

PEMBUATAN VIRGIN COCONUT OIL DENGAN EKSTRAK JAMUR *Aspergillus niger* SERTA UJI ANTIBAKTERI VCO DENGAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

I W. Suirta* dan I. A. R. Astitiasih

*Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Udayana, Jimbaran, Badung, Bali, Indonesia*

*Email: wayansuirta@unud.ac.id

ABSTRAK

Telah dilakukan pembuatan *virgin coconut oil* (VCO) dengan ekstrak jamur *Aspergillus niger* serta uji antibakteri VCO dengan bakteri *Staphylococcus aureus*. Kualitas VCO ditentukan dengan uji kadar air, angka asam, angka penyabunan, angka iod, uji organoleptik, dan analisis GC-MS. Ekstraksi VCO tanpa menggunakan ekstrak jamur hanya mendapatkan VCO sebanyak 5,859 g. Penambahan ekstrak jamur *A. niger* 0,5% b/v menghasilkan VCO sebanyak 8,832 g, menunjukkan terjadi kenaikan yang sangat signifikan ($p < 0,05$). Hasil uji kadar air, angka asam, angka penyabunan, dan angka iod masing-masing diperoleh: 0,1958; 0,2929; 5,0487; dan 0,2781, hasil ini sesuai dengan baku mutu VCO yang ditetapkan. Hasil uji organoleptik memberikan VCO yang tidak berwarna dan tidak berbau, dan hasil analisis GC-MS diperoleh kandungan asam lemak rantai medium dengan kandungan asam laurat sebagai komponen terbanyak. Hasil uji antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan kemampuan VCO dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan zona hambat 13,5 mm.

Kata kunci: antibakteri, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*, virgin coconut oil.

ABSTRACT

Preparation of virgin coconut oil (VCO) with *Aspergillus niger* fungi extract and the antibacterial test of the VCO with *Staphylococcus aureus* has been carried out. The quality test of the VCO included water content, acid number, saponification number, iodine value, organoleptic test, and GC-MS analysis. VCO extraction without using fungi extract only got 5.859 g of VCO. The addition of 0.5% w/v of *A. niger* fungi extracts produced 8.832 g of VCO, indicating a very significant increase ($p < 0.05$). The water content, acid number, saponification number, and iodine value obtained were 0.158; 0.2929; 5.0487; and 0.2781 respectively, which met the VCO quality standard. The organoleptic test proved that the VCO was colourless and odourless. Meanwhile, the GC-MS analysis showed the content of medium-chain fatty acids with lauric acid as the largest component. The antibacterial test against *Staphylococcus aureus* indicated the ability of VCO to inhibit the growth of bacteria with an inhibition zone of 13.5 mm.

Keywords: antibacterial, *Aspergillus niger*, *Staphylococcus aureus*, virgin coconut oil.

PENDAHULUAN

Virgin Coconut Oil (VCO) adalah suplemen nutrisi sebagai minyak kesehatan yang sangat populer, dibuat dari daging buah kelapa tanpa pemanasan (Agarwal and Bosco 2017 ; Sant'Anna *et al.* 2003). Kualitas VCO ditentukan oleh kandungan asam lemak rantai medium (MCFA) terutama asam laurat dan bentuk monogliseridanya, monolaurin yang membuat VCO sangat aktif sebagai antibakteri, anti protozoa, dan anti virus (Maria *et al.* 2005 ; Silalahi, *et al.* 2014). Berbagai cara dilakukan untuk mendapatkan VCO dari buah kelapa

seperti: ekstraksi pelarut, pengepresan, dan ekstraksi enzimatis (Subroto *et al.* 2020; Agarwal and Bosco. 2017).

Enzim merupakan biokatalis yang dapat meningkatkan laju reaksi, dapat diperbaharui (*renewable*), dapat didaur ulang, secara spesifik meningkatkan substrat yang dihasilkan, mengurangi produk samping, dan ramah lingkungan. (Carmen & Maria, 2017; Wirahadikusumah, 1989). Enzim amilase dari jamur telah dipergunakan secara luas dalam berbagai industri karena efektivitas harganya, konsistensinya, waktunya lebih singkat, mudah dalam proses modifikasi dan optimasi. Enzim

amilase telah banyak dihasilkan dari jamur tanah seperti *Aspergillus*, *Penicillium* dan *Rhizopus* (Sunitha *et al.*, 2012; Damerco, 2003).

