memadat, kemudian dua buah cakram kertas saring yang sudah mengandung ekstrak (sesuai kelompok perlakuan, masing-masing) sebanyak 25 µL diletakan di atasnya. Media diinkubasi pada suhu 37°C dalam inkubator kedap udara. Pengamatan terhadap pertumbuhan *M. gallisepticum* dalam media dilakukan pada jam ke-24 setelah inkubasi untuk memantau adanya kontaminan dan pada jam ke-72 pascainkubasi untuk mengamati dan mengukur zona hambat terhadap pertumbuhan *M. gallisepticum*. Zona hambat merupakan selisih antara diameter zona bening dengan diameter zona cakram. Cara yang sama dilakukan untuk uji sensitivitas *E. coli* terhadap ekstrak dan destilat.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi dan destilasi menghasilkan jumlah ekstrak dan destilat yang bervariasi seperti disajikan pada Tabel 1. Jumlah destilat yang diperoleh dari hasil destilasi rajangan sirih dan parutan jahe menunjukkan adanya pengaruh waktu. Semakin lama poses destilasi dilakukan, jumlah sampel yang diperoleh semakin banyak. Proses sokletasi secara umum menghasilkan ekstrak yang jumlahnya paralel dengan peningkatan konsentrasi pelarut. Sementara itu jumlah destilat jahe emprit yang dihasilkan cenderung menjadi lebih rendah dengan meningkatnya konsentrasi pelarut, sedangkan jumlah rendemen jahe merah yang diperoleh tidak sejalan dengan peningkatan konsentrasi pelarut.

Jumlah destilat terbanyak diperoleh dari proses destilasi sirih merah dan jahe gajah selama lima jam (Tabel 1). Jumlah ekstrak tertinggi diperoleh dari proses sokletasi jahe merah menggunakan pelarut etanol 60% dan

Tabel 1. Bobot sirih dan jahe yang diperoleh dengan cara destilasi dan sokletasi

Jenis sampel	Destilasi (g)		Sokletasi (g) etanol		
	4 jam	5 jam	30%	60%	96%
Sirih hijau besar	50	225	3,40	2,31	3,59
Sirih hitam	130	215	2,75	3,20	3,66
Sirih merah	120	250	3,22	4,31	5,38
Jahe gajah	200	210	2,48	2,43	3,07
Jahe merah	180	220	1,49	0,09	3,15
Jahe emprit	180	192	2,97	2,34	1,52

jahe gajah menggunakan pelarut etanol 96%.

Aktivitas antibakteri destilat dan ekstrak disajikan pada Tabel 2. Dari ke enam destilat hanya destilat sirih merah dan sirih hijau yang dapat membunuh *E. coli*. Aktivitas antibakteri tertinggi terdapat pada destilat lima jam sirih hijau besar dengan zona hambat sekitar 9,78 mm dan terendah terdapat pada destilat sirih merah empat jam yakni 6,26 mm. Hasil yang diperoleh masih berada di bawah oksitetrasiklin sebagai kontrol positif. Destilat empat dan lima jam jahe emprit dan jahe merah tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*. Lamanya destilasi memengaruhi ragam, jenis dan banyaknya senyawa kimia yang tertarik sehingga dapat memengaruhi aktivitas antibakterinya.

Berbeda dengan destilat, aktivitas anti-*E. coli* terdapat pada semua ekstrak hasil sokletasi. Ekstrak jahe emprit yang diperoleh dengan cara sokletasi menggunakan etanol 30% mempunyai aktivitas antibakteri tertinggi diikuti etanol 60% sirih hitam, dan 96% etanol jahe merah. Diameter zona hambat masing masing ekstrak adalah 0,84; 0,80 mm; dan 0,77 mm. Aktivitas terkecil terdapat pada jahe gajah yang ditarik

dengan pelarut etanol 60%.

Untuk mengetahui sensitivitas *E. coli* terhadap destilat maka dilakukan penentuan konsentrasi hambat minimal (KHM) dari destilat yang menghasilkan efek tertinggi yaitu destilat lima jam sirih hijau besar dan sirih merah (Tabel 3).

Berdasarkan KHM, potensi antibakteri, destilat sirih merah tidak berbeda dengan destilat sirih hijau besar yaitu 10%. Nilai KHM yang diperoleh dari penelitian ini lebih besar dibandingkan dengan nilai KHM yang diperoleh Juliantina *et al.* (2009) dan Marliyana *et al.* (2013) sebesar 1%. Namun, Marliyana *et al.* (2013) meneliti KHM sirih merah berupa minyak atsirinya dan Juliantina *et al.* (2009) meneliti ekstrak hasil maserasi menggunakan pelarut etanol 90%.

