

Pengaruh Pemanasan Pada Proses Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn) terhadap Aktivitas Antimikroba

Dini Kurnia Wisatya^a, Purbowatiningrum Ria Sarjono^{a*}, Nies Suci Mulyani^a

^a Biochemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang 50275

* Corresponding author: pubowatining@live.undip.ac.id

Article Info	Abstract
<p>Keywords: Antimicrobial, <i>Garcinia mangostana</i>, Paper Discs, KHM</p>	<p>A study on the effect of heating on the production process of mangosteen peel extract (<i>Garcinia mangostana</i> Linn) on antimicrobial activity has been conducted. A heating method was used on the production process of mangosteen peel extract whereas a paper disc method and dry weight method were used in antimicrobial test. Microbes tested were <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Candida albicans</i> yeast and <i>Aspergillus niger</i> fungi. Paper disc method was used to identify antimicrobial activity in <i>Escherichia coli</i> bacteria, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Candida albicans</i> yeast, though the dry weight method was used to recognize antimicrobial activity of <i>Aspergillus niger</i> fungus. Minimum Inhibitory Concentration on paper disc method for bacterial microbe <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Candida albicans</i> yeast were 5% (w/v), with average inhibit zone of 0.043 cm², 0.018 cm², 0,013 cm² respectively. While at <i>Aspergillus niger</i> fungi at concentration 0,5% (w/v) with dry weight of 0.06 gram.</p>
<p>Kata kunci: Antimikroba, <i>Garcinia mangostana</i>, Cakram Kertas, KHM</p>	<p>Abstrak</p> <p>Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh pemanasan pada proses pembuatan ekstrak kulit buah manggis (<i>Garcinia mangostana</i> Linn) terhadap aktivitas antimikroba. Metode yang digunakan adalah metode pemanasan pada proses pembuatan ekstrak kulit buah manggis sedangkan metode cakram kertas dan metode berat kering digunakan pada uji antimikroba. Mikroba yang diuji menggunakan, bakteri <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, khamir <i>Candida albicans</i>, dan jamur <i>Aspergillus niger</i>. Metode cakram kertas untuk mengidentifikasi aktivitas antimikroba pada bakteri <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, khamir <i>Candida albicans</i>, sedangkan metode berat kering digunakan untuk identifikasi aktivitas antimikroba dari jamur <i>Aspergillus niger</i>. Konsentrasi Hambat Minimum pada metode cakram kertas pada mikroba bakteri <i>Escherichia coli</i>, <i>Staphylococcus aureus</i>, khamir <i>Candida albicans</i> yaitu 5 % (w/v), dengan rata-rata luas zona hambat masing-masing 0,043 cm², 0,018 cm², 0,013 cm². Sedangkan pada jamur <i>Aspergillus niger</i> pada konsentrasi 0,5% (w/v), dengan berat kering 0,06 gram.</p>

1. Pendahuluan

Manggis (*Garcinia mangostana* L) merupakan pohon yang berasal dari hutan tropis yang teduh di kawasan Asia Tenggara, yaitu hutan belantara Malaysia dan Indonesia. Buah manggis panen pada bulan November hingga bulan Maret, setiap panen manggis dapat

menghasilkan buah hingga 20 ton atau 200.000 buah (untuk lahan 1 hektar). Kulit buah manggis merupakan komponen terbesar dari buah manggis sebesar 60,82% dari berat buah utuh, sedangkan daging buahnya sendiri hanya 35,51% dari buah utuhnya [1]. Manggis mempunyai berat buah utuh rata-rata 107,37 gram,

sehingga 1 buah manggis mempunyai berat kulit buah rata-rata sebesar 65,52 gram.

Banyak kulit buah manggis yang terbuang sia-sia setiap panen dan akan menjadi sampah, sedangkan manfaat dari kulit buah manggis sangat banyak, diantaranya dapat dijadikan sebagai pewarna alami dan bahan baku obat-obatan yang dibuat dalam bentuk kapsul untuk suplemen diet, antioksidan [2], antikanker [3], bahan pembuat kosmetik [4], mencegah terjadinya artritis dan alzheimer (merupakan salah satu penyakit disfungsi otak) yang disebabkan oleh peradangan, selain itu juga antioksidannya bahkan melebihi vitamin C dan E serta antifungi [5].