Suganthi *et al.* (2012) telah dapat menghasilkan enzim amilase dan protease dari jamur *Aspergillus niger* yang dibiakkan dalam media dedak gandum, dedak padi, dan minyak kacang tanah dengan tehnik fermentasi (*solid state fermentation*). Enzim amilase dan protease sangat penting dalam proses industri makanan seperti produk keju, pelunak daging, industri kue, tekstil, dan industri kertas. *Aspergillus niger* merupakan jamur penghasil enzim ekstraselular seperti amilase, selulase, dan lipase sangat penting dalam aplikasi bioteknologi karena kemampuannya dalam mendegradasi polisakarida tanaman seperti selulosa, xilan, xiloglukan, galaktomannan dan pektin (Bellaouchi *et al.*, 2021). Berdasarkan latar belakang diatas maka dapat ditarik permasalahan seperti: apakah ekstrak jamur *Aspergillus niger* dapat meningkatkan kualitas dan kuantitas VCO yang diperoleh, dan apakah VCO yang diperoleh dapat menghambat aktivitas bakteri *Staphylococcus aureus*?

MATERI DAN METODE

Bahan

Dalam penelitian digunakan jamur *Aspergillus niger* yang diperoleh dari hasil isolasi pada tanaman terong yang terserang patogen jamur. Buah kelapa diperoleh di Pasar Tradisional di Desa Binoh, Ubung Kaja, Denpasar. Bahan kimia yang digunakan seperti: dekstrosa, etanol 96%, akuades, Pb asetat, NaOH, KOH, HCl, Na₂S₂O₃, indikator pp, Tween 10%.

Peralatan

Peralatan yang digunakan adalah: seperangkat alat-alat gelas, lampu Bunsen, laminar flow, autoclave, cawan Petri, jarum ose, alat GC-MS (Shimadzu), mikroskop (Olympus).

Prosedur

Preparasi Daging Buah Kelapa dan Jamur *Aspergillus niger*

Buah kelapa yang digunakan adalah buah kelapa yang sudah tua.. Buah kelapa diambil daging buahnya kemudian diparut. Jamur yang digunakan diperoleh dari tanaman terong yang terserang patogen jamur

Aspergillus niger. Diambil bagian tanaman yang terserang penyakit jamur dengan cara memotong sekitar ukuran 1 x 1 cm, kemudian dicuci dengan akuades. dan dikeringkan dengan tisu. Kemudian direndam dengan bayclean/NaOCl 5,25% selama sekitar 2 menit. Kemudian dibilas dengan akuades sampai baycleannya terpisah. Sampel siap untuk ditumbuhkan jamurnya pada media PDA.

Menumbuhkan Jamur *Aspergillus niger*

Media *Potato Dextrosa Agar* (PDA) dibuat dengan cara, kentang yang digunakan dicuci dengan air bersih kemudian dikupas kulitnya hingga bersih, lalu dipotong-potong kecil. Kemudian kentang ditimbang sebanyak 100g dan ditambahkan air sebanyak 1 liter, lalu direbus sampai warna kekuningan. Kemudian disaring dengan kain kasa sehingga diperoleh filtrat. Filtrat kemudian didinginkan, setelah dingin ditambah dengan agar-agar sriti sebanyak 20g sambil terus diaduk supaya agar-agar tidak menggumpal. Kemudian ditambahkan 20g dekstrosa dan 1 tablet antibiotik kloramfenikol, diaduk rata, dan ditambahkan air sampai volume mencapai 1L, kemudian dipanaskan sampai mendidih. PDA yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam botol, lalu dimasukkan ke dalam *autoclav* untuk sterilisasi. Sterilisasi dilakukan pada tekanan 15 psi, temperatur 121⁰C selama 15 menit. Cawan Petri steril kemudian diisi media PDA, lalu isolat jamur diinokulasikan pada media PDA, tunggu sampai jamur tumbuh. Jamur yang tumbuh kemudian dimurnikan dengan cara reisolasi sebanyak 3 kali dalam media PDA. Jamur murni yang diperoleh kemudian dianalisis secara makroskopis dan mikroskopis. Jamur kemudian diperbanyak biakan murninya dalam media PDA dalam beberapa cawan Petri dengan cara 200 µL suspensi spora jamur dimasukkan ke dalam cawan petri, kemudian ditambahkan media PDA. Inokulasi dilakukan selama delapan hari pada suhu ruang (25 ± 2⁰C).

