

Abstract. *Walnut is a native plant of Indonesia that grows a lot in eastern Indonesia, such as North Sulawesi, Maluku and the island of Seram. Walnut shells contain phenolic compounds which are natural antioxidants. Phenolic compounds are used as preservatives because phenol can scavenge free radicals. The color contained by walnut shells may be an alternative to fungal microscopic test staining. This study aims to see the fungus on alternative coloring of walnut shells by using a microscopic test. The method used in this research is descriptive with an experimental approach. The results of the study identified as many as 3 samples (100%) *Candida albicans* and 3 samples (100%) *Aspergillus niger* in the filtrate by heating treatment, as well as 3 samples (100%) *Candida albicans* and 3 samples (100%) *Aspergillus niger* in the filtrate with treatment without heating. Microscopic observations of *Candida albicans* and *Aspergillus niger* fungi, appeared more clearly and stained with the use of alternative coloring filtrate of walnut shell filtrate with the heating process. Conclusion : Alternative staining with walnut shell filtrate can be used to color *Candida albicans* and *Aspergillus niger* fungi. The filtrate by heating is more effective in the microscopic examination of fungi.*

Keywords: *walnut shell, alternative coloring, candida albicans, aspergillus niger*

Erpi Nurdin

Politeknik Kesehatan Kemenkes
Ternate
Indonesia

Pewarnaan Alternatif dengan Menggunakan Filtrat Kulit Kenari pada Uji Mikroskopik Jamur *Candida Albicans* dan *Aspergillus Niger*

Erpi Nurdin

Abstrak. *Kenari merupakan tanaman asli Indonesia yang banyak tumbuh di daerah Indonesia bagian timur, seperti Sulawesi Utara, Maluku dan pulau Seram. Kulit kenari mengandung senyawa fenolik yang merupakan antioksidasi alami. Senyawa fenolik dipakai sebagai zat pengawet karena fenol dapat menangkap radikal bebas. Warna yang di kandung oleh kulit kenari memungkinkan sebagai alternatif pada pewarnaan uji mikroskopik jamur. Penelitian ini bertujuan Untuk melihat jamur pada pewarnaan alternatif kulit kenari dengan menggunakan uji mikroskopik. Metode yang digunakan dalam penelitian ini yaitu deskriptif dengan pendekatan eksperimen. Hasil penelitian diidentifikasi sebanyak 3 sampel (100%) *Candida albicans* dan 3 sampel (100%) *Aspergillus niger* pada filtrat dengan perlakuan pemanasan, begitu pula 3 sampel (100%) *Candida albicans* dan 3 sampel (100%) *Aspergillus niger* pada filtrat dengan perlakuan tanpa pemanasan. Pengamatan mikroskopik jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*, tampak lebih jelas dan terwarnai pada penggunaan filtrat pewarnaan alternatif filtrat kulit kenari dengan proses pemanasan. Kesimpulan : Pewarnaan alternatif dengan filtrat kulit kenari dapat di gunakan dalam mewarnai jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Filtrat dengan pemanasan lebih efektif pada uji mikroskopik jamur.*

Kata Kunci: *kulit kenari, pewarnaan alternatif, candida albicans, aspergillus niger*

