

The effect of Lemongrass (*Cymbopogon nardus*) Extract in inhibiting Bread Fungal Growth, *Aspergillus Oyizae* Using a combination of N-Hexane-Ethanol Solvent

Priyo Hartanto¹, Prapti Sedijani^{1,*}, Lalu Zulkifli¹, Miko Erniarti²

¹Biology Study Program, Faculty of Teacher Training and Education, University of Mataram, Indonesia

²Civil Engineering Study Program, Faculty of Engineering, University of Mataram, Indonesia

Article History

Received : February 08th, 2022

Revised : February 25th, 2022

Accepted : March 27th, 2022

*Corresponding Author:

Prapti Sedijani,

Biology Study Program,
Faculty of Teacher Training and
Education, University of
Mataram, Indonesia ;

Email:

praptisedijani@unram.ac.id

Abstract: The purpose of this study was to determine the effect of lemongrass extract (*Cymbopogon nardus*) in inhibiting the growth of the bread fungus *Aspergillus oryzae* by using a combination of lemongrass extract with n-hexane as a solvent. This type of research is experimental research. The population in this study were all types of mushrooms isolated from bread. The sample used was the fungus *Aspergillus oryzae* isolated from bread. Lemongrass extraction was carried out by maceration method with n-hexane and ethanol as solvents separately, followed by mixing the two extracts with a combination of n-hexane extract: ethanol extract respectively as follows: 1:1; 2:1 and 1:2 before evaporation. The inhibition test of lemongrass extract against the fungus *Aspergillus oryzae* was carried out by growing the fungus on PDA media which had been supplemented with lemongrass extract with a concentration of 0.6%; 0.8% and 1%. Data were analyzed using the ANOVA test at a significance level of 95%, followed by the Honest Significant Difference (BNJ) test. The results showed that the combination of n-hexane extract-ethanol extract 1:1 and 1:2 showed low inhibition at all concentrations tested, while the combination 1:2 with 1% lemongrass extract concentration was the best combination in inhibiting the growth of the fungus *Aspergillus oryzae* (1/4 control mycelium colony diameter) and showed 74% inhibitory activity (strong inhibitory category). From the research, it was concluded that lemongrass extract using a combination of ethanol solvents, N-Hexane extract - ethanol extract with a 1:2 combination applied with a concentration of 1% inhibited the growth of the fungus *Aspergillus oryzae* in the category of strong inhibition, with an inhibitory activity of 74%.

Keywords: *Aspergillus oryzae*, Inhibitory Activity, Inhibitory Power, Lemongrass Extract, N-Hexane-Ethanol.

Pendahuluan

Posisi roti mulai menggeser nasi sebagai sumber karbohidrat utama. Namun kelemahan dari roti yaitu mudah rusak (Astawan, 2005). Kerusakan roti disebabkan kandungan karbohidrat (pati) yang tinggi (60 g) dan Activity Water (Aw) yang cocok yaitu pada 0,95-0,98 untuk pertumbuhan mikroorganisme terutama kapang. Beberapa kapang yang dapat tumbuh pada roti antara lain *Aspergillus sp.*, *Penicillium sp.*, *Mucor sp.*, dan *Rhizopus stolonifer*. Kapang adalah

mikroba yang terdiri lebih dari satu sel berupa benang-benang halus yang disebut *hifa*, kumpulan *hifa* disebut *miselium* yang berkembang biak dengan spora atau membelah diri (Badan Standar Nasional, 2009).

Pengolahan roti menggunakan bahan pengawet sintetis dalam menangani permasalahan jamur pada roti seperti natrium dan calcium propionate dan asam ascorbate (Britanica) asam asetat, sorbet dan propionate, dimana bahan pengawet ini dapat menyebabkan permasalahan dalam penggunaan jangka panjang terhadap

kesehatan manusia (Anonim, 2008). Pengawet sintetis dapat menimbulkan efek negatif bagi kesehatan, seperti memicu pertumbuhan sel kanker akibat senyawa karsinogenik dalam pengawet (Ratnani, 2009). Oleh sebab itu, perlu dilakukan penambahan pengawet alami sebagai alternatif untuk mempertahankan mutu dan masa simpan roti. Beberapa pengawet alami yang dapat dijadikan alternatif yaitu biji picung, paprika, lada, kitosan, asap cair, wijen, biji pala, lengkuas, minyak atsiri, jintan, kulit kayu manis, cengkeh, kayu purut dan ekstrak jahe merah (Ratnani, 2009).