Ekstraksi Jamur *Aspergillus niger*

Jamur biakan murni dalam media PDA ditambahkan ammonium sulfat 0,1 M sebanyak 50 mL, dilakukan ekstraksi secara maserasi selama 8 jam kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dilanjutkan disentrifugasi pada 6000 rpm selama 20 menit, kemudian diambil supernatannya yang merupakan enzim kasar. Enzim diidentifikasi dengan uji belerang (PbS).

Ekstraksi VCO dengan Menggunakan Ekstrak Jamur *Aspergillus niger*

Sebanyak 1kg kelapa parut segar ditambah dengan 2 L air panas (45°C), kemudian diperas sehingga diperoleh santan kental. Santan yang diperoleh kemudian didiamkan selama 1 jam sehingga terpisah antara krim dan airnya. Erlenmeyer ukuran 50 mL disiapkan, kemudian masing-masing dimasukkan sebanyak 40 mL krim santan. kemudian ditambahkan ekstrak jamur 2 mL dengan variasi konsentrasi 0,5; 1; 2; 3; 4; 5%, selanjutnya diaduk agar krim dan ekstrak jamur tercampur. Kontrol negatif adalah krim santan tanpa penambahan ekstrak jamur. Penelitian dilakukan dengan ulangan sebanyak 3 kali. Perubahan krim santan diamati, dipisahkan minyaknya dan dicatat berat minyak yang diperoleh. Untuk melihat pengaruh perbedaan konsentrasi ekstrak jamur terhadap hasil VCO yang diperoleh, dilakukan analisis statistic dengan software SPSS versi 2.5.

Uji Kualitas VCO Analisis kadar air

Ditimbang sebanyak 10 g VCO hasil ekstraksi dengan ekstrak jamur *Aspergillus niger*, kemudian dipanaskan dalam oven pada suhu 105°C selama 1 jam. Kemudian VCO didinginkan dalam desikator selama 30 menit, setelah dingin dilanjutkan dengan penimbangan. Dilakukan pekerjaan ulang untuk pemanasan dalam oven, kemudian dilakukan penimbangan sampai diperoleh berat konstan.

Kadar air

$$= \frac{\text{Berat sampel awal} - \text{berat sampel akhir}}{\text{berat sampel awal}} \times 100\%$$

Penentuan angka asam

Sebanyak 15 g sampel VCO dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambah 50 mL alkohol 96%, lalu dipanaskan 15 menit dalam penangas air sambil diaduk. Setelah dingin sampel ditambah indikator pp, kemudian dititrasi dengan KOH 0,1 N sampai berwarna merah muda. Titrasi dilakukan sebanyak 3 kali.

$$\text{Angka asam} = \frac{\text{mL KOH} \times \text{N KOH} \times 56,1}{\text{Berat sampel (g)}}$$

Penentuan angka penyabunan

Sebanyak 5 g sampel VCO dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL, kemudian ditambahkan 50 mL KOH 0,5N dalam alkohol dan dipanaskan dalam penangas air sampai minyak tersabunkan sempurna. Setelah dingin ditambah indikator pp, kemudian dititrasi dengan larutan HCL 0,5N sampai tidak berwarna. Titrasi juga dilakukan terhadap blanko (tanpa sampel). Titrasi dilakukan sebanyak 3 kali.

