

**EKSTRAKSI BIJI JERUK *Citrus limon* SERTA
IDENTIFIKASI AKTIVITAS ANTIBAKTERIA PADA
Staphylococcus aureus DAN *Escherichia coli***

CHE18465004 Penelitian

Disusun untuk memenuhi tugas akhir guna mencapai gelar sarjana di bidang ilmu Teknik
Kimia

oleh:

Hana Nukita Risvandi

(6141901072)

Pembimbing:

Ratna Frida Susanti, PhD.



PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK KIMIA

FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI

UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN

2023

LEMBAR PENGESAHAN

Nama : Hana Nukita Risvandi
NPM : 6141901072
Judul : Ekstraksi Biji Jeruk *Citrus limon* serta Identifikasi Aktivitas Antibakteria pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

CATATAN :

Telah diperiksa dan disetujui,
Bandung, 25 Agustus 2023

Pembimbing



Ratna Frida Susanti, PhD.



PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN

LEMBAR REVISI

Nama : Hana Nukita Risvandi
NPM : 6141901072
Judul : Ekstraksi Biji Jeruk *Citrus limon* serta Identifikasi Aktivitas Antibakteria pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

CATATAN :

1. Tambahkan tabel perbandingan hasil variasi metode untuk melihat senyawa antibakterinya.
2. Pertajam bagian tujuan, hipotesis, dan kesimpulan dengan membandingkan keempat metode yang digunakan.
3. Perbaiki format, bagian kosong, tabel, dan daftar pustaka.
4. Menambahkan penjelasan pada bagian pembahasan mengenai senyawa yang terekstrak dan kemampuan antibakterinya.
5. Menambahkan penjelasan terkait metode konvensional yang tidak menunjukkan hasil antibakteri, dengan ditekankan pada data GC-MS yang diperoleh
6. Memperbaiki konten dan mempertajam makna dalam intisari, serta penambahan tujuan.

Telah diperiksa dan disetujui,

Bandung, 25 Agustus 2023

Penguji 1

Ir. Y.I.P Arry Miryanti, M.Si.

Penguji 2

Anastasia Prima Kristijarti, S.Si., M.T.



PROGRAM STUDI SARJANA TEKNIK KIMIA
FAKULTAS TEKNOLOGI INDUSTRI
UNIVERSITAS KATOLIK PARAHYANGAN

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Hana Nukita Risvandi

NPM : 6141901072

Dengan ini menyatakan bahwa penelitian dengan judul:

**EKSTRAKSI BIJI JERUK *Citrus limon* SERTA IDENTIFIKASI AKTIVITAS
ANTIBAKTERIA PADA *Staphylococcus aureus* DAN *Escherichia coli***

adalah hasil pekerjaan saya dan seluruh ide, pendapat atau materi dari sumber lain telah dikutip dengan cara penulisan referensi yang sesuai.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya dan jika pernyataan ini tidak sesuai dengan kenyataan, maka saya bersedia menanggung sanksi sesuai dengan peraturan yang berlaku.

Bandung, 23 Agustus 2023



INTISARI

Jeruk termasuk ke dalam famili *Rutaceae* merupakan komoditas buah terbesar ketiga yang ditanam dan dihasilkan di Indonesia, dengan nilai produksi mencapai 2,5 juta ton buah. Buah ini banyak kaya akan kandungan antioksidan, vitamin, mineral, dan lainnya yang umumnya diolah buah dan kulitnya saja. Hal tersebut menyebabkan kemungkinan penambahan limbah pada bagian jeruk lain yang tidak dapat dikonsumsi atau diolah secara langsung, yaitu biji.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji manfaat lain dalam biji jeruk agar menjadi suatu produk fungsional dengan identifikasi masalah yang lebih luas, seperti kemampuannya sebagai antibakteri dan senyawa lain yang terkandung di dalamnya. Penelitian ini dilakukan menggunakan biji jeruk *Citrus limon* untuk mempelajari pengaruh variabel metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan terhadap yield ekstrak dan selektivitas senyawa terekstrak dari ekstraksi dengan fluida superkritis CO₂ dan subkritis air dengan ekstraksi pembanding konvensional menggunakan Soxhlet. Selain itu, pengaruh dari variasi tersebut akan diidentifikasi pengaruhnya terhadap efektivitas ekstrak sebagai antibakteri.

Untuk mendapatkan ekstrak dan mengisolasi senyawa non-polar dalam biji jeruk *Citrus limon*, digunakan metode yang termasuk ke dalam alternatif aplikasi *green solvent* yaitu fluida superkritis CO₂ dan subkritis air untuk senyawa yang lebih polar. Prinsip dari ekstraksi fluida superkritis CO₂ adalah menggunakan fluida CO₂ pada kondisi superkritisnya untuk memanfaatkan sifat fisika-kimia pada fluida pelarut berada diantara fasa gas dan cair, sedangkan fluida subkritis air memanfaatkan kondisi operasi di atas titik didih air dengan penggunaan tekanan untuk mempertahankan fasa cairnya. Ekstrak yang diperoleh akan dilakukan analisis terkait senyawa yang terkandung dengan metode GC-MS dan dilakukan uji aktivitas antibakteri pada bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli* menggunakan metode sumuran.