Pendahuluan

Kenari merupakan tanaman khas dari wilayah Maluku dan Papua. Tanaman kenari merupakan tanaman dari kehutanan yang memiliki banyak manfaat mulai dari daun, batang, dan buahnya. Di Indonesia yang dimanfaatkan oleh masyarakat sekitar merupakan biji dari kenari sebagai bahan makanan. Makanan yang mengandung biji kenari digemari karena kontribusi protein dan lemaknya. Selain itu kenari pun dilansir merupakan jenis kacang-kacangan yang bijinya memiliki kandungan antioksidan yang dapat mengurangi risiko penyakit jantung korener (Widajati, 2013). Ada dua spesies kenari di Indonesia yaitu *Canarium vulgaree* Leenh dan *Canarium indicum* Leenh. *Canarium vulgaree* Leenh banyak terdapat di Sangihe, Talaud, Sulawesi, Flores, Maluku, dan Maluku Utara, sedangkan *Canarium indicum* Leenh banyak terdapat di Sulawesi, Maluku, dan Maluku Utara (M. Kasim dkk, 2019). Kacang kenari (*Canarium Inidium L.*) merupakan tanaman asli indonesia bagian timur dan merupakan sumber pangan yang dapat dimanfaatkan. Bijinya dimanfaatkan dalam pembuatan kue sebagai bahan tambahan dan dikonsumsi sebagai cemilan. Pengolahan kacang kenari sebelum dikonsumsi adalah dengan cara penyangraian atau penggorengan, hal ini dilakukan

untuk menghasilkan aroma dan rasa yang khas dari kacang kenari. Kacang kenari memiliki rasa gurih, aroma yang khas serta memiliki tekstur yang renyah. Dalam bidang pangan, biji kacang kenari dimanfaatkan untuk bahan pelengkap pembuatan roti, *ice cream*, salad, puding, topping untuk kue, dan lain-lain (Djarkasi, 2017).

Menurut Djarkasi dkk (2011) buah kenari spesies *Canarium indicium* dan Spesies *Canarium Vulgare* mengandung senyawa fenolik, karotenoid mengandung senyawa flavonoid. Kulit ari kenari, mengandung senyawa fenolik yang merupakan antioksidasi alami. Senyawa fenolik dapat dipakai sebagai zat pengawet karena fenol dapat menangkap radikal bebas. Spesies kenari ini banyak dituliskan sebagai kenari yang berasal dari kawasan timur Indonesia dan dimanfaatkan sebagai salah satu sumber pangan lokal (Mogana, R., & Wiart, C., 2011).

Pengamatan mikroskopik pada jamur sangat penting, yakni untuk melihat morfologi dari jamur. Pengamatan mikroskopik jamur berperan dalam mengkonfirmasi pengamatan makroskopik dalam penentuan spesies jamur. Zat warna yang digunakan di laboratoriumnya umumnya merupakan bahan kimia seperti KOH, metilen blue, dan lactofenol yang tidak ramah lingkungan dan harganya juga cukup mahal, sehingga perlu dikembangkan pewarna alternatif yang ramah lingkungan, bahan recycle yakni kulit kenari, dan mudah di dapatkan untuk dikembangkan sebagai pewarnaan mikroskopik jamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji pemanfaatan kulit kenari sebagai formulasi pewarna alternatif dalam pengamatan mikroskopik jamur, khususnya *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.

Metode Penelitian

Latar Belakang Umum Penelitian

Jenis Penelitian ini yaitu deskriptif dengan pendekatan eksperimental, yang bertujuan untuk melihat pemanfaatan kulit kenari sebagai filtrat pewarna alternatif dalam pengamatan mikroskopik jamur, khususnya *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Pelaksanaan penelitian berlangsung pada Maret - Juli 2021. Lokasi pengambilan sampel kenari di Kota Ternate. Sampel kenari yang diperoleh, dilakukan pengupasan hingga diperoleh kulitnya. Penelitian dengan tahapan eksperimental dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Poltekkes Kemenkes Ternate

Sampel Penelitian

Sampel penelitian adalah kulit kenari yang diperoleh dari pengupasan kacang kenari. Kulit kenari dibuat menjadi filtrat dengan metode pemanasan dan tanpa pemanasan. Filtrat yang dihasilkan dibalurkan ke atas preparat *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.

Instrumen dan Prosedur

Alat dan bahan yang digunakan berupa mikroskop, *hot plate*, ose, objek gelas, pipet tetes, cawan petri, gelas kimia, aquadest, alkohol 95%, Kulit kenari, Isolasi *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.