Penelitian lain yang telah dilakukan yaitu terhadap ekstrak kulit buah manggis dengan pelarut n-heksan dan etil asetat ternyata mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella flexneri*, *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli*. Dengan Konsentrasi hambat minimum (KHM) isolat mangostin berturut-turut 4, 6, 4 mg [6].

Dalam penelitian ini digunakan mikroba berupa; Bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Khamir *Candida albicans*, Fungi *Aspergillus niger*. Digunakan mikroba tersebut karena mikroba diatas merupakan mikroba patogen, yang dapat merusak ataupun dapat menyebabkan penyakit baik bagi makhluk hidup.

Untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa sebagai pengawet maka perlu dilakukan pengujian antimikroba terhadap bahan alam tersebut dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme pembusuk, dengan menggunakan metode yang paling umum yaitu metode cakram kertas dan metode perforasi [7] dan juga metode berat kering, selain itu juga dilakukan uji fitokimia.

Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn) terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Khamir *Candida albicans*, dan Fungi *Aspergillus niger* dengan menggunakan metode cakram kertas dan metode perforasi dan berat kering.

2. Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah inkubator (*Memmert*), penggaris, mikropipet, *shaker*, autoklaf klinis (*prestide medical series 2100*), cawan petri, sentrifuge, jarum ose, alumunium foil, lemari es, *speeder*, kapas, botol semprot, blender (*Panalux*), neraca analitik (*Kern 870*), kain saring, oven, gelas beaker, erlenmeyer, pengaduk, kompor listrik, gelas ukur (*pyrex*)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit buah manggis, bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Khamir *Candida albicans*, dan Fungi *Aspergillus niger*, Nutrient Broth (NB), Nutrient Agar (NA), Saboraud Dextrose Agar (SDA), Saboraud

Dextrose Broth (SDB), Ekstrak Tauge, Spirtus, Alkohol 70% dan akuades.

Pembuatan Ekstrak

Variasi Suhu

Kulit buah manggis (bagian lunak) diblender hingga menjadi serbuk basah, dari serbuk dilarutkan dengan menggunakan air dengan perbandingan 2:1 (serbuk kulit manggis:air), dan dipanaskan pada suhu 37°C selama 5 menit. Setelah 5 menit dilakukan penyaringan.

Perlakuan ini dilakukan pada variasi suhu 40; 45; 50; 55; 60; 65; 70; 75; 80; 85; 90; 95 (°C). Dari hasil perlakuan ini selanjutnya dilakukan uji antimikroba untuk menghasilkan data suhu optimum yang akan digunakan pada pembuatan ekstrak dengan variasi konsentrasi.

Variasi Konsentrasi

Kulit buah manggis (bagian lunak) diblender hingga menjadi serbuk basah, dari serbuk diambil W gram (pada tabel di bawah) yang selanjutnya ditambahkan air sebanyak 10 mL, dan dipanaskan pada suhu optimum selama 5 menit. Setelah 5 menit dilakukan penyaringan. Perlakuan ini dilakukan pada variasi konsentrasi sesuai tabel 1 berikut:

Tabel 1. Kondisi perlakuan

Variasi Konsentrasi (%)	Berat (W) (gram)	Volume (V) (mL)
0,1	0,01	10 mL
0,5	0,05	10 mL
1	0,1	10 mL
2,5	0,25	10 mL
5	0,5	10 mL
10	1	10 mL
20	2	10 mL
40	4	10 mL
50	5	10mL
60	6	10 mL
80	8	10 mL

Dari hasil percobaan ini selanjutnya akan dilakukan uji antimikroba untuk menghasilkan konsentrasi hambat minimum.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Erlenmeyer, penjepit, *petri dish*, media NB, media NA, dan seluruh alat yang akan digunakan disterilisasi di dalam *autoklaf*, selama 20 menit dengan tekanan sebesar 1 atm dan suhu 121°C setelah sebelumnya dicuci bersih, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas [7].