Salah satu alternatif yang dapat digunakan sebagai pengawet alami yaitu sereh (*Cymbopogon nardus*). Sereh memiliki banyak kandungan kimia bermanfaat antara lain saponin, flavonoid, polifenol, alkaloid, dan minyak atsiri yang didalamnya terdapat citral, citronelal, geraniol, mirsena, nerol, farsenol, metilheptenon, dipentena, eugenol metil eter, kadinen, kadinol, serta limonene (Khasanah et al., 2010). Berbagai kandungan senyawa aktif tersebut, mengindikasikan sereh memiliki aktivitas antibakteri yang cukup besar (Jafari et al., 2012).

Mekanisme kerja minyak atsiri sebagai antimikroba adalah menghambat atau mematikan pertumbuhan mikroba dengan mengganggu proses terbentuknya dinding sel, sehingga dinding sel mikroorganisme tidak terbentuk atau terbentuk tetapi tidak sempurna (Ajizah, 2004). Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat sehingga dapat menurunkan tegangan permukaan sel yang akan mengakibatkan kerusakan dengan naiknya permeabilitas atau kebocoran dinding sel. Flavonoid bekerja dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri (Karak, 2019).

Senyawa yang berasal dari ekstraksi suatu tanaman, dapat diperoleh dengan cara melarutkannya menggunakan pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama atau hampir sama dengan kepolaran dari senyawa yang dimiliki tanaman tersebut. Senyawa yang bersifat polar akan larut pada pelarut yang bersifat polar atau semi polar, sedangkan senyawa yang bersifat non polar akan cenderung larut pada pelarut yang bersifat non polar. Dalam hal ini digunakan kombinasi pelarut n-heksana-etanol. Pelarut n-heksana termasuk pelarut nonpolar, sedangkan etanol termasuk pelarut polar.

Sereh yang mengandung berbagai component active tersebut dan telah diuraikan di atas mengenai sifat antimicrobialnya baik terhadap bakteri, yeast maupun fungi (maka artikel ini menguraikan tentang pengaruh ekstrak sereh (*Cymbopogon nardus*) dalam menghambat pertumbuhan jamur roti *Aspergillus oryzae* dengan menggunakan kombinasi pelarut n-heksana-etanol).

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan selama 6 bulan, di laboratorium Biologi FKIP Unram dan Laboratorium Kimia FKIP Unram.

Variable bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak sereh yang diekstrak menggunakan pelarut N-Hexan dikombinasikan dengan ekstrak sereh yang diekstrak menggunakan ethanol.

Variabel terikat

Variable yang terpengaruh adalah pertumbuhan jamur pada medium yang ditambahkan ekstrak sereh pada masing-masing perlakuan.

Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan adalah sereh yang diambil dari pasar lokal (Kebonroek) dengan memilih sereh yang masih segar, hanya digunakan batang semu sereh tanpa daun. Sedangkan pelarut N-Hexan ethanol diperoleh dari laboratorium Kimia FKIP Unram, sedang ethanol yang digunakan adalah ethanol teknis yang dibeli dari toko bahan kimia setempat.

Prosedur penelitian

Penyiapan bahan

Prosedur penelitian ini diawali dengan tahap persiapan bahan, bahan yang akan digunakan adalah sereh (*Cymbopogon nardus*). Sereh terlebih dahulu dipotong-potong, kemudian dijemur hingga kering dan terakhir diblender hingga halus. Tujuan dari pengecilan ukuran adalah untuk memperluas

permukaan bahan dan untuk mengurangi kandungan air yang terdapat didalam sereh.

Maserasi

Setelah melewati tahap persiapan bahan, selanjutnya adalah tahap maserasi. Serai sebanyak 50gr dalam 800 ml pelarut n-heksana dan etanol secara terpisah dimaserasi selama 3 hari. Selanjutnya masing-masing extract hasil dari macerasi dicampur dengan perbandingan n-heksana extract-etanol extract 1:1, 2:1 dan 1:2. Setelah itu, masing-masing kombinasi tersebut dievaporasi untuk mendapatkan hasil ekstrak kental dari sereh.