Angka penyabunan

$$= \frac{56,1 \times \text{N HCl} \times (\text{titrasi blanko} - \text{titrasi sampel})}{\text{berat sampel(g)}}$$

Penentuan angka iod

Sebanyak 0,5 g sampel VCO ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam Erlenmeyer 250 mL. Sampel kemudian ditambah 10 mL kloroform untuk melarutkan minyak. Kemudian ditambah 25 mL pereaksi Hanus dan diamkan selama 30 menit sambil sekali-kali diaduk. Kemudian ditambahkan larutan KI 15% dan 100 mL akuades yang telah dididihkan. Kemudian dititrasi dengan Na₂S₂O₃ 0,1 N, lalu ditambahkan larutan amilum hingga berwarna biru dan titrasi dilanjutkan hingga warna biru hilang. Titrasi juga dilakukan terhadap blanko (tanpa sampel). Titrasi dilakukan sebanyak 3 kali.

Angka Iod

$$= \frac{\text{mL titrasi (blanko} - \text{sampel)} \times \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 12,691}{\text{berat sampel(g)}}$$

Analisi VCO dengan GC-MS

VCO terlebih dahulu diesterifikasi dengan cara sebanyak 1 mL VCO ditambah larutan 1,5 mL NaOH dalam methanol, lalu dipanaskan dalam penangas air pada suhu 80°C selama 5 menit. Larutan kemudian ditambah dengan BF₃ dalam methanol sebanyak 2 mL dan dipanaskan selama 25 menit pada suhu 80°C, lalu didinginkan. Setelah dingin ditambahkan 1 mL n-heksana lalu lapisan ester yang berada di bagian atas diambil sebanyak 1µL dengan *syringe* kemudian diinjeksikan ke instrument GC-MS dan diamati kromatogram hasil yang diperoleh.

Uji Antibakteri VCO terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Sebanyak 1 mL suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ditambahkan ke dalam media nutrient agar (NA), selanjutnya campuran dihomogenkan menggunakan vortex, lalu didinginkan dan dibiarkan memadat dalam cawan petri steril. Selanjutnya media NA yang sudah memadat dibuat sumur berdiameter 6 mm dengan menggunakan perforator. Sebanyak 20 μ L VCO ditambah 5 μ L tween 10% dimasukkan ke dalam sumur yang telah diberi tanda, kontrol positif (amoksisilin) dan kontrol negatif (tween 10%) dimasukkan dalam sumur yang lain, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona bening yang dihasilkan diamati dan diukur diameternya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi dan Identifikasi Jamur *Aspergillus niger*

Secara makroskopis jamur *Aspergillus niger* terlihat sebagai koloni berbentuk bulat dengan tepi merata agak kasar dan berwarna coklat kehitaman. Secara mikroskopis hifanya bersepta, setiap konidiofora menyongkong satu konidia, konidiofora panjang berbentuk silinder serta tidak berwarna (hialin). Menurut Pit & Hotking (1997) jamur *A. niger* berbentuk koloni berwarna putih kehitaman, kepala konidia berbentuk bulat dan berwarna coklat tua sampai hitam. Ciri mikroskopis vesikel yang berbentuk bulat dengan diameter yang berkisar antara 17,52 sampai 23,4 μ m. Menurut Bellaouchi *et al.* (2021), *A. niger* mempunyai hifa bersepta, kolonia berwarna putih dan menjadi berwarna hitam saat terbentuk konidia. Secara makroskopis permukaan terlihat berwarna kehitaman dengan koloni berbentuk bulat, sebaliknya koloni berwarna putih kekuningan. Identifikasi enzim pada ekstrak jamur *A. niger* dengan uji belerang (PbS) menunjukkan uji positif dengan terbentuknya endapan hitam pada larutan.

Ekstraksi Virgin Coconut Oil dengan Ekstrak Jamur *Aspergillus niger*.

Dengan menggunakan ekstrak jamur *A. niger* dapat menghasilkan VCO dengan kuantitas yang meningkat. Ekstraksi VCO tanpa menggunakan ekstrak jamur hanya mendapatkan 5,859 g. Terjadi kenaikan yang sangat signifikan dengan penambahan ekstrak jamur *A. niger*, dengan ekstrak 0,5% mendapatkan VCO sebanyak 8,832 g. Penambahan ekstrak 1% mendapatkan VCO sebanyak 10,844g. Hasil uji statistik dengan SPSS diperoleh homogenitas data dengan signifikansi 0,081 ($p > 0,05$) berarti data bersifat homogen. Hasil uji normalitas diperoleh semua data dengan signifikansi lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$) yang berarti data terdistribusi normal, hasil uji ANOVA diperoleh signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) berarti terdapat perbedaan bermakna antar perlakuan. Hasil uji post hoc dengan LSD diperoleh terdapat beda signifikan ($p < 0,05$) antara kontrol negatif dengan perlakuan konsentrasi ekstrak 0,5; 1; 2; 3; 4, dan 5%, terdapat beda signifikan ($p < 0,05$) antara konsentrasi ekstrak 0,5% dengan 1; 2; 3; 4, dan 5% dan terdapat beda signifikan ($p < 0,05$) antara konsentrasi 1% dengan 4, dan 5%. Kualitas VCO secara organoleptik menunjukkan hasil yang baik dengan VCO yang dihasilkan tidak adanya warna dan tidak berbau.