Hasil dari ekstraksi biji *Citrus limon* dengan metode ekstraksi dan pelarut berbeda, menunjukkan yield terbesar diperoleh metode konvensional pelarut methanol (48,85%) dan pelarut heksana (25%), diikuti dengan subkritis air (20,19%), dan superkritis CO₂ (1,22%). pengujian dengan memanfaatkan GC-MS menunjukkan bahwa senyawa yang terekstrak dari biji jeruk *Citrus limon* pada pelarut non-polar mengandung banyak senyawa terpenoid, sedangkan pada pelarut polar mengandung banyak senyawa alkaloid dengan manfaat dari ekstrak yang diperoleh adalah antioksidan, antifungal, antibakteri, dsb. Selain itu, ekstrak biji tersebut efektif menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus Aureus* dan *Escherichia Coli*.

Kata kunci: Antibakteri, *Citrus limon*, ekstraksi fluida superkritis CO₂, ekstraksi fluida subkritis air, Soxhlet.

ABSTRACT

Orange belongs to the *Rutaceae* family and is the third largest fruit commodity grown and produced in Indonesia, with a production value of 2,5 million tons of fruit. This fruit is rich in antioxidants, vitamins, minerals, and other things that are generally processed by the fruit and the skin alone. This leads to the possibility of adding waste to other parts of the orange that cannot be eaten or processed directly, namely seeds.

The aim of this research is to test other benefits in orange seeds to become a functional product with the identification of broader problems, such as its ability as an antibacterial and other compound contained therein. The study was conducted using citrus lemon orange seeds to study the influence of the variable extraction method and solvent used on the extract yield and selectivity of compounds extracted from extraction with supercritical fluids CO₂ and subcritical water with conventional comparator extraction using Soxhlet. In addition, the influence of such variations will be identified its influence on the effectiveness of the extract as an antibacterial.

To extract and isolate non-polar compounds in *Citrus limon* seeds, a method that is used is included in the alternative green solvent applications, i.e. supercritical fluids CO₂ and subcritical water for more polar compound. The principle of supercritical fluid CO₂ extraction is to use CO₂ fluid in its supercritical condition to exploit the physico-chemical properties of the solvent fluid between the gas and liquid phases, whereas subcritical water fluid utilizes the operating conditions on the boiling point of water with the use of pressure to maintain the liquid phase. The extract will be analyzed for the compounds contained in the GC-MS method and tested for antibacterial activity on Gram-positive and Gram-negative bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* using the well-diffusion method.

Results from extraction of citrus seeds with different extraction methods and solvents, showing the highest yields obtained by conventional methods of methanol solvent (48.85%) and hexane solvent (25%), followed by subcritical water (20,19%), and supercritical CO₂ (1,22%). Tests using GC-MS showed that the compounds extracted from *Citrus limon* seeds in non-polar solvents contain a lot of terpenoid compound, whereas in polar solvent contain many alkaloid composites with the benefit of the extract obtained is antioxidant, antifungal, antibacterial, etc. In addition, the seed extract effectively inhibits the growth of bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords: Antibacterial, *Citrus limon*, CO₂ supercritical fluid extraction, water subcritical fluid extraction, Soxhlet.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan laporan penelitian dengan baik. Adapun penelitian ini disusun untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Pendidikan sarjana Strata-1 pada Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknologi Industri, Universitas Katolik Parahyangan, Bandung.

Dalam proses penyusunan laporan penelitian ini, penulis mendapatkan banyak bimbingan, dukungan, arahan, dan bantuan sarana serta informasi dari berbagai pihak guna memperkaya pemahaman dan pengetahuan terkait topik yang diteliti. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada seluruh pihak yang turut mengulurkan tangannya dalam penyusunan penelitian ini, terutama kepada:

1. Ratna Frida Susanti, PhD., selaku dosen pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, dan segala saran yang membangun selama penyusunan laporan penelitian ini.
2. Orang tua dan segenap keluarga yang selalu memberikan segala bentuk dukungan, doa, dan motivasi hingga akhirnya penelitian ini dapat diselesaikan.
3. Sahabat dan teman – teman yang memberikan bantuan dan dukungan semangat untuk menyelesaikan penyusunan laporan penelitian ini.
4. Seluruh pihak yang terlibat secara langsung maupun tidak langsung.

Dengan kerendahan dan ketulusan hati, penulis menyadari kekurangan yang terdapat dalam penyusunan laporan penelitian ini, karena keterbatasan pengetahuan, kemampuan, dan waktu yang ada. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang membangun dan mendorong agar penyusunan laporan penelitian ini dapat menjadi lebih baik kedepannya. Diharapkan laporan penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Bandung, 23 Agustus 2023

Penulis

DAFTAR ISI

LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
SURAT PERNYATAAN.....	iii
LEMBAR REVISI.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
INTISARI.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xv
BAB I.....	1
PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tema Sentral Masalah Penelitian.....	4
1.3 Identifikasi Masalah Penelitian.....	4
1.4 Presmis Masalah Penelitian.....	5
1.5 Hipotesis.....	5
1.6 Tujuan Penelitian.....	5
1.7 Manfaat Penelitian.....	6
BAB II.....	9
TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Ekstraksi.....	9
2.1.1 Ekstraksi Cair – Cair.....	9
2.1.2 Ekstraksi Padat – Cair.....	10
2.1.3 Ekstraktor di Industri.....	11
2.2 Ekstraksi Fluida Superkritis Karbon Dioksida (CO ₂).....	12
2.3 Ekstraksi Statik dan Dinamik Statik Fluida Superkritis.....	15
2.4 Ekstraksi Subkritis Air.....	17
2.5 Sifat Fisika Pelarut Ekstraksi.....	18
2.5.1 Densitas.....	18
2.5.2 Viskositas.....	20