Adapun Prosedur kerja penelitian ini yakni Pembuatan filtrat kulit kenari dengan tanpa pemanasan. Kulit kenari yang dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 10-gram lalu ditambahkan aquadest 50 mL dan etanol 95% sebanyak 50 mL kemudian diaduk dengan menggunakan pengaduk stirrer selama satu jam. Hasil rendaman kemudian disaring dan didapat filtrat hasil rendaman. Selanjutnya, pembuatan filtrat kulit kenari dengan pemanasan. Kulit kenari yang dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 10 gram lalu ditambahkan aquadest 50 mL kemudian dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* pada suhu 105 °C. Setelah proses pemanasan selesai, kemudian didinginkan dan ditambahkan etanol 95% sebanyak 50 mL, kemudian diaduk dengan menggunakan pengaduk stirrer selama satu jam

kemudian disaring untuk menghasilkan filtrat. Kemudian, Pembuatan preparat *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* serta proses pengecatan. Diambil 1 sangkelit biakan *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* pada cawan petri berbeda ke atas *object glass* dan dilakukan fiksasi diatas lidah api bunsen. Kemudian, dilumurkan 2 tetes filtrat kulit kenari pada kedua preparate tersebut dan didiamkan selama 5 menit. Setelah itu, tutup preparate dengan objek gelas. Proses selanjutnya diamati di bawah mikroskop dengan pembesaran 400x atau 1000x dengan penambahan oil emersi. Pengamatan preparate dilakukan triplo (tiga kali pengulangan) pada setiap filtrat kulit kenari dan spesies jamur.

Analisis Data

Data penelitian disajikan dalam bentuk tabel untuk melihat hasil Pemeriksaan mikroskopik pada jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Didalam tabel akan dideskripsikan kemampuan filtrat dalam mewarnai badan jamur secara visual pada preparate jamur yang dibuat secara triplo sehingga bisa dikenali dengan bentuk morfologi *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*.

Hasil dan Pembahasan

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Mikroskopik Pada Jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*

| No. | Filtrat Kulit Kenari | Visualisasi Mikroskopis (preparat) | | Visualisasi |
|-----|---------------------------------------|------------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | | <i>Aspergillus niger</i> | <i>Candida albicans</i> | |
| 1. | Filtrat Kulit Kenari dengan Pemanasan | 3(100%) | 3(100%) | Jelas, kuning kecoklatan |
| 2. | Filtrat Kulit Kenari tanpa Pemanasan | 3(100%) | 3(100%) | Jelas, kuning muda |

(Sumber : Data Primer, 2021)

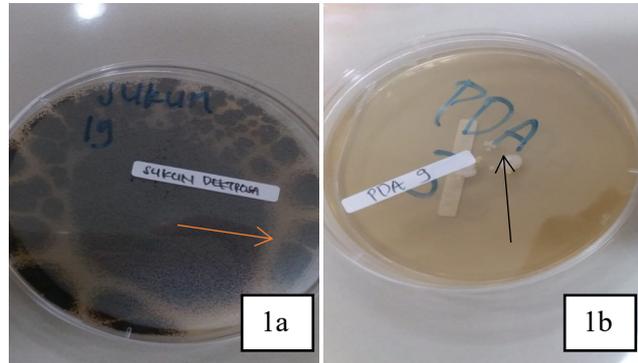
Pada Tabel 1 menunjukkan ke dua jenis filtrat kulit kenari, baik yang dipanaskan ataupun tanpa pemanasan. Kedua filtrat ini, mampu mewarnai badan jamur pada ke tiga preparate secara triplo. Secara visualisasi, filtrat kulit kenari dengan pemanasan terlihat berwarna lebih pekat, hingga proses pewarnaan berlangsung lebih maksimal.