Kemampuan ekstrak jamur *A. niger* dalam meningkatkan hasil VCO tidak terlepas dari kandungan enzim yang ada pada jamur tersebut dalam mendegradasi selulosa pembungkus komponen VCO. Jamur *A. niger* memiliki kemampuan dalam memproduksi enzim hidrolitik seperti lipase, protease, selulase, dan pectinase (Ratledge, 1994). Jamur *Aspergillus sp.* mempunyai enzim khitinase dan β -1, 3 glukonase yang dapat memecah komponen dinding sel (Sudarma dan Suprpta, 2011; Agrios, 1996). Hasil secara kuantitatif dan kualitatif VCO seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil VCO menggunakan ekstrak jamur (E J) *A. niger*.

No	Perlakuan	Berat VCO diperoleh (gram)			Rata-rata (gram)	Keterangan
		I	II	III		
1	Krim santan(KS)	5,670	5,890	6,009	5,859±0,1720	Bening, tak berbau
2	K S + E J 0,5%	8,005	8,910	9,580	8,832±0,7904	Bening, tak berbau
3	K S + E J 1%	10,025	10,0965	11,541	10,844±0,7224	Bening, tak berbau
4	K S + E J 2%	11,235	12,567	10,856	11,553±0,8987	Bening, tak berbau
5	K S + E J 3%	10,965	12,565	10,572	11,367±1,0557	Bening, tak berbau
6	K S + E J 4%	12,003	11,962	12,432	12,132±0,2603	Bening, tak berbau
7	K S + E J 5%	12,569	12,002	12,875	12,482±0,4430	Bening, tak berbau

Uji Kualitas VCO

Analisis kadar air diperoleh bahwa kadar air dari VCO adalah 0,1958 g, hal ini sudah sesuai dengan standar mutu kadar air VCO yaitu 0,1 – 0,5 g. Air yang terdapat dalam VCO akan mengakibatkan reaksi hidrolisis penghasil asam lemak bebas yang mengakibatkan minyak menjadi tengik. Hasil analisis angka asam pada VCO diperoleh sebesar 0,2929. Hasil ini sudah sesuai dengan harga baku mutu VCO yaitu maksimal 0,5. Angka asam yang tinggi tidak baik untuk VCO karena asam lemak bebas yang tinggi akan mudah menjadi tengik. Hasil analisis angka penyabunan diperoleh 5,0487, sesuai dengan standar mutu yaitu 4,11 – 11. Angka iod diperoleh 0,2781, sesuai dengan standar mutu yaitu 0,2 – 0,5. Angka iod menjelaskan ketidakjenuhan asam lemak penyusun minyak..

Banyaknya iod yang diikat menunjukkan banyaknya ikatan rangkap dalam minyak (Natalia *et al.* 2019; Dayrit *et al.* 2007)

Hasil analisis GC-MS menunjukkan komponen penyusun dari VCO adalah asam lemak rantai menengah seperti: asam laurat, miristat, palmitate, kaproat, dan asam oleat. VCO mengandung komponen asam lemak seperti: kaprilat, kaproat, kaprat, laurat, miristat, palmitate, stearate, oleat, dan asam linoleate (Lavine *et al.* 2018). Abast *et al.* (2015) telah meneliti bahwa kandungan utama VCO adalah asam laurat (47,79%) dan asam miristat (17,17%). VCO mengandung asam laurat (53,70%-54,06%) dan asam stearate (2,65%-12,10%) (Suryani *et al.*, 2020). Kualitas VCO hasil ekstraksi disarikan pada Tabel 2.