2.5.3	Difusivitas.....	21
2.5.4	Konstanta Dielektrik.....	22
2.5.5	Solubilitas	22
2.6	Faktor Yang Mempengaruhi Proses Ekstraksi.....	23
2.6.1	Jenis Pelarut.....	23
2.6.2	Ukuran Bahan Padat yang Diekstraksi	24
2.6.3	Temperatur dan Tekanan	24
2.6.4	Waktu Ekstraksi.....	25
2.6.5	Kecepatan Pengadukan.....	25
2.6.6	Penggunaan Modifier	25
2.6.7	Rasio Bahan Padat dan Pelarut.....	26
2.7	Jeruk.....	26
2.7.1	Struktur Jeruk	27
2.7.2	Kandungan Jeruk	28
2.8	Terpena dan Terpenoid	29
2.8.1	Sifat Fisika dan Kimia Terpenoid.....	31
2.8.2	Aplikasi Terpenoid	31
2.8.3	Uji Kuantitatif dan Kualitatif Ekstrak	32
2.9	Kemampuan Ekstrak Biji Jeruk sebagai Antibakteria	34
2.9.1	Bakteri Gram-Positif	34
2.9.2	Bakteri Gram-Negatif.....	34
2.9.3	Persamaan Bakteri Gram-Positif dan Gram-Negatif.....	35
2.9.4	Perbedaan Bakteri Gram-Positif dan Gram-Negatif.....	35
2.9.5	Mekanisme Antibakteri	35
2.9.6	Uji Aktivitas Antibakteri	36
2.10	Ekstraksi Biji Jeruk <i>Citrus limon</i>	36
2.10.1	Penelitian Terdahulu.....	37
2.10.2	Penelitian Yang Akan Dilakukan	39
2.10.3	Ekstraksi Pembanding	39
BAB III.....		41
METODE PENELITIAN		41
3.1	Alat dan Bahan Penelitian.....	41
3.1.1	Alat	41

3.1.2	Bahan	42
3.1.3	Rangkaian Alat Superkritis CO ₂	42
3.1.4	Rangkaian Alat Ekstraksi Soxhlet	43
3.2	Metode Penelitian	44
3.2.1	<i>Pretreatment</i>	44
3.2.2	Ekstraksi Biji <i>C. limon</i> dengan Fluida Superkritis CO ₂	45
3.2.3	Ekstraksi Biji <i>C. limon</i> dengan Metode Soxhlet	46
3.2.4	Analisis Kualitatif Ekstrak Biji Jeruk <i>Citrus limon</i>	47
3.2.5	Analisis Kuantitatif Ekstrak Biji Jeruk <i>Citrus limon</i>	47
3.2.6	Preparasi media Nutrient Agar	47
3.2.7	Regenerasi Bakteri dan Pembuatan Suspensi Bakteri.....	47
3.2.8	Analisis Efektivitas Antibakteri Ekstrak Biji <i>C. limon</i> dengan Metode Sumuran	47
3.3	Perhitungan	48
3.3.1	Perhitungan Perolehan Ekstrak.....	48
3.3.2	Perhitungan Efektivitas Antibakteri	48
3.4	Lokasi dan Jadwal Kerja Penelitian.....	49
BAB IV.....		50
PEMBAHASAN.....		50
4.1	Ekstraksi Biji Jeruk <i>Citrus limon</i> dengan Metode Superkritis CO ₂ dan Metode Konvensional Perbandingan	50
4.2	Ekstraksi Biji Jeruk <i>Citrus limon</i> dengan Metode Subkritis Air dan Metode Konvensional Perbandingan	52
4.3	Yield Ekstrak Biji Jeruk <i>Citrus limon</i>	54
4.4	Uji Kandungan Ekstrak Biji Jeruk <i>Citrus limon</i>	56
4.4.1	Perbandingan Pelarut Non-Polar	56
4.4.2	Perbandingan Pelarut Polar	60
4.5	Uji Antibakteri Ekstrak Biji Jeruk <i>Citrus limon</i>	68
4.6	Perbandingan Uji Antibakteri	71
BAB V.....		76
KESIMPULAN DAN SARAN		76
5.1	Kesimpulan	76
5.2	Saran	76

DAFTAR PUSTAKA.....	78
LAMPIRAN A	86
PROSEDUR ANALISIS	86
A.1 Preparasi Media Nutrient Agar	86
A.2 Regenerasi Bakteri.....	87
A.3 Pembuatan Larutan NaCl 0,85%.....	87
A.4 Pembuatan Larutan McFarland 0,05.....	88
A.5 Pembuatan Suspensi Bakteri.....	89
A.6 Uji Efektivitas Antibakteria Ekstrak Biji <i>C. limon</i>	90
LAMPIRAN B.....	91
MATERIAL SAFETY DATA SHEET.....	91
B.1 Gas Karbon Dioksida.....	91
B.2 Gas Nitrogen.....	92
B.3 Heksana.....	93
B.4 Asetonitril	94
B.5 Metanol	94
B.6 Asam Sulfat.....	95
B.7 Barium Klorida	96
B.8 Nutrient Agar	97
B.9 Natrium Klorida 0,85%	97
B.10 Larutan McFarland 0,5	98
B.11 Etanol.....	98
LAMPIRAN C.....	100
DATA PENGAMATAN	100
C.1 Yield Ekstrak	100
C.2 Efektivitas Antibakteri.....	100
C.2.1 Metode Ekstraksi Superkritis CO ₂ (300 bar, 40 °C).....	100
C.2.2 Metode Ekstraksi Soxhlet – Heksana	100
C.2.3 Metode Ekstraksi Subkritis Air (50 bar, 200 °C).....	101
C.2.4 Metode Ekstraksi Soxhlet – Metanol.....	101
LAMPIRAN D	103
ANALISA GC – MS	103