Destilasi dan sokletasi menghasilkan destilat dan ekstrak yang potensinya sebagai antibakteri terhadap *M. gallisepticum* beragam. Jahe gajah merupakan satu-satunya tanaman jahe-jahean yang menghasilkan destilat anti-*M. gallisepticum*. Lamanya proses destilasi tidak memberikan pengaruh terhadap potensinya. Selain destilat, ekstrak jahe gajah hasil sokletasi

Tabel 2. Diameter zona bening aktivitas antimikroba ekstrak terhadap *E. coli* (mm)

Jenis Sampel	Destilasi		Sokletasi (g) etanol		
	4 jam	5 jam	30%	60%	96%
Sirih Hijau Besar	7,60	9,78	0,28	0,49	0,32
Sirih Hitam	0,00	0,00	0,54	0,80	0,24
Sirih Merah	6,26	7,20	0,24	0,36	0,38
Jahe Gajah	0,00	0,00	0,25	0,13	0,23
Jahe Merah	0,00	0,00	0,76	0,36	0,77
Jahe Emprit	0,00	0,00	0,84	0,14	0,45
Oksitetrasiklin (30 ug)	12,21				

Tabel 3. Konsentrasi hambat minimal (KHM) sirih merah dan sirih hijau besar

Destilat 5 jam Sirih				Kontrol				Konsentrasi (ppm)
merah		Hijau besar		positif		negatif		
√	√	√	√	√	√	-	-	200.000
√	√	√	-	√	√	-	-	100.000
-	-	-	-	√	√	-	-	50.000
-	-	-	-	√	√	-	-	25.000
-	-	-	-	√	√	-	-	12.500
-	-	-	-	√	√	-	-	6.250
-	-	-	-	√	√	-	-	3.125

Tabel 4. Diameter zona bening aktivitas antimikrob ekstrak terhadap *M. gallisepticum* (mm)

Jenis Sampel	Destilasi (mL)		Sokletasi (g) (etanol)		
	4 jam	5 jam	30%	60%	96 %
Sirih hijau besar	0	0	22	22	22
Sirih hitam	0	0	-	-	-
Sirih merah	0	0	-	15	11
Jahe gajah	8	8	9	9	-
Jahe merah	0	0	-	-	-
Jahe emprit	0	0	-	-	-
Oksitetrasiklin (30 ug)	12,7		-	-	-

juga efektif membunuh *M. gallisepticum*.

Aktivitas *anti-M. gallisepticum* terbaik terdapat pada hasil sokletasi sirih hijau besar pada semua konsentrasi pelarut dan terendah terdapat pada hasil sokletasi menggunakan etanol 60%. Berdasarkan zona bening yang terbentuk sekitar cakram, daya antibakteri ekstrak lebih baik dibandingkan dengan oksitetrasiklin.

Tanaman sirih dan jahe yang diekstraksi dengan kedua cara tersebut, menghasilkan ekstrak dengan kecenderungan efek antibakteri yang berbeda. Jahe gajah konsisten menghasilkan bahan berkhasiat *anti-M. gallisepticum*, sedangkan sirih hijau besar konsisten menghasilkan bahan berkhasiat *anti-E. coli*. Dari kedua cara ekstraksi tersebut hanya cara sokletasi terhadap semua jenis sirih dan jahe yang menghasilkan bahan berkhasiat antibakteri terhadap CRD.

Proses sokletasi menunjukkan bahwa semua tanaman mengandung senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri baik terhadap *E*

coli maupun *M. gallisepticum*. Namun, tidak semua bahan berkhasiat dapat ditarik melalui proses destilasi seperti yang diperoleh dari proses sokletasi. Proses sokletasi dapat menarik bahan berkhasiat dari semua tanaman yang diperiksa namun potensi antibakteri terhadap *E. coli* untuk sirih hijau besar dan sirih merah lebih kecil dibandingkan dengan potensi bahan berkhasiat yang dihasilkan dari proses destilasi. Hal sebaliknya terjadi untuk antibakteri terhadap *Mycoplasma*. Proses sokletasi menghasilkan ekstrak yang lebih baik dibandingkan dengan hasil destilasi.

