

PENINGKATAN *YIELD* MINYAK DAUN CENGKEH (*Syzygium aromaticum*) DENGAN FERMENTASI SELULOTIK MENGGUNAKAN *Trichoderma harzianum*

Vivi Nurhadianty^{1,2,*}, Chandrawati Cahyani^{1,2}, Wa Ode Cakra Nirwana^{1,2}, Luthfi Kurnia Dewi^{1,2}, Gamayazid Abdillah¹, Angga Reza Pratama¹

¹Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya

Jl. MT. Haryono No. 167, Malang, 6541, Telp : (0341) 587710 ext : 1333, Fax: (0341)574140

²Institut Atsiri, Universitas Brawijaya

Gedung Senat Lantai 2, Jl. Veteran No.8 Malang 65145, email : institut.atsiri@ub.ac.id

*Penulis korespondensi : vivicahaya@gmail.com

Abstract

*Clove oil is one of the Indonesia's leading products in world essence oil trade. One of the problems encountered during the distillation process is the essential oil trapped in the plant tissues which can decrease its yield. A fermentation process will degrade plant tissues so the oil is expected to come out during distillation process more easily. This research started with solid state fermentation using *Trichoderma harzianum* for 4, 6, 8, and 12 days. Samples that have been through fermentation process were extracted by steam distillation at atmospheric pressure for 6 hours starting from first distillate droplets. Without fermentation, a yield of 0.57% was obtained. The results showed that pretreatment in the form of fermentation can increase the yield of clove leaf oil 2.8 times compared with no pretreatment in the form of fermentation. The highest yield was obtained at the time of fermentation for 8 days with the yield of 1.62%, which was 3 times higher than the clove leaf oil obtained without fermentation process.*

Keywords: Clove leaf oi; fermentation; distillation; *Trichoderma harzianum*; yield

Abstrak

*Minyak cengkeh adalah salah satu produk unggulan Indonesia dalam perdagangan minyak atsiri dunia. Salah satu masalah yang dihadapi selama proses penyulingan minyak atsiri adalah adanya minyak atsiri yang terperangkap dalam jaringan tanaman sehingga dapat menurunkan yield. Proses fermentasi akan mendegradasi jaringan-jaringan tumbuhan sehingga diharapkan minyak dapat lebih mudah keluar selama proses distilasi uap. Penelitian diawali dengan proses fermentasi solid-state secara aerobik menggunakan kapang *Trichoderma harzianum* selama 4, 6, 8, dan 12 hari dilanjutkan dengan distilasi uap pada tekanan atmosferik selama 6 jam terhitung sejak tetesan pertama. Yield minyak daun cengkeh tanpa proses fermentasi yang didapatkan sebesar 0,57%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pretreatment berupa fermentasi dapat meningkatkan yield minyak daun cengkeh 2,8 kali dibandingkan dengan tanpa pretreatment berupa fermentasi. Yield tertinggi didapatkan pada waktu fermentasi selama 8 hari dengan perolehan yield sebesar 1,62% atau meningkat hingga 3 kali lebih tinggi dibandingkan dengan minyak daun cengkeh yang diperoleh tanpa proses fermentasi.*

Kata kunci : minyak daun cengkeh; fermentasi; distilasi uap; *Trichoderma harzianum*; yield

PENDAHULUAN

Minyak cengkeh adalah salah satu produk unggulan Indonesia dalam perdagangan minyak atsiri dunia. Minyak cengkeh mengandung senyawa aktif eugenol yang merupakan bahan baku parfum dan berbagai jenis obat-obatan. Cengkeh memiliki bau yang khas berasal dari minyak atsiri yang terdapat pada bunga (10–20%), tangkai (5–10%) dan daun (1–4%).