Uji aktivitas ekstrak sereh

Pada tahap pengujian, media PDA (Potato Dextro Agar) sebanyak 2mL dicampur dengan ekstrak 2 ml pada masing-masing kombinasi larutan dan dituangkan ke cawan petri dengan konsentrasi ekstrak 0,6%; 0,8% dan 1%. Tahap selanjutnya yaitu meletakkan jamur *Aspergillus oryzae* tepat pada bagian tengah media PDA dengan menggunakan jarum ose. Inkubasi selama 7 hari.

pengamatan

Pengamatan dilakukan dengan mengukur diameter koloni miselium jamur yang tumbuh dengan rumus:

$$d = \frac{D1+D2}{2}$$

Keterangan:

d : Rata-rata diameter pertumbuhan miselium (mm)

D1 : Diameter pertumbuhan miselium 1 (mm)

D2: Diameter pertumbuhan miselium 2 (mm)

aktivitas penghambatannya dengan menggunakan rumus:

$$P = \frac{a - b}{a} \times 100\%$$

Keterangan:

P: Aktivitas penghambatan (%)

a: Diameter pertumbuhan miselium jamur kontrol (mm)

b: Diameter pertumbuhan miselium jamur perlakuan (mm)

Analisis data.

Analisis data dilakukan dengan menggunakan uji Two Way Anova setelah uji homogenitas dan uji normalitas data. Apabila terdapat beda nyata pada analisis anova, dilakukan uji lanjut dengan uji Beda Nyata Jujur (BNJ).

Hasil dan Pembahasan

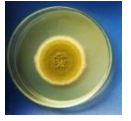

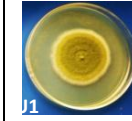



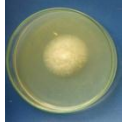
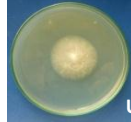
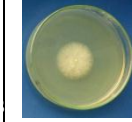
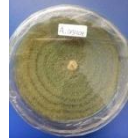
Hasil yang diperoleh dari uji ekstrak sereh terhadap diameter pertumbuhan koloni miselium jamur *A. oryzae* dengan berbagai kombinasi didapatkan hasil yang berbeda-beda, selengkapnya gambar disajikan pada Gambar 1-3. Gambar 1 menunjukkan bahwa ekstrak sereh dari kombinasi larutan n-heksana-etanol 1:1 dan 2:1 menghasilkan diameter yang hampir sama. Sedangkan pada kombinasi larutan n-heksana ekstrak-etanol ekstrak dengan perbandingan 1:2 menunjukkan diameter pertumbuhan koloni miselium terkecil. Artinya kombinasi larutan tersebut memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan kombinasi yang lain.

Tabel 1. Kategori Aktivitas Penghambatan terhadap Pertumbuhan Jamur (Mori et al., 1997)

No	Aktivitas penghambatan	Tingkat aktivitas
1	P > 75 %	Sangat kuat
2	50 % < P ≤ 75 %	Kuat
3	25 % < P ≤ 50 %	Sedang
4	0 % < P ≤ 25 %	Lemah
5	0	Tidak aktif

Keterangan: P = Persentase aktivitas penghambatan

Perlakuan dengan kombinasi n-heksana ekstrak-etanol ekstrak 1:1 dan 2:1 pada semua perlakuan konsentrasi memiliki daya hambat yang rendah. Sedangkan kombinasi larutan n-heksana ekstrak: larutan etanol ekstrak 1:2 menunjukkan daya penghambatan yang signifikan dalam kategori kuat. Demikian juga dengan persentase uji aktivitas hambatnya, pada kombinasi tersebut ekstrak sereh menunjukkan aktivitas masing-masing sebesar sebesar 68,9%; 69,1% dan 74,1% pada konsentrasi perlakuan 0,6%; 0,8% dan 1% secara berurutan.

Kombinasi N-Heksana-Etanol	Konsentrasi Ekstrak Sereh (%)		
	0,6	0,8	1
1:1			
2:1			
1:2			
Kontrol			

Gambar 1. Pertumbuhan koloni miselium jamur *Aspergillus oryzae* dengan konsentrasi ekstrak sereh 0,6%, 0,8% dan 1%. U: Ulangan ke-

Beberapa mekanisme senyawa antifungi dalam menghambat pertumbuhan jamur yaitu dengan cara menetralkan enzim yang terkait dalam kolonisasi jamur, merusak membran semipermeabel jamur, menghambat sintesis enzim, sintesis asam nukleat dan protein (Djunaedy, 2008). Hal ini sesuai dengan yang disampaikan Nurhayati et al (2007) bahwa aktivitas antifungi dapat merusak membran dan krista mitokondria, yang menyebabkan terjadinya penurunan pengambilan O_2 , hal ini mengakibatkan berkurangnya energi ATP yang dihasilkan untuk proses pertumbuhan dan perkembangan sel. Senyawa lain yang aktif bekerja dalam menghambat pertumbuhan miselium jamur adalah steroid. Senyawa steroid dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur. Hal inilah yang menyebabkan miselium jamur tidak dapat terbentuk sehingga mengakibatkan pertumbuhan jamur *A. oryzae* terhambat, ditandai dengan kecilnya nilai diameter koloni miselium yang terbentuk