Tabel 2. Mofologi Pada Jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* dengan Menggunakan Filtrat Kulit Kenari

| No. | Filtrat Kulit Kenari | Morfologi Mikroskopik | |
|-----|---------------------------------------|---|--|
| | | <i>Aspergillus niger</i> | <i>Candida albicans</i> |
| 1. | Filtrat Kulit Kenari dengan Pemanasan | Kepala konidia biserial, berphialids dan memiliki matula tampak | <i>Budding spherical</i> dari <i>ovoid blastoconidia</i> |
| 2. | Filtrat Kulit Kenari tanpa Pemanasan | Kepala konidia biserial, berphialids dan memiliki matula tampak jelas | <i>blastoconidia budding</i> dari <i>pseudohyphae</i> . |
| 3 | Makroskopik isolat | Pinggiran Putih atau kuning, lapisan dalam berwarna coklat kehitaman dan berfilamen | Koloni putih hingga krem, permukaan halus, koloni lunak |

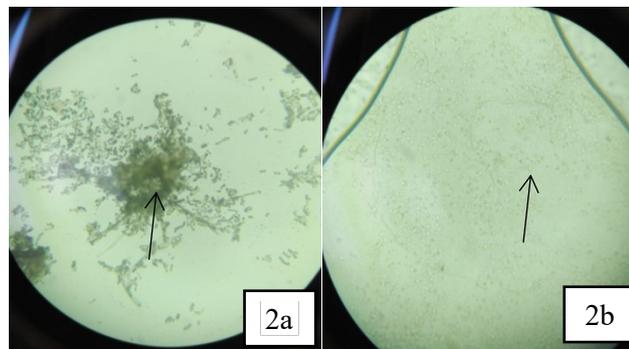
(Sumber: Data Primer, 2021)

Pada Tabel 2, Nampak morfologi pada jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* dengan menggunakan filtrat Kulit Kenari, di mana dengan terlihat pengamatan makroskopis dan mikroskopis.



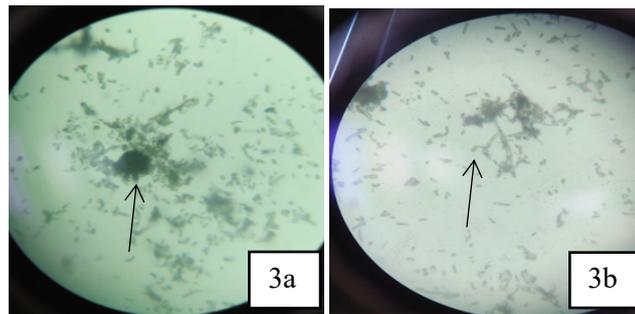
Gambar 1. Hasil Pengamatan Makroskopis Jamur: (1a) *Aspergillus niger*; (1b) *Candida albicans*

Pada gambar 1, terlihat morfologi makroskopis *Aspergillus niger* yang berwarna coklat kehitaman dengan pinggiran putih serta berfilamen. Pada isolat *Candida albicans* Nampak berwarna putih, berlendir, dan halus.



Gambar 2. Pengamatan Mikroskopik Jamur yang Telah Diwarnai dengan Pewarna Alternatif Filtrat Kulit Kenari dengan Pemanasan: (2a) *Aspergillus niger*; (2b) *Candida albicans*

Pada gambar 2, terlihat Pengamatan mikroskopik jamur yang telah diwarnai dengan pewarna alternatif filtrat kulit kenari dengan pemanasan. Untuk preparat yang berisi *Aspergillus niger* tampak berwarna kuning kecoklatan, dan *Candida albicans* tampak sebagai *Budding spherical* dari *ovoid blastoconidia* yang berwarna kuning kecoklatan.



Gambar 3. Pengamatan Mikroskopik Jamur yang Telah Diwarnai dengan Pewarna Alternatif Filtrat Kulit Kenari dengan Tanpa Pemanasan: (3a) *Aspergillus niger*; (3b) *Candida albicans*

Pada gambar 3, terlihat Pengamatan mikroskopik jamur yang telah diwarnai dengan pewarna alternatif filtrat kulit kenari dengan tanpa pemanasan. Untuk preparat yang berisi *Aspergillus niger* tampak terwarna kuning muda, dan *Candida albicans* tampak sebagai *blastoconidia budding* dari *pseudohyphae* yang berwarna kuning muda.