Minyak daun cengkeh pada umumnya diambil melalui metode distilasi uap. Beberapa masalah yang sering dihadapi selama proses penyulingan minyak atsiri yaitu adanya kandungan minyak atsiri yang hilang, penguapan minyak pada akhir penyulingan, dan minyak atsiri yang terperangkap dalam jaringan tanaman sehingga dapat menurunkan *yield* (Guenther, 1987). Daun cengkeh memiliki kandungan minyak

atsiri sebesar 1–4%, sedangkan *yield* daun cengkeh bervariasi dari 1,8% hingga 2,8% tergantung dari kualitas daun cengkeh (Jayanudin, 2011).

Perlakuan awal sebelum penyulingan sebagai upaya meningkatkan rendemen minyak atsiri dapat dilakukan secara fisik, kimia, dan biologi. Penelitian tentang pengaruh perlakuan awal dilakukan Chandra (2015) dengan membandingkan peningkatan *yield* minyak daun cengkeh dari tiga metode berbeda yaitu secara kimia (delignifikasi dengan NaOH 0,25% pada suhu 55°C selama 30 menit), biologi (fermentasi selulolitik dengan *Trichoderma sp* selama 6 hari), dan gabungan keduanya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa proses fermentasi memberikan hasil terbaik dengan kenaikan *yield* sebesar 57,7% dibandingkan dengan delignifikasi yaitu 39,9%. Sedangkan gabungan delignifikasi dan fermentasi justru mengalami penurunan *yield* sebesar 19,8%.

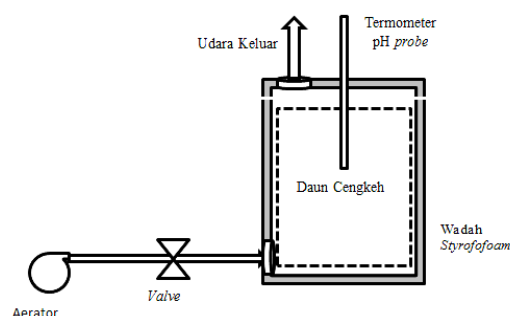
Parameter penting dalam produksi minyak cengkeh selain *yield* adalah biaya produksi yang ekonomis. *Trichoderma* merupakan fungi penghasil enzim selulose yang lebih baik daripada bakteri. Fungi penghasil enzim selulose yang paling komersial yaitu *Trichoderma reesai* dan *Aspergillus niger* (Bergquist dkk., 2002). Namun, *Trichoderma harzianum* merupakan fungi yang paling ekonomis dan efisien karena mudah ditemukan di alam, mudah dikembangbiakkan dan menghasilkan konidia yang banyak (Ghorbani dkk., 2015). Oleh karena itu, perlu kajian lebih lanjut tentang pengaruh *pretreatment* berupa fermentasi terhadap *yield* minyak daun cengkeh menggunakan *Trichoderma harzianum* yang ditinjau dari waktu fermentasi bervariasi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Gambar 1 menunjukkan skema peralatan utama yang digunakan yaitu seperangkat fermentor aerob yang dilengkapi termometer, pH dan *moisture meter*. Temperatur proses dikontrol dengan mengatur aliran udara masuk melalui *valve*. Aerator berfungsi memproduksi udara yang teratur agar fermentasi berjalan secara aerob. Peralatan lain yang digunakan adalah seperangkat distilasi uap yang dilengkapi dengan kondensor serta tangki sirkulator air pendingin (Gambar 2), *vacum ejector*, inkubator, *autoclave*, pH meter, *moisture balance*, *orbital shaker*, dan aerator yang disediakan di Laboratorium Teknik Bioproses Jurusan Teknik Kimia Universitas Brawijaya.

Bahan utama dalam penelitian ini adalah daun cengkeh kering yang diperoleh dari perkebunan rakyat Desa Wonokerto, Kabupaten Pacitan. Kapang *Trichoderma harzianum* yang berperan penting dalam degradasi selulolitik diperoleh dari biakan BPTP Jatim, Karangploso, Kabupaten Malang. Makro nutrisi berupa glukosa dan pepton. Mikro nutrisi berupa KH_2PO_4 , NH_4NO_3 , MgSO_4 , dan $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Bahan pendukung lain berupa buffer sitrat, Na_2SO_4 , agar, kentang, NPK, dan ZA.