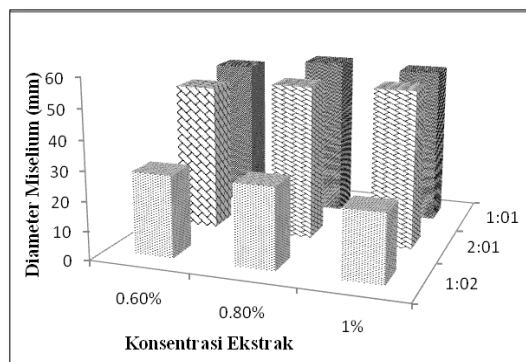
Zat antimikrobal fungistatik bersifat menghambat kerja enzim tertentu yang mengakibatkan terganggunya metabolisme sel fungi, sehingga proses pemanjangan hifa/miselium fungi menjadi terhambat. Jika pertumbuhan sel

fungi yang ditandai dengan pemanjangan hifa/miselium terhambat, maka fragmentasi hifa pun menjadi terganggu sehingga dapat dikatakan bahwa sel fungi tidak dapat berkembangbiak. Hifa/miselium yang tidak dapat mengalami fragmentasi disebabkan oleh rusaknya jaringan hifa dari selnya mengakibatkan sel fungi pada saat bersamaan menjadi peka dan rentan terhadap perubahan lingkungan, sehingga sel fungi mudah mati. Pina Vaz et al (2004) mengidentifikasi bahwa minyak atsiri dapat menyebabkan perubahan pada morfologi hifa. Hifa menjadi rusak, terpelintir, dan struktur permukaan berubah. Dalam beberapa kasus, minyak atsiri mampu merusak membran sel.

Chami et al (2003) menginformasikan bahwa hasil pengamatan minyak atsiri yang memiliki karakter antijamur tersebut dapat diformulasikan dan diaplikasikan untuk menggantikan fungisida sintetik.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa kombinasi n-heksan ekstrak – ethanol ekstrak dengan perbandingan 1:2 pada konsentrasi 0.6 - 1% menunjukkan penghambatan yang kuat atau mempunyai aktivitas dengan kategori kuat. Diameter koloni miselium jamur terkecil ditunjukkan pada konsentrasi ekstrak sereh 1% sebesar 23 mm pada kombinasi (**Gambar 2**)

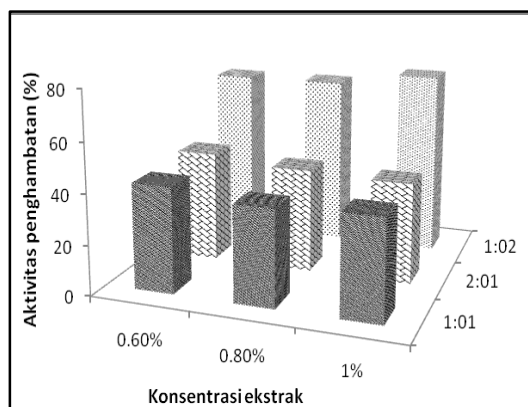
dengan aktivitas penghambatan jamur terbesar yakni sebesar 74,1% termasuk kategori kuat (**Gambar 3**).



Ket: ■ 1:02 ▨ 2:01 ▩ 1:01

Gambar 2. Pertumbuhan diameter koloni miselium jamur *A. oryzae* pada konsentrasi ekstrak sereh (0,6%; 0,8% dan 1%) dengan kombinasi larutan n-heksana-etanol 1:1; 2:1 dan 1:2.

Terhambatnya pertumbuhan koloni jamur akibat peran senyawa polar dan nonpolar yang terkandung dalam sereh, senyawa polar menjadikan bagian membran sel sebagai target utama dalam menghambat perkembangan jamur. Senyawa polar yang terkandung didalam sereh diantaranya adalah saponin, flavonoid, geraniol dan sitronelol (Khasanah et al., 2010).