Regenerasi Bakteri

Dari biakan stok agar miring diambil satu mata ose bakteri *Escherichia coli* diinokulasikan ke erlenmeyer yang berisi kurang lebih 100 mL media *Nutrien Broth* (NB) steril. Inokulum *Escherichia coli* diinkubasi di dalam inkubasi bergoyang (*shaker*) selama 24 jam pada suhu

ruang [8]. Dari hasil regenerasi ini akan diperoleh *E. coli* dengan umur yang lebih muda dan mempunyai keaktifan yang baik. Perlakuan yang sama pada bakteri *Staphylococcus aureus*

Regenerasi Khamir

Dari biakan stok agar miring diambil satu mata ose khamir *Candida albicans* diinokulasikan ke erlenmeyer yang berisi kurang lebih 100 mL media SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*) steril. Inokulum *Candida albicans* diinkubasi di dalam inkubasi bergoyang (*shaker*) selama 24 jam pada suhu ruang [8, 9]. Dari hasil regenerasi ini akan diperoleh Khamir *Candida albicans* dengan umur yang lebih muda dan mempunyai keaktifan yang baik.

Regenerasi Jamur

Dari biakan stok agar miring diambil satu mata ose jamur *Aspergillus niger* diinokulasikan ke erlenmeyer yang berisi kurang lebih 100 mL media tauge steril. Inokulum *Aspergillus niger* diinkubasi di dalam inkubasi bergoyang (*shaker*) selama 72 jam pada suhu ruang [10]. Dari hasil regenerasi ini akan diperoleh Jamur *A. niger* dengan umur yang lebih muda dan mempunyai keaktifan yang baik.

Pengujian Antimikroba dengan Metode Cakram Kertas dengan Variasi Suhu

Hasil ekstrak pada tahap pembuatan ekstrak variasi suhu, diuji pada suspensi bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan khamir *Candida albicans*, dengan cara, cawan petri yang berisi media *Nutrient Agar* yang telah disterilkan dan memadat masing - masing diinokulasikan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans* sebanyak 50 μ L dan diratakan menggunakan *spreader*. Pada permukaan masing-masing inokulum tersebut diletakkan cakram kertas berdiameter \pm 6 mm yang telah dilewatkan di atas lampu Bunsen (aseptik), yang dicelupkan dalam larutan ekstrak kulit buah manggis dengan pemanasan 37°C pada masing-masing inokulum. Inokulum tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang berbentuk di sekeliling cakram diukur menggunakan penggaris [11, 12].

Perlakuan tersebut di atas juga dilakukan pada pemanasan pada suhu 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 (°C). Dari hasil diatas diperoleh suhu optimum dengan metode cakram kertas yang digunakan sebagai acuan dalam tahap selanjutnya.

Pengujian Antimikroba dengan Metode Cakram Kertas dengan Variasi Konsentrasi

Hasil ekstrak pada tahap pembuatan ekstrak variasi konsentrasi, diuji pada suspensi bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan khamir *Candida albicans*, dengan cara; cawan petri yang berisi media *Nutrient Agar* yang telah disterilkan dan memadat, masing-masing diinokulasikan *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans* sebanyak 50 μ L dan diratakan menggunakan *spreader*. Pada permukaan masing-masing inokulum tersebut diletakkan cakram kertas berdiameter \pm 6 mm yang telah dilewatkan di atas lampu Bunsen (aseptik), yang dicelupkan dalam larutan

ekstrak kulit buah manggis pada konsentrasi 80% pada masing-masing inokulum. Inokulum tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Zona bening yang berbentuk di sekeliling cakram diukur menggunakan penggaris [11, 12].

Perlakuan tersebut di atas juga dilakukan pemanasan pada konsentrasi 60; 40; 50; 20; 10; 5; 2,5; 1; 0,5; 0,1 (%) (w/v).

Pengujian Antimikroba dengan Metode Berat Kering dengan Variasi Suhu

Hasil regenerasi jamur *A. niger* sebanyak 50 μ L diinokulasikan pada media ekstrak tauge 100mL steril, dari inokulum tersebut ditambahkan ekstrak kulit buah manggis sebanyak 50 μ L suhu 37°C (hasil ekstrak pada tahap pembuatan ekstrak variasi suhu), kemudian dilakukan inkubasi bergoyang (*Shaker*) selama 72 jam, pada suhu ruang. Hasil *shaker* disaring menggunakan kertas saring, dan dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 100°C hingga mencapai berat kering yang stabil, sehingga dihasilkan berat dari jamur *Aspergillus niger*.

Perlakuan tersebut diatas juga dilakukan pemanasan pada suhu 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75, 80, 85, 90 (°C).