Gambar 1. Skema fermentor aerob

Prosedur Penelitian

Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Kurva pertumbuhan dibuat dengan mengamati perubahan massa sel kering seiring bertambahnya waktu fermentasi. Larutan suspensi *Trichoderma harzianum* sebanyak 100 mL dibuat dengan komposisi masing-masing 10 gr/L pepton, 10 gr/L glukosa, 5 g/L KH_2PO_4 , 2 g/L NH_4NO_3 , 4 g/L $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 0,2 g/L MgSO_4 , 1 ose *Trichoderma harzianum* dan 30 tetes buffer sitrat pH 5. Larutan suspensi tersebut kemudian didiamkan dalam *orbital shaker* (240 rpm) selama 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 hari. Setiap 24 jam, 1 larutan suspensi dipisahkan antara media kultur dengan selnya kemudian dihitung berat keringnya.

Proses Fermentasi

Daun cengkeh dimasukkan ke dalam kantong *digester* dan disemprotkan secara merata dengan 1L larutan *starter*. Kantong plastik kemudian dimasukkan dalam wadah berbahan *styrofoam* dan ditutup. Fermentasi padat dilakukan dengan variasi lama fermentasi selama 4, 6, 8, dan 12 hari menggunakan kapang *Trichoderma harzianum*. Fermentasi yang berlangsung merupakan fermentasi aerobik, dimana udara diinjeksikan ke dalam fermentor menggunakan aerator.

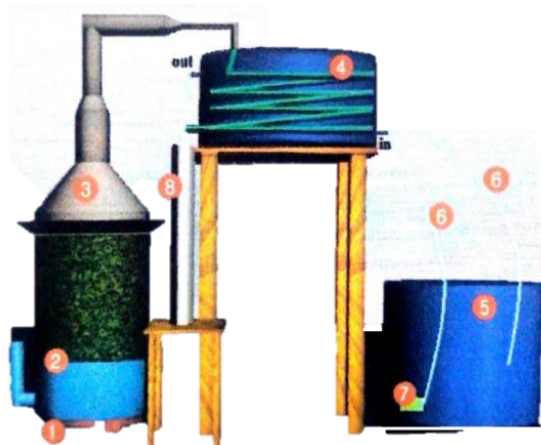
Proses Distilasi Uap

Proses distilasi uap dilakukan dengan menggunakan seperangkat alat distilasi uap yang ada pada Laboratorium Teknik Bioproses Program Studi Teknik Kimia FT-UB. Daun cengkeh sebanyak 1500 gram dimasukkan ke dalam bak penampung bahan di dalam alat distilasi uap. Di bagian lain, air yang digunakan sebagai sumber uap dipanaskan hingga mencapai titik didih air pada tekanan atmosferik. Proses distilasi uap berlangsung selama 6 jam dihitung dari tetesan pertama. Destilat ditempatkan pada botol kaca dan ditutup rapat untuk menghindari minyak daun cengkeh yang menguap. Proses pemisahan air dan minyak daun cengkeh dilakukan dengan menggunakan corong pisah.

Proses Pemurnian

Minyak cengkeh yang telah dipisahkan dengan air dari corong pisah dimurnikan lebih lanjut untuk menghilangkan sisa-sisa air dengan

menambahkan Na₂SO₄ kemudian dipisahkan dengan menggunakan kertas saring sehingga didapatkan minyak daun cengkeh yang bebas dari kandungan air. Minyak daun cengkeh yang telah dimurnikan ditimbang dan dihitung rendemennya dalam % massa.