Ket: ■ 1:01 ▨ 2:01 ▩ 1:02

Gambar 3. Nilai aktivitas penghambatan jamur *A. oryzae* pada konsentrasi ekstrak sereh (0,6%; 0,8% dan 1%) dengan kombinasi larutan n-heksana ekstrak - etanol ekstrak 1:1; 2:1 dan 1:2.

Mekanisme kerja saponin sebagai antifungi yaitu menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau

kebocoran sel dan menyebabkan senyawa intraseluler akan keluar (Karak, 2019). Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan fungi adalah membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan flavonoid merupakan zat yang mudah terlarut sehingga dapat merusak membran sel fungi serta diikuti keluarnya senyawa intraseluler (Kumar dan Pandey, 2013). Senyawa geraniol dapat mengganggu permeabilitas membran sel (Agrawal, 2011) dan menghambat biosintesis ergosterol (Pulungan, 2017). Sedangkan senyawa sitronelol dapat menghambat enzim H⁺-ATPase (Nazzaro et al., 2017). Menurut (Yulvianti et al., 2014) bahwa kandungan senyawa yang paling banyak pada sereh berdasarkan hasil analisa GC-MS adalah geraniol (57,8%) dan sitronelol (19,2) pada campuran pelarut n-heksana-etanol 2:3.

Senyawa yang bersifat nonpolar menjadikan dinding sel jamur menjadi target utama dalam menghambat pertumbuhan dan perkembangan sel jamur. Senyawa nonpolar yang terkandung didalam sereh diantaranya adalah tannin, sitronelal, naphthalene dan cyclotetracosane (Ojewumi et al., 2017). Mekanisme kerja tannin sebagai antifungi yaitu merusak komponen utama penyusun dinding sel yang terdiri dari kitin, glukukan dan lipid sehingga dapat menghambat pertumbuhan fungi, sedangkan sitronelal dapat menghambat perkembangan jamur yaitu dengan mengganggu ergosterol pada membran sel yang berfungsi sebagai pertumbuhan sel dan permeabilitas sel (Rad et al., 2017), mengganggu permeabilitas membrane dan menghambat enzim H⁺-ATPase (Nazzaro et al., 2017). Menurut (Yulvianti et al., 2014) kadar sitronelal pada sereh berdasarkan hasil analisa GC-MS sebanyak 5,1% pada campuran pelarut n-heksana-etanol 2:3. Sedangkan naphthalene dan cyclotetracosane juga mampu menghambat pertumbuhan miselium jamur.

Dalam penelitian ini, ditunjukkan dari besaran koloni dan data histogram bahwa kombinasi antara N-Hexan ekstrak dengan ethanol ekstrak sereh menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus Orizae* dengan tingkat penghambatan yang berbeda tergantung dari rasio antara 2 ekstrak sereh yang diekstrak dengan pelarut yang berbeda. Tingkat penghambatan terbesar diantara perlakuan diatas adalah rasio 1:2 N-Hexan sktrak: ethanol skstrak sereh.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa: 1) Semua konsentrasi ekstrak sereh (*C. nardus*) dan kombinasi pelarut n-heksana-etanol dapat menghambat pertumbuhan koloni miselium jamur roti *Aspergillus oryzae*. 2) Aktivitas penghambatan dari ekstrak sereh (*C. nardus*) 1% pada kombinasi 1:2 larutan ekstrak dalam n-heksan-larutan ekstrak dalam etanol merupakan perlakuan dengan nilai aktivitas tertinggi dengan persentase hambat sebesar 74,07%.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan kepada Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mataram. Terima kasih juga kami ucapkan kepada laboran dan pihak – pihak yang telah mendukung penelitian ini hingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

Referensi

Agrawal, A.D. (2011). Pharmacological Activities of Flavonoid: A Review, In S. Sureshdada (ed.). *International Journal of Pharmaceutical and Nanotechnology*. 4(2): 1394-1397.

Ajizah, Aulia. (2004). Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium guajava* L. *Journal Bioscientiae*. 1(1): 31-38.

Astawan, I. M. (2005). Kandungan Serat dan Gizi pada Roti Unggul, Mie dan Nasi. Departemen Teknologi Pangan dan Gizi IPB: Bogor.

Badan Standarisasi Nasional (2009). Batas Maksimum Cemaran Mikroba dalam Pangan SNI No. 7388-2009. Jakarta.

Chami, F., Chami, N., Bennis, S., Bouchikhi, T., & Remmal, A. (2003). Oregano and Clove Essential Oils Induce Surface Alteration of *Saccharomyces cerevisiae*. <http://www3.interscience.wiley.com/cgi-bin/abstract/111080150/ABSTRACT> CRETRY=1&SRETRY=0 Diakses 15 Januari 2020.