Pembahasan

Pewarnaan merupakan teknik penting yang digunakan dalam pengamatan mikroskopik untuk meningkatkan kontras dalam gambar mikroskopis. Cat warna digunakan untuk melihat struktur dalam spesimen klinis, dengan bantuan mikroskop. Setiap cat memiliki afinitas yang berbeda untuk mengikat sel mikroorganisme khususnya jamur dengan tujuan untuk menentukan spesies tertentu melalui morfologi jamur. (Alimsardjono, I., 2015)

Durasi setiap pemberian cat bervariasi tergantung pada konsentrasi dan formulasi larutan pewarna dan reagen lainnya. Membutuhkan eksperimental waktu paparan yang tepat untuk menghasilkan kontras warna yang sesuai pada badan sel jamur. (Jawetz, 2016)

Buah kenari mengandung flavonoid, tanin, yang bersifat antibakteri (Mogana, R., & Wiart, C., 2011). Buah kenari spesies *Canarium indicum* dan spesies *Canarium vulgare* diketahui mengandung senyawa fenolik, karotenoid dan tokoferol (Djarkasi dkk, 2011). Karotenoid merupakan Senyawa kimia alami yang merupakan pigmen berwarna kuning-oranye-merah (Rymbai, 2011).

Kulit kenari diperoleh dengan cara mengupas ari kacang kenari. Adanya perendaman dan perlakuan pemanasan membuat zat warna dari kulit kenari berupa kandungan karotenoid membentuk kompleks warna kuning kecoklatan sebagai filtrat. Kulit kenari yang digunakan cukup kering, yang diperoleh dari pasar tradisional Kota Ternate.

Hasil penelitian menyajikan pengamatan makroskopis jamur baik pada jamur *Candida albicans* maupun *Aspergillus niger*. Berdasarkan hasil pemeriksaan mikroskopik, diperlihatkan bahwa pada perwarnaan jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* baik filtrat yang menggunakan perlakuan pemsanan maupun tanpa pemanasan menunjukkan hasil yang hampir sama, dimana masing-masing 3 (100%) pada pewarnaan *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* menunjukkan bentuk morfologi jelas, warna kuning kecoklatan oleh filtrat kulit kenari dengan pemanasan dan bentuk morfologi jelas, warna kuning muda pada filtrat kulit kenari dengan tanpa pemanasan, data tersebut seperti yang diperlihatkan pada tabel 1. Warna kuning kecoklatan dan kuning muda merupakan pigmen karotenoid yang terkandung pada buah kenari. (Djasibani, H. R, 2018).

Berdasarkan pengamatan ini dapat diidentifikasi bahwa pada proses pemanasan membuat konsentrasi filtrat lebih pekat dibandingkan dengan tanpa pemanasan. Karena dengan pemanasan membutuhkan waktu yang lebih singkat untuk menghasilkan filtrat dibandingkan tanpa pemanasan. Semakin pekat, badan jamur lebih maksimal terwarnai, seperti diperlihatkan

pada gambar 2 dan gambar 3. Pada filtrat tanpa pemanasan dihasilkan konsentrasi yang cukup pekat. Sehingga badan jamur yang terwarnai tidak lebih jelas dibandingkan dengan proses pemanasan. Warna kuning kecoklatan dan kuning muda pada badan jamur berasal dari senyawa karetenoid dalam hal ini dapat ditemukan pada filtrat dengan pemanasan maupun tanpa pemanasan (Djasibani, H. R, 2018).