D.1. Kandungan Senyawa dalam Ekstrak Biji <i>Citrus limon</i> dengan Pelarut Non-Polar..	103
D.2. Kandungan Senyawa dalam Ekstrak Biji <i>Citrus limon</i> dengan Pelarut Polar	111
LAMPIRAN E	115
CONTOH PERHITUNGAN	115
E.1 Perhitungan Yield Ekstrak	115
E.2 Perhitungan Daerah Hambat	115
LAMPIRAN F	116
UJI ANTIBAKTERI	116

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Produksi buah di Indonesia tahun 2020 (Badan Pusat Statistik, 2021).	2
Gambar 2.1 Diagram fasa karbon dioksida (McCabe dkk., 1993).	13
Gambar 2.2 Diagram alir ekstraksi fluida superkritis.	15
Gambar 2.3 Skema diagram ekstraksi dinamik (McHugh & Krukoni, 1994).	16
Gambar 2.4 Skema diagram ekstraksi statis (McHugh & Krukoni, 1994).	17
Gambar 2.5 Diagram fasa air (Okajima & Sako, 2014).	18
Gambar 2.6 Densitas dan tekanan isothermal pada karbon dioksida (Cabaço dkk., 2007). ..	19
Gambar 2.7 Densitas air pada variasi tekanan subkritis (Pioro & Mokry, 2011).	20
Gambar 2.8 Viskositas karbon dioksida (Tsar dkk., 2013)	20
Gambar 2.9 Viskositas air (Plaza & Turner, 2015)	21
Gambar 2.10 Difusivitas karbon dioksida (McHugh & Krukoni, 1994).	21
Gambar 2.11 Matriks sampel	26
Gambar 2.12 Struktur jeruk	27
Gambar 2.13 Perbandingan perolehan ekstrak senyawa polar dan non-polar dari kulit dan biji jeruk (Bendaha dkk., 2016).	29
Gambar 2.14 Struktur isoprena.	30
Gambar 2.15 Skema instrumentasi GC-MS (Emwas dkk., 2015).	33
Gambar 3.1 Rangkaian alat ekstraksi fluida superkritis CO ₂	42
Gambar 3.2 Rangkaian alat ekstraksi soxhlet (Melbia.com, 2022).	43
Gambar 3.3 Prosedur pretreatment	44
Gambar 3.4 Prosedur ekstraksi biji <i>C. limon</i> dengan fluida superkritis CO ₂	45
Gambar 3.5 Ekstraksi biji <i>C. limon</i> dengan metode soxhlet	46
Gambar 3.6 Sketsa hasil uji antibakteri dengan metode sumuran	48
Gambar 4.1 Ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode superkritis CO ₂	51
Gambar 4.2 Ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode soxhlet pelarut heksana.	51
Gambar 4.3 Ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode subkritis air sebelum pelarut diuapkan (kiri) dan setelah pelarut diuapkan (kanan)	53
Gambar 4.4 Ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode soxhlet pelarut metanol.	54
Gambar 4.5 Yield ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i>	55
Gambar 4.6 Kromatogram GC-MS ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode superkritis CO ₂	57

Gambar 4.7 Kromatogram GC-MS ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode soxhlet pelarut heksana	58
Gambar 4.8 Kromatogram GC-MS ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode subkritis air	60
Gambar 4.9 Manfaat pada senyawa dalam ekstrak biji <i>Citrus limon</i>	67
Gambar 4.10 Observasi daya hambat ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode subkritis air (kiri) dan superkritis CO ₂ (kanan) pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	68
Gambar A.1 Prosedur pembuatan media Nutrient Agar.....	86
Gambar A.2 Prosedur regenerasi kultur bakteri	87
Gambar A.3 Prosedur pembuatan larutan NaCl 0,85%.....	87
Gambar A.4 Prosedur pembuatan larutan BaCl 1%.....	88
Gambar A.5 Prosedur pembuatan larutan H ₂ SO ₄ 1%.....	88
Gambar A.6 Prosedur pembuatan larutan McFarland 0,5	88
Gambar A.7 Prosedur pembuatan suspensi bakteri	89
Gambar A.8 Prosedur analisis efektivitas antibakteri ekstrak <i>C. limon</i>	90
Gambar F.1 Daya hambat ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode superkritis CO ₂ pada bakteri <i>Escherichia coli</i> (kiri) dan <i>Staphylococcus aureus</i> (kanan)	116
Gambar F.2 Daya hambat ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode soxhlet pelarut heksana pada bakteri <i>Escherichia coli</i> (kiri) dan <i>Staphylococcus aureus</i> (kanan).....	116
Gambar F.3 Daya hambat ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode subkritis air pada bakteri <i>Escherichia coli</i> (kiri) dan <i>Staphylococcus aureus</i> (kanan).....	116
Gambar F.4 Daya hambat ekstrak biji jeruk <i>Citrus limon</i> dengan metode soxhlet pelarut metanol pada bakteri <i>Escherichia coli</i> (kiri) dan <i>Staphylococcus aureus</i> (kanan).....	117