Pengujian Antimikroba dengan Metode Berat Kering dengan Variasi Konsentrasi

Hasil regenerasi jamur *A. niger* sebanyak 50 μ L diinokulasikan pada media ekstrak tauge 100mL steril, dari inokulum tersebut ditambahkan ekstrak kulit buah manggis sebanyak 50 μ L dengan konsentrasi 80% (hasil ekstrak pada tahap pembuatan ekstrak variasi konsentrasi), kemudian dilakukan inkubasi bergoyang (*Shaker*) selama 72 jam, pada suhu ruang. Hasil *shaker* disaring dilakukan penyaringan menggunakan kertas saring, dan dilakukan pengeringan menggunakan oven pada suhu 100°C hingga mencapai berat kering yang stabil, sehingga dihasilkan berat dari jamur *Aspergillus niger*.

Perlakuan tersebut diatas juga dilakukan pada variasi konsentrasi 60; 40; 50; 20; 10; 5; 2,5; 1; 0,5; 0,1 (%) (w/v).

3. Hasil dan Pembahasan

Pada penelitian antimikroba ini, sampel yang digunakan adalah kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* Linn). Tujuan dari penelitian ini untuk memperoleh Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak kulit buah manggis, dengan menggunakan mikroba uji bakteri *E. coli*, *S. aureus*, dan khamir *C. albicans*, Jamur *A. niger*, yang merupakan mikroba patogen. Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil pada masing-masing tahap, sebagai berikut;

Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* Linn)

Pada proses pembuatan ekstrak kulit buah manggis digunakan kulit manggis bagian dalam (lunak), bagian yang mengandung banyak zat aktif [2] dan air sebagai

pelarut, karena air tidak mempunyai kemampuan antimikroba, selain itu pelarut air paling banyak digunakan, aman, murah dan mudah didapat, serta dapat juga diaplikasikan dalam skala rumah tangga.

Dalam pembuatan ekstrak kulit buah manggis dilakukan dengan pemanasan, fungsi dari pemanasan untuk mendapatkan senyawa aktif yang terdapat dalam kulit buah manggis, karena dengan pemanasan jaringan sel pada kulit manggis akan merenggang, akibatnya semakin banyak pula isi sel yang ke luar (termasuk metabolit sekunder). Jika suhunya terlalu tinggi, senyawa aktif yang keluar dari sela-sela sel akan rusak.

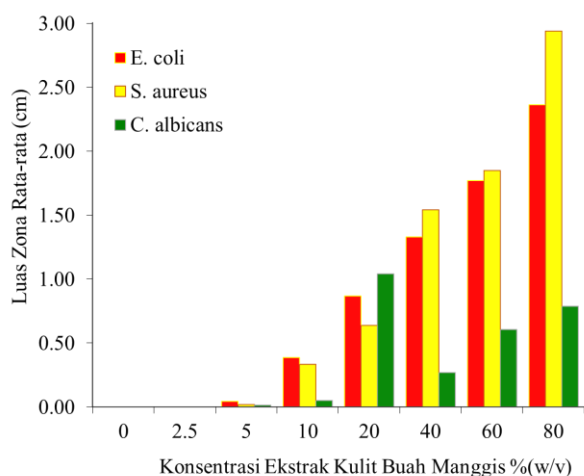
Pemanasan ekstrak kulit buah manggis dilakukan pada variasi suhu 37°C–95°C, yang selanjutnya akan dilakukan uji antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, khamir *Candida albicans*, jamur *Aspergillus niger*, untuk menghasilkan kondisi optimum dalam melakukan pemanasan pada ekstraksi kulit buah manggis.

Uji Pengaruh Pemanasan Ekstrak terhadap aktivitas antibakteri

Hasil dari penelitian ini yang menunjukkan aktivitas terbesar pada ekstrak kulit buah manggis dengan variasi suhu, yaitu pada suhu 70°C, sehingga suhu yang digunakan dalam variasi konsentrasi pada suhu 70°C. Dari hasil uji antimikroba terhadap variasi suhu dihasilkan luas zona hambat pada suhu 70°C dari bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Khamir *Candida albicans*, berturut-turut 1,84cm², 4,41cm², 0,79cm² sedangkan pada Jamur *A. niger* mempunyai selisih berat kering sebesar 0,02 gram.