Morfologi pada jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* dengan menggunakan filtrat Kulit Kenari, di mana dengan terlihat pengamatan makroskopis dan mikroskopis jamur. Morfologi makroskopis *Aspergillus niger* yang berwarna coklat kehitaman dengan pinggiran putih serta memiliki filamen. Pada isolat *Candida albicans* nampak berwarna putih, berlendir, dan halus. Pengamatan mikroskopik jamur yang telah diwarnai dengan pewarna alternatif dari filtrat kulit kenari dengan pemanasan. Untuk preparat yang berisi *Aspergillus niger* tampak terwarnai kuning kecoklatan, dan *Candida albicans* tampak sebagai *Budding spherical* dari *ovoid blastoconidia* yang berwarna kuning kecoklatan. Pengamatan mikroskopik jamur yang telah diwarnai dengan pewarna alternatif filtrat kulit kenari dengan tanpa pemanasan. Untuk preparat yang berisi *Aspergillus niger* tampak terwarnai kuning muda, dan *Candida albicans* tampak sebagai *blastoconidia budding* dari pseudohyphae yang berwarna kuning muda. (Kidd, S., 2016)

Kultur murni isolat jamur diidentifikasi berdasarkan ciri-ciri makroskopis dan mikroskopisnya. Ciri-ciri makroskopis diidentifikasi berdasarkan karakter koloni seperti: warna dan permukaan koloni, garis-garis radial dari pusat koloni ke arah tepi koloni, serta lingkaran-lingkaran konsentris koloni. Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan cara mengambil biakan murni jamur secara aseptis menggunakan jarum preparat dan diletakkan di atas permukaan object glass, lalu diberi pewarna seperti lactophenol cotton blue, KOH, metilen blue, untuk membantu mengamati struktur mikroskopisnya. Setelah itu, preparat ditutup dengan cover glass dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x untuk melihat seluruh struktur jamur secara utuh dan menyeluruh. Pengamatan dengan pembesaran lebih seperti 1000x dengan oil emersi memungkinkan bisa di set, dengan tujuan ingin melihat struktur makroskopis jamur lebih detail. Ciri-ciri mikroskopis yang diamati meliputi struktur hifa dan struktur reproduksi. Identifikasi jamur secara mikroskopik ini, memungkinkan untuk digunakan filtrat kulit kenari sebagai cat alternatif jamur. (Jawetz, 2016; Jawetz, 2019).

Disamping adanya oprimalisasi menggunakan pewarna alternatif menggunakan zat warna alami, Laktofenol Cotton Blue (LCB) adalah metode pewarnaan yang banyak digunakan dan mengamati jamur. Persiapannya memiliki tiga komponen: fenol, yang akan merusak dinding sel jamur; asam laktat yang mengawetkan struktur jamur, dan kapas biru yang menodai kitin di dinding sel jamur. KOH memiliki efektifitas sebesar 65,5% untuk mewarnai tubuh jamur. Deteksi mikroskopis langsung dari patogen jamur memiliki nilai besar dalam pemeriksaan mikologi rutin. Terutama dalam kasus mikosis oportunistik, isolat yang ditanam pada kultur sering memerlukan konfirmasi mikroskopis langsung untuk mengesampingkan kemungkinan kontaminasi laboratorium. KOH, dalam berbagai konsentrasi, telah digunakan sebagai agen keratolitik untuk menunjukkan jamur dalam jaringan. Namun, itu tidak menodai elemen jamur. Akibatnya, elemen jamur semi-transparan halus tidak bisa diidentifikasi. Di sisi lain, serat kolagen, matriks jaringan, vesikel lipid, gelembung, dan serat tekstil seringkali sulit dibedakan dari jamur. Beberapa penulis telah melaporkan sensitivitas dan spesifisitas yang rendah dari KOH adalah 65,6% dan 93,9%. (Shamly, V., 2014)

Zat warna alternatif filtrat dari kulit kenari bisa di gunakan untuk mewarnai badan jamur untuk pengamatan mikroskopik jamur. Perlakuan triplo pada setiap filtrat dan spesies jamur, untuk memastikan badan jamur dapat terwarnai oleh pewarna alternatif filtrat kulit kenari. Keterbatasan pada penelitian ini, reagen pewarna alternatif berupa filtrat kulit kenari masih di buat fresh, dan memerlukan penelitian lebih lanjut terkait stabilitas daya simpan reagen.