Djunaedy, A. (2008). Aplikasi Fungisida Sistemik dan Pemanfaatan Mikoriza dalam Rangka

Pengendalian Patogen Tular Tanah pada Tanaman Kedelai (*Glycine max* L.). *Embryo*. 5(2): 1-9.

Jafari, Behboud, Ebadi, Amirreza, Aghdam, Babak Mohammadi., dan Hassanzade, Zarifeh (2012). Antibacteria Activities of Lemon Grass Methanol Extract and Essence and Pathogenic Bacteria. *American-Eurasian J. Agric and Environ. sci*. 12(8) : 1042 – 1046.

Karak, Prithviraj (2019). Chemistry and biological activities of flavonoids: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 10(4): 1567-1574.

Khasanah, Retno Atun., Budiyanto, Eko, & Nenny, Widiani (2010). Pemanfaatan Ekstrak Sereh sebagai Alternatif Anti Bakteri *Staphylococcus epidermidis* pada Deodoran Parfume Spray. *Jurnal Universitas Negeri Yogyakarta*. 2-3.

Kumar, Shashank, & Pandey, Abhay K. (2013). Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview, In K.P. Lu., dan J. Sastre (eds.). *The Scientific World Journal*, 1-16. Mesir: Hindawi Publishing Corporation.

Mori, M., Aoyama, M., Doi, S., Kanetoshi, A and Hayashi, T. (1997). Antifungal activity of bark extract of deciduous trees. *Holz als Roh und Werkstoff* 55: 130–132.

Nazzaro, Fillomena, Fratianni, Florinda, Coppola, Raffaele, & Feo, Vincenzo De. (2017). Essential Oils and Antifungal Activity. *Pharmaceutical*, 1-20. Switzerland: MDPI.

Nurhayati, I., Ammi, S., & Yanti, H. (2007). Aktivitas Antifungi Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val) terhadap Pertumbuhan Jamur *Alternaria porri* Ellis secara In Vitro. *Makalah*. Pendidikan Biologi FPMIPA UPI.

Ojewumi, M.E., Banjo, M.G., Oresgun, M.O., Ogunbiyi, T.A., Ayoola, A.A., Awolu, O.O., & Ojewumi, E.O. (2017). Analytical Investigation of The Extract of Lemon Grass Leaves in Repelling Mosquito. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 8(5): 2048-2055.

Pina-Vaz, C., Gonçalves, Rodrigues A., Pinto, S., Costade-Oliveira, S., Tavares, C., Salgueiro, L., Cavaleiro, C., Gonçalves, M.J., ... & Martinez-de-Oliveira, J. (2004). Antifungal Activity of Thymus Oils and Their Major

- Compounds. *Dermatol Venereol.* 18(1):73-78.
- Pulungan, Ahmad Shafwan S. (2017). Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kunyit (*Curcuma longa* linn.) Terhadap Jamur *Candida albicans*. *BioLink.* 3(2): 120-124.
- Rad, Javad Sharifi., Sureda, Antoni., Tenore, Gian Carlo., Daglia, Maria., Rad, Mehdi Sharifi., Tundis, Rosa., Rad, Marzieh Sharifi., Loizzo, Monica R., Ademiluyi, Adedayo Oluwaseun., Rad, Razieh Sharifi., Ayatollahi, Seyed Abdul Seyed., ... & Iriti, Mercello (2017). Biological Activities of Essential Oils: From Plant Chemoecology to Traditional Healing Systems, In D.J. McPhee (ed.). *Molecules*, 1-40. Switzerland: MDPI.
- Ratnani, R.D. (2009). Bahaya Bahan Tambahan Makanan Bagi Kesehatan. *Jurnal Momentum.* 5(1): 16–22.
- Yulvianti, Mery, Sari, Rosianah Media., & Amaliah, Efa Rujatul (2014). Pengaruh Perbandingan Campuran Pelarut N-Heksana- Etanol Terhadap Kandungan Sitronelal Hasil Ekstraksi Sereh (*Cymbopogon nardus*). *Jurnal Integrasi Proses.* 5(1): 8-14.
- Regulation (EC) No 1333/2008 of the European Parliament and of the Council of 16 December 2008 on Food Additives. Available online: <http://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/ALL/?uri=CELEX%3A32008R1333> (accessed on 30 June 2022).