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1 Premis penelitian	7
Tabel 2.1 Pelarut pada ekstraksi cair – cair (Patel dkk., 2019).	10
Tabel 2.2 Karakteristik kinerja peralatan ekstraksi komersial (McCabe dkk., 1993).	12
Tabel 2.3 Properti fisik dari gas, fluida superkritis, dan cair (Harimurti & Sumangat, t.t.).	14
Tabel 2.4 Properti kritis pada berbagai jenis pelarut (Patel dkk., 2019).	24
Tabel 2.5 Pengaruh penambahan etanol terhadap pelarut CO ₂ superkritis (Adil dkk., 2007)	26
Tabel 2.6 Komposisi ekstrak buah C. limon (Klimek-Szczykutowicz dkk., 2020).	28
Tabel 2.7 Klasifikasi terpenoid (Heliawati, 2018)	30
Tabel 2.8 Perbedaan bakteri Gram-positif dan Gram-negatif (Rini & Rochmah, 2020)	35
Tabel 2.9 Klasifikasi efektivitas zat antibakteri (Prayoga, 2013).....	36
Tabel 3.1 Variasi penelitian.....	43
Tabel 3.2 Klasifikasi efektivitas zat antibakteri (Prayoga, 2013).....	49
Tabel 3.3 Jadwal kerja penelitian	49
Tabel 4.1 Yield ekstrak biji jeruk Citrus limon.....	54
Tabel 4.2 Senyawa dengan % Area terbesar pada superkritis CO ₂	57
Tabel 4.3 Senyawa dengan % Area terbesar pada pelarut heksana.....	58
Tabel 4.4 Senyawa yang terekstrak dengan kedua pelarut non-polar	59
Tabel 4.5 Senyawa dengan % Area terbesar pada subkritis air.....	61
Tabel 4.6 Senyawa dalam ekstrak dengan klasifikasi metabolit sekunder.....	63
Tabel 4.7 Daya hambat ekstrak biji jeruk Citrus limon.....	69
Tabel 4.8 Perbandingan senyawa antibakteri pada metode subkritis air dan superkritis CO ₂	74
Tabel 4.9 Perbandingan uji antibakteri.....	75

BAB I

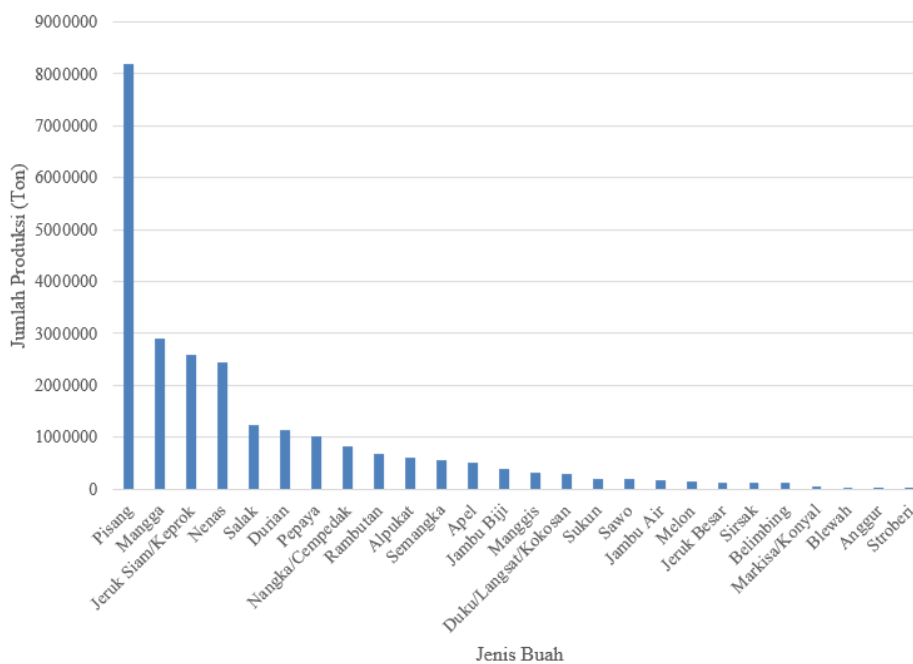
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Genus *Citrus L.* yang tergabung dalam *Rutaceae* famili merupakan varietas buah yang paling banyak dibudidayakan dan diperdagangkan di dunia sebagai tanaman kebun. Tanaman ini banyak dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis, juga di beberapa negara Mediterania. Daerah asal tanaman jeruk diketahui berasal dari Asia Tenggara. Pada zaman dahulu, jeruk tidak hanya digunakan sebagai makanan tetapi juga dalam pengobatan tradisional terhadap banyak keluhan seperti bronkitis, TBC, batuk, pilek, ketidakteraturan menstruasi, hipertensi, kecemasan, depresi, dan stress. Beberapa spesies jeruk yang banyak ditemukan adalah mandarin (*Citrus reticulata*), orange (*Citrus sinensis* (L.)), pomelo (*Citrus maxima* (Burm.)), lemon (*Citrus limon* (L.)), lime (*Citrus aurantiifolia* (Christm.)), citron (*Citrus medica* L.), dan grapefruit (*Citrus paradisi* Macfad.) (Turan & Mammadov, 2021).