Pewarnaan alternatif filtrat kulit kenari saat ini digunakan dalam pewarnaan isolat jamur, yaitu *Aspergillus niger* dan *Candida albicans*. Zat warna pada proses pengecatan di laboratorium medis, tidak hanya menggunakan isolat namun beberapa jaringan spesimen manusia seperti

sputum, darah, urine, jaringan organ, kerokan kepala dan kulit (Jawetz, 2013). Membutuhkan eksperimen untuk menguji efektivitas dari pewarna alternatif dalam mewarnai badan jamur di dalam jaringan atau spesimen secara langsung.

Kesimpulan

Hasil penelitian diidentifikasi sebanyak 3 sampel (100%) *Candida albicans* dan 3 sampel (100%) *Aspergillus niger* pada filtrat dengan pemanasan, begitu pula 3 sampel (100%) *Candida albicans* dan 3 sampel (100%) *Aspergillus niger* pada filtrat dengan tanpa pemanasan. Pengamatan mikroskopik jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*, tampak lebih jelas dan terwarnai pada penggunaan filtrat pewarnaan alternatif kulit kenari dengan pemanasan. Pewarnaan alternatif dengan filtrat kenari dapat digunakan dalam mewarnai jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Filtrat dengan pemanasan lebih efektif pada uji mikroskopik jamur.

Referensi

- Alimsardjono, I., & Budi, P., (2015). *Pemeriksaan Mikrobiologi pada Penyakit Infeksi. Fakultas Kedokteran Airlangga*. Sagung Seto. Jakarta.
- Djarkasi, G. S. S., Nurali, E. J. N., Sumual, M. F., & Lalujan, L. E. (2011). Analysis of bioactive compound in Canarium nut (*Canarium indicum* L). *Skripsi*. Universitas Sam Ratulangi in cooperation with USAID–Texas A&M University.
- Djarkasi, G. S., Raharjo, S., & Noor, Z. (2017). Isolasi dan Akitivitas Spesifik Enzim Lipase Indigenous Biji Kenari. *Jurnal Teknologi Pertanian (Agricultural Technology Journal)*. 8 (1).
- Djasibani, H. R., Djarkasi, G. S., & Suryanto, E. (2018). Kandungan Fenolik dan Aktifitas Antioksidan Ekstrak kulit ari (*Canarium vulgare* sp.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 1 (1), 1-6.
- Kidd, S., Ellis, D., Alexiou, H., & Hallidat, C., (2016). *Description of Medical Fungi. Third Edition. Pfizer Australia for an unrestricted educational grant to the Australian and New Zealand Mycology Interest*. Australia.
- Mogana, R., & Wiart, C. (2011). *Canarium L.: A Phytochemical and Pharmacological Review*. *J Pharm Res*. 4 (8), 2482-2489.
- Rymbai, H., Sharma, R. R., & Srivastav, M. (2011). Bio-colorants and its implications in health and food industry—a review. *International Journal of Pharmacological Research*. 3 (4), 2228-2244.
- Shamly, V., Kali, A., Srirangaraj, S., Umadevi, S. (2014). *Comparison of Microscopic Morphology of Fungi Using Lactophenol Cotton Blue (LPCB), Iodine Glycerol and Congo Red Formaldehyde Staining*. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 8 (7), DL01-DL02.

| | |
|--------------------|--|
| Erpi Nurdin | Dosen, Jurusan Teknologi Laboratorium Medis Politeknik Kesehatan Kemenkes Ternate, Kota Ternate, Provinsi Maluku Utara, Indonesia E-mail : erpinurdin88@gmail.com |
|--------------------|--|