Gambar 2. Skema alat distilasi uap. Keterangan: 1. Pemanas berbahan bakar LPG, 2. Ketel suling, 3. Saluran uap, 4. Kondensor, 5. Bak air sirkulasi, 6. Selang air, 7. Pompa sirkulasi air, dan 8. Penampung distilat

Prosedur Perhitungan Yield

Minyak daun cengkeh yang telah dimurnikan, ditimbang dan dihitung *yield*-nya dalam persen massa mengikuti Persamaan (1).

$$Yield = \frac{\text{Massa produk minyak daun cengkeh}}{\text{Massa daun cengkeh}} \times 100\% \quad (1)$$

Karakterisasi

Komponen senyawa-senyawa kimia penyusun minyak daun cengkeh hasil penelitian diuji di Laboratorium Sentral, FMIPA, Universitas Negeri Malang. Pengujian menggunakan instrumen GC-MS Shimadzu QP-PLUS-2010 dengan suhu kolom 60°C dan tekanan 100 kPa.

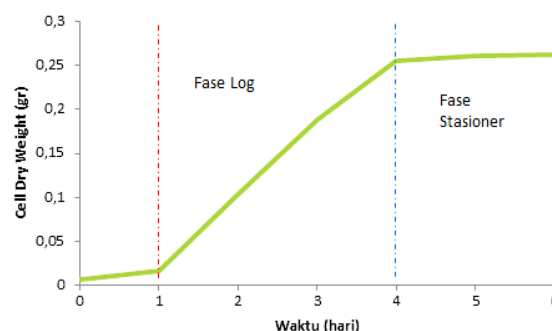
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pertumbuhan *Trichoderma harzianum*

Pertumbuhan *Trichoderma harzianum* dapat ditinjau dengan melihat perubahan massa sel kering selama 6 hari. *Trichoderma harzianum* dipisahkan dari media kultur cair dengan penyaringan kemudian dipanaskan 115°C dan ditimbang massa selnya setiap 24 jam.

Gambar 3 menunjukkan bahwa waktu yang tepat untuk menggunakan *Trichoderma harzianum* pada proses fermentasi adalah pada fase log yang berada pada rentang hari ke-1 dan hari ke-4 (Sarjono, 2012). Pada penelitian ini, proses fermentasi dilakukan setelah *Trichoderma harzianum* didiamkan dalam media kultur cair selama 2 hari karena mulai hari ke-3 media kultur mulai dipadati oleh hifa yang

menyebabkan media kultur menjadi kental sehingga dapat mengganggu proses penyemprotan.



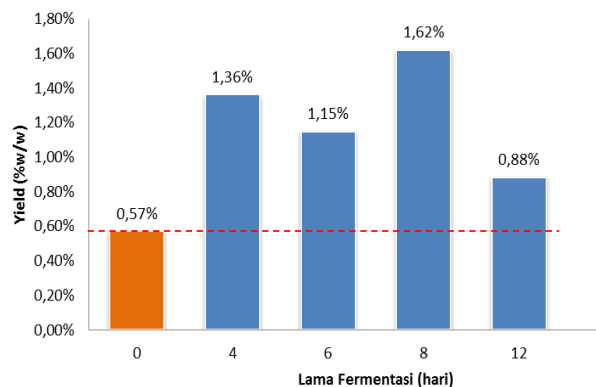
Gambar 3. Kurva pertumbuhan *Trichoderma harzianum*

Pengaruh Fermentasi terhadap Yield Minyak Daun Cengkeh

Berdasarkan hasil penelitian yang didapat, *pretreatment* berupa fermentasi menggunakan *Trichoderma harzianum* dapat meningkatkan *yield* minyak daun cengkeh. *Pretreatment* berupa fermentasi dapat meningkatkan *yield* minyak daun cengkeh hingga 2,8 kali lipat dibandingkan dengan tanpa *pretreatment* berupa fermentasi. Peningkatan *yield* minyak daun cengkeh ini terjadi karena aktivitas enzim selulase dan *xylanase* yang dihasilkan oleh kapang *Trichoderma harzianum* selama proses fermentasi. Enzim selulase dan *xylanase* (Aderemi dkk., 2008; Nathan dkk., 2014) bersinergi mendegradasi komponen selulosa dan hemiselulosa (Dashtban dkk., 2009). Jaringan-jaringan tumbuhan yang mengalami degradasi akan mempermudah keluarnya minyak dari kantong-kantong minyak selama distilasi uap berlangsung. Degradasi selulolitik *Trichoderma harzianum* pada daun cengkeh menunjukkan hasil yang lebih baik jika dibandingkan menggunakan kapang *Aspergillus niger*. Penelitian sebelumnya yang menggunakan kapang *Aspergillus niger* dalam fermentasi sebagai perlakuan awal, menunjukkan *yield* minyak daun cengkeh menjadi lebih rendah 3 kali dari *yield* minyak daun cengkeh tanpa fermentasi (Arifin dan Wicaksono, 2016).