Uji Antimikroba pada Ekstrak Kulit Buah Manggis dengan Variasi Konsentrasi

Ekstrak kulit buah manggis, disiapkan dengan melakukan pemanasan pada suhu 70°C dengan variasi konsentrasi 0,1%–80% (w/v). Metode yang digunakan adalah metode cakram kertas (untuk antibakteri dan antikhamir) dan berat kering (antijamur).

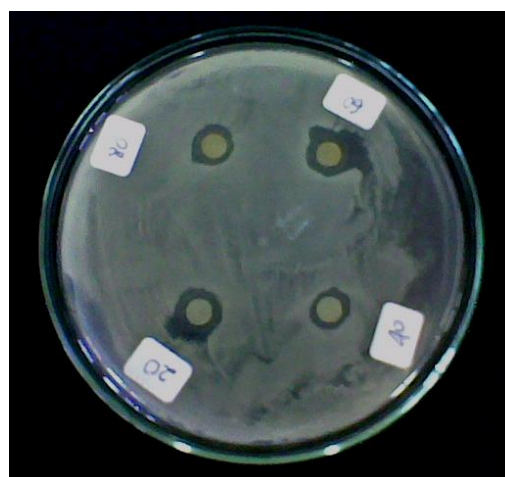


Gambar 1. Grafik hubungan antara konsentrasi ekstrak kulit buah manggis dengan luas zona hambat dengan metode cakram kertas

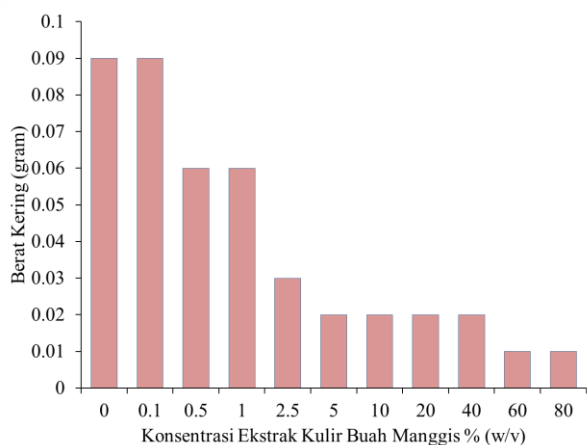
Berdasarkan gambar 1 dapat diamati pada bakteri *E. coli*, *S. aureus*, menunjukkan grafik eksponensial yang

artinya semakin besar konsentrasi maka daerah hambatnya semakin besar, karena semakin besar konsentrasi maka senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak akan semakin banyak [8]. Namun pada khamir *C. albicans*, menunjukkan adanya hasil yang berbeda, yaitu pada konsentrasi 40% mengalami penurunan luas daerah hambat dibandingkan pada konsentrasi 20%, hal ini dapat terjadi karena pada volume yang sama, konsentrasi 20% mempunyai kepekatan yang lebih kecil dibandingkan dengan kepekatan dikonsentrasi 40%–80%, sehingga pergerakan cairan akan semakin cepat, berkurangnya kepekatan maka kecepatan alir suatu cairan akan semakin besar, tetapi dalam waktu inkubasi 24 jam pada konsentrasi 20% sudah tidak aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba uji, yang ditunjukkan pada gambar 1I pada konsentrasi 20% mempunyai zona hambat yang besar, tetapi dengan inkubasi 24 jam di tengah zona hambat ditumbuhi mikroba uji (*Candida albicans*), yang menandakan dalam waktu 24 jam pada konsentrasi tersebut tidak efektif lagi dalam penghambatan mikroba. Pada konsentrasi 40%–80% mempunyai zona hambat yang kecil, tetapi dengan inkubasi 24 jam masih aktif dalam menghambat pertumbuhan mikroba, yang ditunjukkan pada zona hambat konsentrasi 40%–80% masih bening,

Sedangkan pada jamur *Aspergillus niger* daerah hambatannya diperoleh dari pengurangan berat kering *Aspergillus niger*, semakin kecil berat kering *Aspergillus niger* maka semakin besar hambatannya. Dari hasil penelitian menunjukkan semakin besar konsentrasi semakin besar pula hambatannya, hal ini ditunjukkan dengan berkurangnya berat kering *Aspergillus niger*.