Tabel 2. Kualitas VCO hasil ekstraksi dengan jamur *Aspergillus niger*

Analisis	Ulangan			Rata-rata	Standar VCO
	I	II	III		
Kadar air	0,1230	0,3100	0,1545	0,1958±0,1001	0,1-0,5
Angka asam	0,3350	0,2982	0,2456	0,2929±0,0449	0,5
Angka penyabunan	5,0241	4,9100	5,2120	5,0487±0,1525	4,11-11
Angka iod	0,2525	0,3147	0,2670	0,2781±0,0325	0,2-0,5
GC-MS	Asam laurat (39,35%); miristat (31,07%); palmitate (16,81%);kaproat (8,38%); oleat (4,39%)				

Uji Antibakteri VCO terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa VCO mempunyai kemampuan yang baik dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan memberikan zona hambat 13,5 mm. Kemampuan daya hambat VCO terhadap bakteri *S. aureus* tidak terlepas dari komponen

senyawa aktif yang terkandung pada VCO yaitu asam laurat. Mekanisme kerja asam laurat dengan merusak lapisan peptidoglikan dinding sel bakteri sehingga bakteri mengalami lisis (Sulastri *et al.*, 2016; Maromon *et al.*, 2020). Asam laurat dapat membunuh bakteri gram positif dengan merusak membran sel sehingga membran menjadi lisis (Lavine *et al.*, 2018). Noriko *et al.* (2014) telah meneliti

bahwa VCO aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Salmonella typhi*. Lavine *et al.* (2018) telah meneliti bahwa VCO dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Actinomyces* penyebab noda hitam gigi pada anak-anak.

SIMPULAN

Hasil analisis kadar air, penentuan angka asam, angka penyabunan, dan angka iod diperoleh hasil yang sesuai dengan standar mutu VCO yang ditetapkan. Sedangkan hasil organoleptis diperoleh menunjukkan VCO yang tidak berwarna dan tidak berbau. Penambahan ekstrak jamur *Aspergillus niger* pada VCO menghasilkan peningkatan yang signifikan terhadap berat VCO yang diperoleh. Hasil analisis GC-MS menunjukkan adanya asam lemak rantai medium. Sehingga dapat disimpulkan bahwa penambahan ekstrak jamur *Aspergillus niger* dapat meningkatkan kuantitas dan kualitas VCO. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bahwa VCO dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan zona hambat 13,5 mm.