Gambar 4 menunjukkan bahwa pada rentang fermentasi antara 0–8 hari menunjukkan perubahan fluktuatif yang cenderung meningkat. *Yield* tertinggi didapatkan pada fermentasi hari ke-8 seperti yang ditunjukkan pada grafik. *Yield* tertinggi didapatkan pada waktu fermentasi selama 8 hari dengan perolehan *yield* sebesar 1,62% dengan peningkatan *yield* sebesar 184% dibandingkan dengan minyak daun cengkeh yang diperoleh tanpa proses fermentasi. Namun, penurunan *yield* minyak daun cengkeh terjadi pada waktu fermentasi selama 12 hari. Penurunan *yield* minyak daun cengkeh pada hari ke-12 dapat disebabkan karena waktu fermentasi yang lebih lama menyebabkan semakin banyak selulosa dan hemiselulosa yang terdegradasi oleh aktivitas enzim

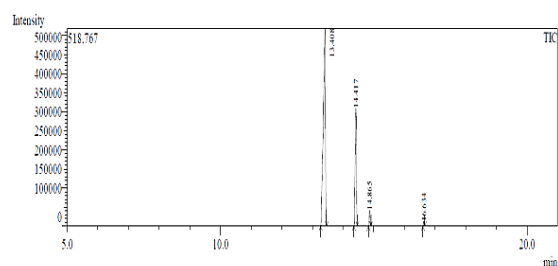
Trichoderma harzianum, sehingga ada sebagian minyak yang keluar dari kantong minyak selama proses fermentasi. Akibatnya, ada sebagian komponen minyak daun cengkeh yang terdegradasi yang kemudian mengalami hidrolisis dan hilang.



Gambar 4. Hubungan lama fermentasi dengan yield minyak daun cengkeh

Pengaruh Fermentasi terhadap Komponen Minyak Daun Cengkeh

Analisa GC-MS dilakukan untuk mengetahui pengaruh fermentasi terhadap kandungan dan komposisi senyawa-senyawa yang terkandung dalam minyak daun cengkeh. Komponen utama penyusun minyak daun cengkeh adalah eugenol campuran dan *Caryophyllene* serta turunannya.



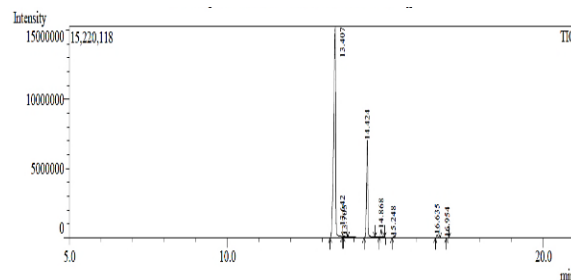
Gambar 5. Kromatogram minyak daun cengkeh tanpa fermentasi

Tabel 1. Komponen minyak daun cengkeh tanpa fermentasi

Peak	Senyawa	Formula	tR (menit)	% Area
1	1,3,4-Eugenol	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	13,408	71,34
	Acetat	C ₁₀ H ₁₂ O ₂		
2	β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	14,417	25,52
	Trans- β -Caryophyllene			
3	1,3,7-octatriene-3,7-dimethyl	C ₁₀ H ₁₆	14,865	2,54
	1,3,6-octatriene-3,7-dimethyl			
4	Tidak diketahui	-	16,634	0,61