Indonesia, sebagai salah satu negara di Asia Tenggara, memiliki tingkat produksi jeruk yang tinggi. Jeruk menjadi komoditas ketiga terbesar, sebagai buah yang ditanam dan dihasilkan di Indonesia setelah pisang dan mangga. Jeruk dapat ditanam mulai dari dataran rendah sampai dataran tinggi dengan usia mulai dapat dipanen pada usia 3 tahun setelah tanam. Tanaman jeruk di Indonesia telah ditanam di lebih dari 57.000 hektar dengan produksi 2,5 juta ton, dengan nilai impornya pada 2019, sebanyak 100 ribu ton (Badan Pusat Statistik, 2020) dengan estimasi 4% dari produksi nasional. Dengan konversi ke luas lahan, nilai impor jeruk Indonesia setara dengan kebun jeruk 4.000 hektar (Hanif, 2020).

Salah satu daerah penghasil jeruk terbesar di Indonesia berada di Jawa Barat. Pada tahun 2015, daerah Kabupaten Bandung Barat menghasilkan setidaknya 183.205 kuintal jeruk dan menempati peringkat kedua setelah Kabupaten Garut dengan produksi sebanyak 254.410 kuintal (Jabar Open Data, 2022).



Gambar 1.1 Produksi buah di Indonesia tahun 2020 (Badan Pusat Statistik, 2021).

Jeruk mengandung vitamin, mineral, serat makanan (polisakarida nonpati), dan senyawa lain yang dapat membantu mengurangi risiko banyak penyakit kronis. Jeruk umumnya dianggap sebagai sumber vitamin C yang baik, tetapi juga mengandung nutrisi penting lainnya, termasuk karbohidrat glikemik dan non-glikemik (gula dan serat), potasium, folat, kalsium, thiamin, niacin, vitamin B6, fosfor, magnesium, tembaga, riboflavin, asam pantotenat dan berbagai fitokimia. Selain itu, jeruk tidak mengandung lemak atau natrium dan, sebagai makanan nabati, tidak mengandung kolesterol. Beberapa kelas fitokimia, termasuk monoterpen, limonoid (triterpen), flavonoid, karotenoid, dan asam hidroksisinamat, terdapat dalam jeruk. Fitokimia yang ditemukan ada dalam jeruk memiliki mekanisme antikarsinogenik yang mungkin termasuk kemampuan antioksidannya, efeknya pada diferensiasi sel, peningkatan aktivitas enzim yang mendetoksifikasi karsinogen, lingkungan kolon yang berubah, dan pemblokiran nitrosamine (Economos & Clay, 1999). Seluruh bagian jeruk dalam cakupan kulit hingga daging buah dapat dikonsumsi, tetapi umumnya biji jeruk menjadi bagian yang tidak dapat dikonsumsi. Biji merupakan bagian nyata dari buah jeruk yang tidak terpakai dan umumnya dianggap sebagai limbah agroindustri, sehingga pemanfaatannya dapat mengurangi masalah pembuangan akhir secara signifikan. Biji jeruk merupakan sumber potensial produk sampingan yang berharga seperti senyawa fenolik, limonoid, karotenoid, dan tokoferol. Biji jeruk mengandung 47% senyawa non-polar seperti terpenoid dan steroid

(Bendaha dkk., 2016). Dimana, biji jeruk dapat digunakan dalam industri makanan, kosmetik, dan farmasi. Dua produk sampingan yang paling penting dari biji jeruk adalah tepung biji (*seed meal*) dan minyak biji. Kandungan minyak biji jeruk berkisar antara 20 dan 40% (w/w), dan sangat bervariasi dengan varietas jeruk tertentu. Literatur mengungkapkan bahwa minyak biji jeruk adalah sumber asam lemak tak jenuh yang baik (Rosa dkk., 2019). Selain itu, pada minyak biji jeruk terkandung flavonoid yang merupakan antioksidan yang berfungsi dalam proses regenerasi sel dan menangkal radikal bebas akibat sinar UV dan terindikasi mengandung senyawa antibakteri yang dapat digunakan dalam industri farmasi dan kedokteran (Ndayishimiye dkk., 2016).

Untuk mengisolasi minyak dari biji jeruk, dapat dilakukan dengan berbagai metode mulai dari variasi penggunaan senyawa polar maupun non-polar, yang bergantung pada senyawa yang akan diisolasi. Salah satu metode yang dapat digunakan adalah ekstraksi dengan fluida superkritis CO₂ (ScCO₂). Ekstraksi ini merupakan alternatif karena teknik pemisahan yang ramah lingkungan dan banyak digunakan untuk mendapatkan minyak dari biji (Rosa dkk., 2019). Ekstraksi fluida superkritis dilakukan dengan menggunakan fluida superkritis sebagai pelarut yang memiliki sifat fluida diantara tipe fasa gas dan cair (Harimurti & Sumangat, t.t.), dimana pelarut ini cocok untuk mengisolasi senyawa yang memiliki sifat cenderung non-polar. Salah satu senyawa yang terdapat dalam biji jeruk adalah terpenoid dengan sifat yang non-polar, sehingga untuk mengisolasinya digunakan fluida superkritis CO₂. Beberapa penelitian terdahulu melakukan ekstraksi dengan fluida ini untuk mengetahui perolehan beberapa senyawa yang berbeda dengan kondisi operasi yang berbeda dan dari jenis-jenis jeruk yang berbeda. Metode lain yang dapat digunakan untuk mengisolasi minyak dari biji jeruk adalah dengan menggunakan ekstraksi subkritis air (SWE) dengan menggunakan pelarut yang dinilai aman, tidak beracun, mudah diperoleh, dan dinilai lebih selektif dibandingkan dengan metode konvensional (Radovanovic, dkk., 2023). Metode SWE memiliki selektivitas yang bergantung pada pengaturan temperatur, sehingga untuk mengisolasi senyawa yang lebih polar hingga non-polar dapat dilakukan dengan metode tersebut dan salah satunya dapat digunakan untuk mengisolasi senyawa terpenoid (Kim dkk., 2022). Pemilihan kedua metode tersebut didasarkan pada solven yang digunakan pada dua metode tersebut termasuk ke dalam “green solvent” atau solven yang bersifat *eco-friendly* dan *sustainable*, dengan efek bahaya yang lebih rendah terhadap lingkungan dan manusia. Dari kedua penelitian tersebut, terdapat hal yang menarik untuk diidentifikasi lebih lanjut terkait dengan senyawa yang terkandung dalam biji jeruk yang