DAFTAR PUSTAKA

- Abast, M.A., Koleangan, H.S.J., Pontoh, J. 2015. Analisis Asam Lemak dalam Minyak Kelapa Murni menggunakan Derivatisasi Katalis Basa, *Jurnal MIPA* 4(2):29-31
- Agarwal, R.K., Bosco, S.J.D. 2017. Extraction Processes of Virgin Coconut Oil. *MOJ Food Processing & Technology*. 4(2):54–56.
<https://doi.org/10.15406/mojfpt.2017.04.00087>
- Agrios G.N.1996. Plant Pathology, 3rd Ed., terjemahan Munzir Busnia, Yogyakarta: Gajah Mada University Press
- Bellaouchi, R., Aboulolfa, H., Rokni, Y., Hasnaovi, A., Gabbor, N., Hakkov, A., Bechhari, A., Asehraov, A. 2021. Characterization and Optimization of Extracellular Enzymes Production by *Aspergillus niger* Strains Isolated from Date by-products. *Journal of Genetic Engineering Biotechnology*. 19(50).
- Carmen S. M. and Maria E. Z. 2017. Enzyme-Assisted Extraction of Phenolic Compounds, Elsevier. 369-384
- Damerco, J. L., Valadares, S., M. C. S-inglis, and Felix, C. R. 2003. Production of Hydrolytic Enzyme By *Trichoderma* Isolation With Antagonistic Activity Against *Crinipellis Perniciosa* the Causal Agent Of Witches' Broom Of Cocoa. *Brazilian J. of Micro*. 34: 33-38.
- Dayrit, T. M., Buenafe, O. E. M., Chainani, E. T., Vera, I. M. S., Dimzon, I. K. D., Gonzales, E. G., Santos, J. E. R. 2007. Standards for Essential Composition and Quality Factors of Commercial Virgin Coconut Oil and its Differentiation from RBD Coconut Oil and Copra Oil. *Philippine Journal of Science*. 132(2): 119-129
- Lavine P., Fauziah, E., Rizal, M. F., Budiardjo, S. B. 2018. Antibacterial Effect of Virgin Coconut Oil on *Actinomyces* sp. that Causes Dental Black Stain in Children. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 11(2): 333-335
- Maria, G. L., Sridhar, K. R., and Raviraja, N. S. 2005. Antimicrobial and Enzyme Activity of Mangrove Endophytic Fungi of Southwest Coast of India. *Journal of Agricultural Technology*. 1(7): 67–80
- Maromon, Y., Deviani, P. P., Agnes, M. E. D. 2020. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Kelapa Murni (Virgin Coconut Oil) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* secara *in vitro*, *Cendana Medikal Journal*. 20(2): 250-255
- Natalia, A., Natalia, D. R., Lukmanto, F., Ani, I., Tarigan, I. L. 2019. Analysis Quality Characteristics of Virgin Coconut Oil (VCO): Comparisons with Cooking Coconut Oil (CCO). *Medical Laboratory Analysis and Sciences Journal*. 1(1): 30-36
- Noriko, N., Masduki, A., Azhari, R., Nufadanti, G. 2014. Uji *in vitro* Daya Hambat Antibakteri Virgin Coconut Oil (VCO) pada *Salmonella typhi*. *Jurnal Al-Azhar Indonesia Seri Sains and Teknologi*. 2(3): 188-192
- Pit, J.I. and Hocking, A.D., 1997. Fungi and Food Spoilage, 2nd Edition, Blackie Academic and Professional Press.
- Ratledge, C. 1994. Biochemistry of Microbial Degradation. Kluwer Academic Publishers, London.
- Sant'Anna, B. P. M., Freitas, S. P., & Coelho, M. A. Z. 2003. Enzymatic Aqueous

- Technology for Simultaneous Coconut Protein and Oil Extraction. *Grasas Y Aceites*. 54(1): 77–80. <https://doi.org/10.3989/gya.2003.v54.i1.281>
- Silalahi, J., Yademetripermata, & Putra, E. de L. 2014. Antibacterial Activity of Hydrolyzed Virgin Coconut Oil. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 7(SUPPL. 2): 90–94.
- Subroto, E., Pangawikan, A. D., Yarlina, V. P., Ramadhani, A.P., 2020. The Extraction, Purification, and The Recent Application of Coconut Oil Food Products- A Review. *International Journal on Emerging Technologies*. 11(5); 234-240
- Sudarma, I .M., dan D. N. Suprpta. 2011. Diversity of Soil Microorganism in Banana Habitats with and Without Fusarium Wilt in Symptom. *Journal ISAAS*. (17): 147-159.
- Suganthi, R., Hari, A., Aromugam, B., Arungopal, M., Kumar, R. V., Benazir, F. J. 2012. *Aspergillus niger*, A Potential Enzym Producer on Cost Effective Agro-Industrial Wastes. *Research Journal of Biotechnology*. 7(1): 25-32
- Sulastri E, Sari A, Mappiratu. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Krim Asam Laurat terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. *Jurnal Farmasi Galenika*. 2(2): 59–67
- Sunitha, V. H., Ramesha, A., Savitha, J., & Srinivas, C. 2012. Amylase Production by Endophytic Fungi *Cylindrocephalum* sp. Isolated from Medicinal Plant *Alpinia calcarata* (Haw.) Roscoe. *Brazilian Journal of Microbiology*. 43(3): 1213–1221. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822012000300049>
- Suryani, Sariyani, Earnesly, F., Marganof, M., Rahmawati, Sevindrajuta, Mahlia, T. M. J., Fudholi, A., 2020. A Comparative Study of Virgin Coconut Oil, Coconut Oil, and Palm Oil in Terms of Their Active Ingredients. *Processes*. 8: 2-11
- Wirahadikusumah, M. 1989. Biokimia: Protein, Enzim dan Asam Nukleat. Bandung: ITB Press.