Hasil analisa dengan GC-MS minyak atsiri daun cengkeh tanpa perlakuan awal dapat dilihat pada Gambar 5 dan Tabel 1. Minyak daun cengkeh tanpa perlakuan awal mengandung eugenol campuran total

sebesar 71,34% dan *Caryophyllene* total sebesar 25,52%

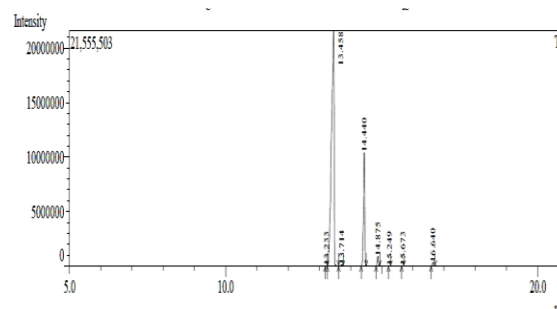


Gambar 6. Kromatogram minyak daun cengkeh 4 hari fermentasi

Tabel 2. Komponen minyak daun cengkeh 4 hari fermentasi

Peak	Senyawa	Formula	tR (menit)	% Area
1	1,3,4-Eugenol Acetat	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	13,408	74,91
	1,3,4-Eugenol	C ₁₂ H ₁₄ O ₃		
2	Tidak Teridentifikasi	-	13,642	0,01
3	α -Farnese	C ₁₅ H ₂₄	13,705	0,13
4	β -Caryophyllene	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	14,425	22,38
5	Trans- β -Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	14,867	1,78
	Caryophyllene			
6	Cis- α -Bergamontene	C ₁₅ H ₂₄	15,248	0,05
7	Caryophyllenoxid	C ₁₅ H ₂₄ O	16,635	0,70
8	Tidak Teridentifikasi	-	16,954	0,04

Hasil analisa dengan GC-MS minyak atsiri daun cengkeh dengan *pretreatment* fermentasi selama 4 hari dapat dilihat pada Gambar 6 dan Tabel 2. Presentase eugenol campuran meningkat sekitar 3% dibandingkan dengan minyak atsiri daun cengkeh tanpa fermentasi. Hal ini berbanding lurus dengan penurunan *Caryophyllene* dan turunannya yaitu β -*Caryophyllene* dan *Trans- β -Caryophyllene*. Namun, jumlah komponen bertambah dari 4 senyawa menjadi 8 senyawa. Peningkatan jumlah senyawa terjadi akibat diversifikasi selama proses fermentasi.

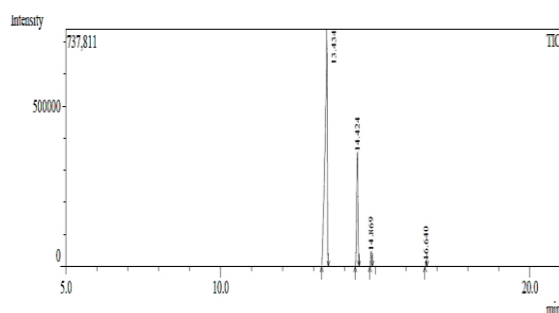


Gambar 7. Kromatogram minyak daun cengkeh 6 hari fermentasi

Hasil analisa dengan GC-MS minyak atsiri daun cengkeh dengan *pretreatment* fermentasi selama 6 hari dapat dilihat pada Gambar 7 dan Tabel 3. Minyak daun cengkeh yang didapat dari proses fermentasi selama 6 hari terjadi peningkatan senyawa eugenol campuran seiring dengan penurunan *Caryophyllene* dan jumlah senyawa penyusunnya tetap berjumlah delapan.