Jahe dan sirih merupakan tanaman yang potensial sebagai antibakteri, baik terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif (Chrubasik, 2005; Juliantina *et al.*, 2009; Nalina dan Rahim, 2006). Namun, beberapa penelitian melaporkan aktivitas antibakterinya tergantung pada cara ekstraksi bahan berkhasiatnya. Cara perasan, destilasi maupun sokletasi menghasilkan ekstrak dengan aktivitas antibakteri yang beragam (Chrubasik, 2005; Rahminiwati *et al.*,

2010; Nursal *et al.*, 2006). Selain itu jenis sirih yang berbeda dapat menghasilkan minyak atsiri dengan komposisi senyawa kimia yang berbeda pula.

Sirih mengandung minyak atsiri senyawa alkoholik dan senyawa fenolik seperti *kavibetol*, *4-alil-1,2-diasetoksibenzen*, *fenol*, *2-metoksi-4-(1-propanil)-4asetat* (Hetiani dan Purwantini, 2002). Perbedaan antara sirih hijau dan sirih merah terletak pada ada tidaknya *champhen*, *chavicol*, dan *eugenol*. Ketiga senyawa tersebut hanya terdapat pada destilat sirih hijau (Batubara *et al.*, 2011).

Jahe mengandung *gingerols* dan *zingiberen* yang termasuk dalam golongan minyak atsiri turunan fenol (Natta *et al.*, 2008). Pada suhu yang tinggi *gingerol* diubah menjadi *shogaol*. Perbedaan suhu juga mengubah aktivitas antibakteri *gingerol* terhadap bakteri patogen (Park *et al.*, 2008)

Minyak atsiri yang aktif sebagai antibakteri pada umumnya mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH) dan karbonil. Fenol berinteraksi dengan sel bakteri melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen (Juliantina *et al.*, 2009). Pada kadar yang rendah, fenol berinteraksi dengan protein membentuk kompleks protein fenol. Ikatan antara protein dan fenol adalah ikatan yang lemah dan segera mengalami peruraian. Fenol yang bebas, akan berpenetrasi ke dalam sel, menyebabkan presipitasi dan denaturasi protein. Pada kadar tinggi fenol menyebabkan koagulasi protein sehingga membran sel mengalami lisis. Minyak atsiri dapat mengganggu proses pembentukan membran atau dinding sel bakteri, sehingga dinding sel tidak terbentuk atau terbentuk tidak sempurna.

SIMPULAN

Sirih dan jahe berpotensi sebagai anti-CRD dan potensinya tergantung kepada jenis sirih, jenis jahe, dan cara ekstraksinya. Jenis sirih yang paling berpotensi sebagai anti-*M. gallisepticum* adalah sirih hijau besar yang diperoleh dengan cara sokletasi. Anti-*E. coli* terbaik adalah jahe emprit yang dihasilkan dengan sokletasi menggunakan etanol. Tanaman yang berpotensi optimal sebagai anti-CRD adalah sirih hijau besar.

SARAN

Untuk memperoleh informasi mengenai aktivitas antibakteri yang bermanfaat secara klinis adalah dengan melakukan uji tantangan pada ayam secara eksperimen dibuat menderita CRD, atau pada ayam penderita CRD di lapangan

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dirjen Dikti yang telah membiayai penelitian ini melalui skema penelitian Program Unggulan Institusi (PUI) desentralisasi tahun 2014-2015. Lembaga Penelitian dan Pengabdian pada Masyarakat IPB, civitas akademika Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB, dan Balai Besar Penelitian Veteriner Bogor atas fasilitas dan bantuannya dalam pelaksanaan penelitian ini

DAFTAR PUSTAKA

- Akoachere, Ndip RN, Chenwi NLM, Njock TE dan Anong DN. 2002. Antibacterial effect of *zingiber officinale* and *garcinia kola* on respiratory track pathogens. *East African Medical Journal* 79 (11): 588-592.
- Batubara I, Rahminiawati M, Darusman, KD, Mitsunaga, T. 2011 Tyrosinase activity of paper betle and paper crotum essential oil. Dalam: *Proceeding of The International Conference on Basic Science*. Hlm. 50-51.
- Capucinno JG, Sherman N. 2001. *Microbiology: A Laboratory Manual*. 6th ed. San Fransisco. Benjamin Cummings.
- Chen HC, Chang MD, Chang TJ. 1985. Antibacterial properties of some spice plants before and after heat treatment. *Za Zhi* 18: 190-195.
- Chrubasik S, Pittler MH, Roufogalis BD. 2005. *Zingiberis rhizoma*: a comprehensive review on the ginger effect and efficacy profiles. *Phytomedicine* 12(9): 684-701.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Ed