memiliki sifat antibakteri dan korelasinya dengan metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan. Sehingga, penelitian dilakukan guna mengetahui pengaruh metode ekstraksi dan jenis pelarut yang digunakan terhadap yield, selektivitas senyawa, dan efektivitas dari senyawa yang dihasilkan sebagai antibakteri.

1.2 Tema Sentral Masalah Penelitian

Terjadi peningkatan limbah jeruk tidak terolah akibat daya jual yang lemah karena gempuran jeruk impor. Selain itu, pada industri pembuatan minuman yang berbahan dasar jeruk, umumnya biji jeruk menjadi sebuah limbah karena tidak digunakan dalam produk minuman tersebut. Biji sebagai bagian tidak terkonsumsi menambah rantai panjang limbah jeruk yang tidak diolah. Disisi lain, jeruk dan seluruh bagiannya memiliki manfaat bagi kesehatan, seperti adanya kandungan antioksidan yang baik dalam menangkal radikal bebas dalam kulit dan kandungan seperti terpenoid yang berperan sebagai antimikroba/antibakteria serta penyumbang bau (*fragrance*) dan rasa (*flavor*) dalam industri. Oleh karena itu, diperlukan pengembangan penelitian baru terhadap limbah jeruk lokal dan bagian tidak terkonsumsi pada jeruk untuk membuka peluang dalam menghasilkan produk fungsional dengan nilai ekonomis. Dibutuhkan solusi khusus untuk dapat mengetahui manfaat dari limbah tersebut dengan metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan bersifat ramah lingkungan, sebagai alternatif dari metode ekstraksi konvensional. Sehingga seluruh tujuan dalam penanganan limbah tersebut tidak menghasilkan limbah lain yang lebih berbahaya.

1.3 Identifikasi Masalah Penelitian

1. Bagaimana pengaruh variasi metode ekstraksi dan jenis pelarut pada ekstraksi biji *Citrus limon* menggunakan fluida superkritis CO₂, subkritis air, dan konvensional terhadap yield ekstrak?
2. Bagaimana pengaruh variasi metode ekstraksi dan jenis pelarut pada ekstraksi biji *Citrus limon* menggunakan fluida superkritis CO₂, subkritis air, dan konvensional terhadap efektivitasnya sebagai antibakteria?
3. Bagaimana pengaruh ekstrak biji *Citrus limon* dengan metode ekstraksi menggunakan fluida superkritis CO₂, subkritis air, dan konvensional terhadap daya hambat bakteri?

4. Bagaimana pengaruh variasi metode ekstraksi dan jenis pelarut pada komposisi ekstrak biji *Citrus limon* menggunakan fluida superkritis CO₂, subkritis air, dan konvensional terhadap komposisi senyawa yang terekstrak?

1.4 Presmis Masalah Penelitian

Terdapat penelitian terdahulu yang dapat dijadikan referensi dalam penelitian ini, yang disajikan pada Tabel 1.1.

1.5 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini antara lain:

1. Pada ekstraksi dengan metode konvensional pelarut heksana dan metanol akan menghasilkan yield ekstrak biji *Citrus limon* lebih besar dibandingkan dengan metode superkritis CO₂ dan subkritis air.
2. Ekstrak biji *Citrus limon* dengan *green solvent* subkritis air dan superkritis CO₂ akan memiliki efektivitas lebih baik sebagai antibakteri dibandingkan dengan metode konvensional pelarut heksana dan metanol.
3. Senyawa dalam ekstrak biji *Citrus limon* memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri, karena terindikasi mengandung senyawa terpenoid, alkaloid, dsb. yang berperan sebagai senyawa antibakteri.
4. Senyawa yang terekstrak pada pelarut polar dan non-polar berbeda, dengan senyawa volatil lebih banyak terekstrak pada pelarut non-polar.

1.6 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Mengetahui pengaruh variasi metode ekstraksi dan jenis pelarut pada ekstraksi biji *Citrus limon* menggunakan fluida superkritis CO₂, subkritis air, dan konvensional terhadap yield ekstrak.
2. Mengidentifikasi pengaruh variasi metode dan jenis pelarut pada ekstraksi biji *Citrus limon* menggunakan fluida superkritis CO₂, subkritis air, dan konvensional terhadap efektivitasnya sebagai antibakteria.
3. Mengetahui pengaruh ekstrak biji *Citrus limon* dengan metode ekstraksi menggunakan fluida superkritis CO₂, subkritis air, dan konvensional terhadap daya hambat bakteri.

4. Mengidentifikasi pengaruh variasi metode ekstraksi dan jenis pelarut pada ekstraksi biji *Citrus limon* menggunakan fluida superkritis CO₂, subkritis air, dan konvensional terhadap senyawa yang terekstrak.