Tabel 3. Komponen minyak daun cengkeh 6 hari fermentasi

Peak	Senyawa	Formula	tR (menit)	% Area
1	Cadina-1,4-Diene	C ₁₅ H ₂₄	13,233	0,06
2	1,3,4-Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	13,458	78,80
3	α-Copaene	C ₁₅ H ₂₄	13,714	0,23
4	β-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	14,440	18,85
5	Trans-β-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	14,875	1,45
6	α-Farnese	C ₁₅ H ₂₄	15,249	0,03
7	Trans-α-Bergamontene	C ₁₅ H ₂₄	-	-
7	Tidak teridentifikasi	-	15,673	0,03
8	Caryophyllenoxid	C ₁₅ H ₂₄ O	16,640	0,55



Gambar 8. Kromatogram minyak daun cengkeh 8 hari fermentasi

Tabel 4. Komponen minyak daun cengkeh 8 hari fermentasi

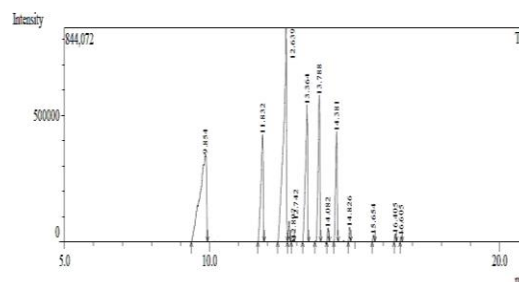
Peak	Senyawa	Formula	tR (menit)	% Area
1	1,3,4-Eugenol Acetat	C ₁₂ H ₁₄ O ₃	13,434	75,28
2	1,3,4-Eugenol β-Caryophyllene Trans-β-Caryophyllene	C ₁₀ H ₁₂ O ₂ C ₁₅ H ₂₄ C ₁₅ H ₂₄	14,424	21,61
3	1,3,7-octatriene-3,7-dimethyl	C ₁₀ H ₁₆	14,869	2,34
4	Tidak diketahui	-	16,640	0,77

Hasil analisa dengan GC-MS minyak atsiri daun cengkeh dengan *pretreatment* fermentasi selama 8 hari dapat dilihat pada Gambar 8 dan Tabel 4. Senyawa penyusun mengalami penurunan menjadi 4 komponen, kembali seperti penyusun minyak cengkeh awal (tanpa fermentasi). Komposisi eugenol campuran menurun menjadi 75%, lebih tinggi daripada tanpa fermentasi. Namun, *yield* minyak cengkeh pada 8 hari paling tinggi yaitu 1,62% sehingga dengan jumlah senyawa yang lebih sedikit dibanding 4 dan 6 hari, selektivitas eugenol menjadi semakin meningkat.

Hasil analisa dengan GC-MS minyak atsiri daun cengkeh dengan *pretreatment* fermentasi selama 12 hari dapat dilihat pada Gambar 9 dan Tabel 5. Minyak daun cengkeh yang didapat dari proses fermentasi selama 12 hari mengandung eugenol campuran total sebesar 67,42% dan *Caryophyllene* total sebesar 29,67%.

Dari hasil GCMS menunjukkan bahwa fermentasi hari ke 8 merupakan kondisi paling optimal karena *yield*-nya serta selektivitasnya paling tinggi. Fermentasi lebih dari 8 hari justru menurunkan

komponen eugenol serta meningkatkan senyawa penyusun yang menyebabkan turunnya selektivitas.