Gambar 2. Zona hambat khamir *C. albicans* konsentrasi 20% – 80% metode cakram kertas



Gambar 3. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak kulit buah manggis dengan berat kering pada metode berat kering

Penentuan Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM)

Setelah di peroleh data penghambatan ekstrak kulit buah manggis terhadap pertumbuhan mikroba, maka selanjutnya dapat ditentukan nilai KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) ekstrak kulit buah manggis terhadap pertumbuhan mikroba. KHM ditentukan untuk arahan mengawetkan atau menghambat pertumbuhan mikroba. Penentuan KHM ini dilakukan dengan cara menentukan konsentrasi terendah ekstrak kulit buah manggis yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba [12]. Sesuai gambar 1, KHM ekstrak kulit buah manggis dengan menggunakan metode cakram kertas terhadap mikroba bakteri *E. coli*, *S. aureus*, khamir *C. albicans*, adalah 5%, dengan rata-rata luas zona hambat masing-masing 0,043 cm², 0,018 cm², 0,013 cm². Sedangkan pada jamur *Aspergillus niger* pada konsentrasi 0,5% (w/v), dengan berat kering 0,06 gram.

4. Kesimpulan

Suhu pemanasan optimum pada proses pembuatan ekstrak yaitu suhu 70°C, berdasarkan hasil zona hambat terbesar. Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak kulit buah manggis terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, khamir *Candida albicans*, dengan metode cakram kertas yaitu 5% (w/v), pada jamur *Aspergillus niger* 0,5% (w/v).

5. Daftar Pustaka

- [1] Rudi Kastaman, Analisis Prospektif Pengembangan Produk Olahan Manggis (*Garcinia mangostana*) Dalam Upaya Meningkatkan Pendapatan Petani (Studi Kasus Di Kecamatan Puspahiang Kabupaten Tasikmalaya), *Jurnal Agrikultura*, 18, 1, (2007)
- [2] Warid Ali Qosim, Kulit Buah Manggis Sebagai Antioksidan, , in, Lembaga Penelitian Masyarakat, Universitas Padjadjaran, Bandung, 2007.
- [3] Sunit Suksamrarn, Orapin Komutiban, Piniti Ratananukul, Nitirat Chimnoi, Nattapat Lartpornmatulee, Apichart Suksamrarn, Cytotoxic Prenylated Xanthenes from the Young Fruit of *Garcinia mangostana*, *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 54, 3, (2006) 301-305 <http://dx.doi.org/10.1248/cpb.54.301>

- [4] Anthony C. Dweck, A review of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) Linn., in: *Personal Care Magazine*, 2004, pp. 15-18.
- [5] Wilawan Mahabusarakam, Pichaet Wiriyachitra, Saowaluk Phongpaichit, Antimicrobial activities of chemical constituents from *Garcinia mangostana* Linn, *Journal of the Science Society of Thailand*, 12, 4, (1986) 239-242
- [6] Risma Marisi Tambunan, Soediro Soetarno, Elin Yulinah Sukandar, Telaah Kandungan Kimia dan Aktivitas Antimikroba Kulit Buah Manggis (*Garcinia Mangostana* L., *Guttiferae*), in: *Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Bandung*, 1998.
- [7] Michael J Pelczar, ECS Chan, Dasar-dasar mikrobiologi, Universitas Indonesia Press, Jakarta, 1988.
- [8] M Hidayanti, Aktivitas Antibakteri Rimpang Temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.), in: *Jurusan Kimia, Institut Pertanian Bogor, Bogor*, 2004.
- [9] Lexa G. Matasyoh, Josphat C. Matasyoh, Francis N. Wachira, Miriam G. Kinyua, Anne W. Thairu Muigai, Titus K. Mukiama, Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Ocimum gratissimum* L. growing in Eastern Kenya, *African Journal of Biotechnology*, 6, 6, (2007) 760-765
- [10] Uluk Suharsi Putra, Uji Kemampuan *Aspergillus niger* 6088 IFO 6341 Dalam Mengubah Polisakarida pada Kertas HVS dan Buram Bekas Menjadi Asam Sitrat, in: *Jurusan Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang*, 2007.
- [11] Geo F. Brooks, Karen C. Carroll, Janet S. Butel, Stephen A. Morse, *Medical Microbiology*, 24 ed., McGraw-Hill Education, 2007.
- [12] Satish Gupte, *Mikrobiologi Dasar*, 3 ed., Binarupa Aksara, Jakarta, 1990.