- ke 3. Bandung. ITB Press.
- Hertiani T, Purwantini I. 2002. Minyak atsiri hasil destilasi ekstrak etanol daun sirih (*piper betle* l.) dari beberapa daerah di yogyakarta dan aktivitas antijamur terhadap *candida albicans*. *Majalah Farmasi Indonesia* 13(4): 193-199.
- Juliantina F, Citra DA, Nirwani B, Nurmasitoh T, Bowo ET. 2009. Manfaat sirih merah (*piper crocatum*) sebagai agen anti bacterial terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Indonesia* 6(2): 23-27.
- Jolad SD, Lantz RC, Solyom AM, Chen GJ, Bates RB, Timmermann BN. 2004. Fresh organically grown ginger (*Zingiber officinale*): Composition and effects on LPS-induced PGE2 production. *Phytochemistry* 65: 1937-1954.
- Kleven SH. 1990. Summary of discussions of avian mycoplasma team. *Avian Pathology* 19: 795-800.
- Marliyana SD, Handayani, N, Ngaisaha S, Setyowatia EN. 2013. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) (antibacterial activity of the essential oils *Piper crocatum* Ruiz & Pav. Leaves) *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia* 9(2): 233-240.
- Mavromati J, Mavromati E, Gjeta Z. 2011. The effect of a macrolid antibiotic on the ontrol of mycoplasmas and production efficiency in broilers. *Biotechnology in Animal Husbandry* 27 (3): 721-731.
- Nagwa SA, Riham HH, Elnaga ASMA, Zaki MS. 2013. Avian Mycoplasmosis. *Life Science Journal* 10(2): 1014-1017.
- Nalina L, Rahim ZHA. 2006. Effect of Piper betle L. Leaf extract on the virulence activity of *Streptococcus mutans*-an in vitro study. *Pakistan Journal of Biology Science* 9(8): 1470-1475.
- Natta L, Orapin K, Krittika N, Pantip B. 2008. Essential oil from five zingiberaceae for anti food-borne bacteria. *International Food Research Journal* 15(3):337-346.
- Nursal, Wulandari S, Juwita WS. 2006. bioaktif ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *J Biogenesis* 2(2): 64-66.
- OIE. 2007. Quarterly Epidemiology Report. October-Desember 2007 (Asian and pacific region). Published by the OIE the Regional Representation for Asia and the Pacific in Collaboration with the Secretariat of the Pacific Community. Sanseido BLDG.
- Park M, Bae J, Lee DS. 2008. Antibacterial activity of [10]- gingerol and [12]-gingerol isolated from ginger rhizome against periodontal bacteria. *Phytotherapy Research* 22(11): 1446-1449.
- Poerwadikarta MB, Soeripto. 1990. Penggunaan Media Cair Untuk Menguji Kepekaan Kuman *Mycoplasma gallisepticum* Isolat Lokal Terhadap Beberapa Antibiotika. *Penyakit Hewan* 22(40): 80-84.
- Rahminiwati M, Mustika AA, Saadiah S, Andriyanto, Unang P. 2010. Bioprospektif Ekstrak Jahe gajah sebagai Anti-CRD: Kajian aktivitas antibakteri terhadap *Mycoplasma galliseptikum* dan *E. coli* in vitro. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia* 15(1): 7-13
- Soeripto. 2009. Chronic respiratory diseases pada ayam. *Wartazoa* 19(3): 134-142.
- Soeripto. 1996. Resistance pattern of microbial agents in the livestock production. *Indonesian Agricultural Research and Development Journal* 18: 77-85.
- Soeripto. 2001. CRD Tidak Main-Main. *Infovet* 82: 43- 45.
- Sulianti SB, Chairul. 2002 Perbandingan komponen kimia penyusun minyak atsiri sirih liar (*piper ornatum*) yang berasal dari Sulawesi Selatan dan Pulau Seram dengan sirih biasa (*Piper betle*) 2002. *Berita Biologi* 6(3): 493-499.
- Vance AS, Branton S, Collier P, Peebles GE. 2008. Effect of prelay ts11-strain *Mycoplasma gallisepticum* inoculation and time specific f-strain mycoplasma gallisepticum inoculation overlays on internal egg and eggshell characteristics of commercial laying hens. *Poultry Science* 87: 1358-1363.