Gambar 9. Kromatogram minyak daun cengkeh 12 hari fermentasi

Tabel 5. Komponen minyak daun cengkeh 12 hari fermentasi

Peak	Senyawa	Formula	tR (menit)	% Area
1	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	9,854	25,88
2	Eugenol Acetat β-Caryophyllene Trans-β-Caryophyllene	C ₁₂ H ₁₄ O ₃ C ₁₅ H ₂₄ C ₁₅ H ₂₄	11,832	10,48
3	1,3,4-Eugenol 1,3,4-Eugenol Acetat	C ₁₀ H ₁₂ O ₂ C ₁₂ H ₁₄ O ₃	12,639	28,93
4	1,3,7-octatriene-3,7-dimethyl 3,7-dimethyl-2,6-octadienyl acetat	C ₁₀ H ₁₆ C ₁₂ H ₂₀ O ₂	12,742	1,20
5	Tidak Teridentifikasi	-	12,897	0,12
6	1,3,4-Eugenol 1,3,4-Eugenol Acetat	C ₁₀ H ₁₂ O ₂ C ₁₂ H ₁₄ O ₃	13,364	12,61
7	β-Caryophyllene Trans-β-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄ C ₁₅ H ₂₄	13,788	10,95
8	β-Caryophyllene Trans-β-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄ C ₁₅ H ₂₄	14,085	0,70
9	β-Caryophyllene Trans-β-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄ C ₁₅ H ₂₄	14,381	7,54
10	4-Isopropenyl-1-methyl-1-cyclohexane	C ₁₀ H ₁₆	14,826	0,62
11	Tidak Teridentifikasi	-	15,654	0,35
12	Tidak Teridentifikasi	-	16,405	0,39
13	Tidak Teridentifikasi	-	16,605	0,23

KESIMPULAN

Fermentasi sebagai *pretreatment* terbukti dapat meningkatkan *yield* minyak daun cengkeh sebesar ± 55–184%. *Yield* meningkat seiring dengan lama waktu fermentasi sampai pada hari ke-8 kemudian menurun sampai hari ke-12. *Yield* tertinggi dihasilkan melalui proses fermentasi selama 8 dengan *yield* sebesar 1,62% atau meningkat 2,8 kali lipat dibandingkan minyak daun cengkeh yang diperoleh tanpa melalui proses fermentasi.

DAFTAR PUSTAKA

Aderemi, B.O., Abu, E., dan Highina, B.K. (2008). The Kinetics of Glucose Production from Rice Straw by *Aspergillus niger*. *African Journal of Biotechnology*, 7(11), 1745-1752.

- Bergquist, P., Te'o, V., Gibbs, M., Cziferszky, A., de Faria, F., Azevedo, M. dan Nevalainen, H. (2002). Expression of xylanase enzymes from thermophilic microorganisms in fungal hosts. *Extremophiles*, 6, 177-184.
- Arifin, Rb.M. dan Wicaksono, K.A.B. (2016). Upaya Peningkatan Rendemen Ekstraksi Minyak Daun Cengkeh (*Syzygium Aromaticum*) Menggunakan Metode Fermentasi dengan *Aspergillus niger*. *Skripsi*. Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya, Malang.
- Chandra, W., Jayuska, A., dan Alimudin, A. (2015). Peningkatan Rendemen Minyak Atsiri Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan Metode Delignifikasi dan Fermentasi. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4, 15-20
- Dashtban, M., Schraft, H., dan Qin, W. (2009). Fungal Bioconversion of Lignocellulosic Residues; Opportunities & Perspectives. *International Journal Biological Science*, 5, 578-595.
- Ghorbani, F., Karimi, M., Biria, D., Kariminia, H.R. dan Jeihanipour, A. (2015). Enhancement of Fungal Delignification of Rice Straw by Trichoderma. *Biochemical Engineering Journal*, 101, 77-84.
- Guenther, E. (1948). *The Essential Oils*. New York, USA: D. Van Nostrand Company, Inc.
- Jayanudin (2011). Komposisi Kimia Minyak Atsiri Daun Cengkeh dari Proses Penyulingan Uap. *Jurnal Teknik Kimia Indonesia*, 10, 37-42
- Nathan, V.K., Rani, M.E., Rathinasamy, G., Dhiraviam, K.N. dan Jayavel S. (2014). Process optimization anproduction kinetics for cellulase production by *Trichoderma viride* VKF3. *Springerplus*, 3, 92-104.
- Sarjono, P.R., Mulyani, S.N., dan Setyani, W.S. (2012). Kadar glukosa dari hidrolisis selulosa pada eceng gondok menggunakan *Trichoderma viride* dengan variasi temperatur dan waktu fermentasi. *Molekul*, 7(2), 163-171.