1.7 Manfaat Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan harapan dapat memberikan manfaat bagi beberapa pihak, antara lain:

1. Manfaat dan kontribusi penelitian bagi masyarakat luas

Memberikan solusi alternatif sumber antibakteria berbahan dasar alami dengan proses yang ramah lingkungan, serta memberikan solusi terhadap penanganan limbah jeruk dengan merubahnya menjadi produk dengan nilai ekonomis.

2. Manfaat dan kontribusi penelitian bagi industri

Memberikan alternatif sumber antibakteria yang dapat digunakan dalam industri farmasi dan kedokteran sebagai kandungan yang dibutuhkan dalam menghambat pertumbuhan bakteri.

3. Manfaat dan kontribusi penelitian bagi pemerintah

Memberi solusi terhadap limbah *inedible* untuk menjadi produk layak guna dan bernilai ekonomis, serta meningkatkan kembali daya jual jeruk lokal dengan kandungan yang tidak kalah saing dengan jeruk impor.

4. Manfaat dan kontribusi penelitian bagi para ilmuwan

Memberikan pengetahuan baru mengenai varian jeruk yang dapat menjadi sumber antibakteria yang berasal dari bagian yang tidak dapat dikonsumsi dari jeruk.

Tabel 1.1 Premis penelitian

No	Bahan	Kondisi Operasi			Laju Alir (mL/min)	Yield (Optimum)			Pustaka	Keterangan			
		Tekanan (MPa)	Temperatur (°C)	Durasi (min)		Tekanan (MPa)	Temperatur (°C)	Durasi (min)			Yield		
1	<i>Citrus paradisi</i>	34,5	40	20	5000 SCCO ₂	48,3	50	60	Limonin (6,3 mg/g seed)	Yu dkk., 2007	30% co- solvent ethanol 20% co- solvent ethanol		
		48,3	50	40		41,4	60	40	LG (0,62 mg/g seed)				
		41,4	60	60		41,4	50	40	Narigin (0,2 mg/g seed)				
2	<i>Citrus junos</i>	20	40	3	SCCO ₂	50	70	29,50%	Ueno dkk., 2008	5 g freeze- dried seed powder			
		30	50										
		40	60										
		50	70										
3	<i>Citrus ichangensis x Citrus reticulata</i> (Yuza)	20	45	120	27	SCCO ₂	25	60	120	19,6 (CS), 1,78 (CP), 11,3% (MX)	Ndayishi miye dkk., 2016	100 g powder sample	
		25	60										
4	<i>Citrus reticulata</i> <i>Citrus limon</i> <i>Citrus paradisi</i>	30	40	-	SCCO ₂	30	40	-	-	-	Rosa dkk., 2019	150 g citrus seed	
													Linoleic (35-42%)
													Oleic (22-28%)
													Palmitic (21-25%)
													a-linoleic (4-10%)
Stearic (4-7%)													
5	<i>Thymbra spicata</i> L. (leaves)	2 - 9	100 - 175	30	1 - 3	SW	6	150	30	α -thujene, α -pinene, terpinen-4-ol, ρ -cymene, γ -terpinene, 1-carvone, thymol, carvacrol, dll.	Ozel dkk., 2003	Pada 2 mL/min	
6	<i>Mentha piperita</i> L. (leaves)	10,3	40 - 160	1 - 30	-	SW	10,3	160	30	TP, menthone, menthol, eriocitrin, dll.	Çam dkk., 2019		

7		2	100 - 175	20	1 - 4 SW	2	125	20	thujene, sabinene, pinene, myrcene, cymene, limonene, ocimene, terpinene, terpinolene, dll.	Eikani dkk., 2007	Pada 4 mL/min
8	<i>Coriandrum sativum</i> L. (seeds)	2 - 9	100 - 200	10 - 30	- SW	9	200	20	3,4-dimethoxycinnamic acid, coumaric acid, sinapic acid, cis-and trans-linalooloxides, linalool, etc.	Zeković dkk., 2016	
9		2	100 - 200	20	1:10 SW	2	200	20	α -pinene, β -pinene, camphor, methylchavicol, γ -terpinene, linalool, geraniol, carvacrol, dll.	Pavlić dkk., 2015	
10	Laurel leaves	1.5 - 15	50 - 200	15	0.5 - 5 SW	50	150	15	α -phellandrene, β -pinene, 1,8-cineole, borneol, nona-3,7-dienol, isobornyl acetate, γ -terpineol, etc.	Fernández-Pérez dkk., 2000	Pada 2 mL/min
11	<i>Citrus hystrix</i> (leaves)		120 - 180	5 - 30	5 - 20 SW		120	30	linalool, isopulegol, neoisopulegol, citronellal, 4-terpineol, citronellol, geraniol, menthoglycol, dll.	Halim dkk., 2020	
12	<i>Hedyotis diffusa</i> Willd.	0,6 - 3	120 - 200	10 - 50	120 - 200 SW		157	20	ursolic acid	Xiao dkk., 2017	
13	<i>Ganoderma Lucidum</i>	5 - 10	100 - 200	5 - 60		10	200	30	ganodermanon-triol, ganoderic acids, lucidumol	Uzel & Yaman, 2016	Buah
14	<i>Orostachys Japonicus</i>	10	110 - 260	5 - 20		10	220	15	triterpene, camellia, dll.	Ko dkk., 2020	Batang & daun
15	<i>Betula pendula</i>	10	160 - 200	10 - 20		10	180	20	betulinic acid	Liu dkk., 2015	