**IDENTIFIKASI KOMPONEN PENYUSUN MINYAK ATSIRI KULIT
JERUK MANIS (*Citrus sinensis* L.) ASAL SELOREJO DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI MENGGUNAKAN METODE KERTAS
CAKRAM**

SKRIPSI

Oleh:
ALFIANUR
NIM. 13630118

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**IDENTIFIKASI KOMPONEN PENYUSUN MINYAK ATSIRI KULIT
JERUK MANIS (*Citrus sinensis* L.) ASAL SELOREJO DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI MENGGUNAKAN METODE KERTAS
CAKRAM**

SKRIPSI

**Oleh:
ALFIANUR
NIM. 13630118**

**Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)**

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017**

**IDENTIFIKASI KOMPONEN PENYUSUN MINYAK ATSIRI KULIT
JERUK MANIS (*Citrus sinensis* L.) ASAL SELOREJO DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI MENGGUNAKAN METODE KERTAS
CAKRAM**

SKRIPSI

Oleh:
ALFIANUR
NIM. 13630118

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 28 Desember 2017

Pembimbing I

Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

Pembimbing II

M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I
NIPT. 201402011409

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

Etok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620/200604 2 002

**IDENTIFIKASI KOMPONEN PENYUSUN MINYAK ATSIRI KULIT
JERUK MANIS (*Citrus sinensis* L.) ASAL SELOREJO DAN UJI
AKTIVITAS ANTIBAKTERI MENGGUNAKAN METODE KERTAS
CAKRAM**

SKRIPSI

Oleh:
ALFIANUR
NIM. 13630128

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 28 Desember 2017

Penguji Utama	: Akyunul Jannah, M.P NIP. 19750410 200501 2 009	(.....)
Ketua Penguji	: Ahmad Hanapi, M.Sc NIDT. 19851225 20160801 1 069	(.....)
Sekretaris Penguji	: Rachmawati Ningsih, M.Si NIP. 19810811 200801 2 010	(.....)
Anggota Penguji	: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I NIPT. 201202011409	(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan Kimia**

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Alfianur
Nim : 13630118
Jurusan : Kimia
Fakultas : Sains dan Teknologi
Judul Penelitian : “Identifikasi Komponen Penyusun Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) asal Selorejo dan Uji Aktivitas Antibakteri menggunakan Metode Kertas Cakram”

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pemikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 28 Desember 2017

Yang membuat pernyataan

Alfianur

NIM. 13630118

PERSEMBAHAN

Dengan mengucapkan syukur alhamdulillah, saya persembahkan skripsi ini untuk:

1. Allah SWT, yang telah meridhoi dan memudahkan segala aktivitas.
2. Orang tua (Edi Suharso dan Tursiah) tercinta, yang senantiasa melantunkan doa dan dukungan untuk kesuksesan saya. Saudara (Hartono, Eka Rostika, G. Kurnia Putra, Rizki Maulana), dan Bambang Andy C. yang selalu memberikan motivasi dan saran untuk keberhasilan saya.
3. Sahabat (Mbak Mia, Ais, Nada, Adel, Uus, Ambayu, Mbak Sukris) dan teman-teman seperjuangan, terimakasih untuk semangat dan canda tawa yang kalian beri.

MOTO

“Usaha yang dilakukan setengah hati hanya akan menghancurkan mimpi, maka lakukanlah dengan segenap hati karena Allah tidak akan pernah salah dalam memberi rezeki”

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Puji syukur penulis ucapkan kehadirat Allah SWT, karena atas limpahan rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis mampu menyelesaikan skripsi dengan judul “Identifikasi Komponen Penyusun Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) asal Selorejo dan Uji Aktivitas Antibakteri menggunakan Metode Kertas Cakram”. Dengan sebaik mungkin. Sholawat serta salam semoga selalu tercurah kepada baginda besar Nabi Muhammad SAW. sebagai suri tauladan yang telah menuntun kehidupan ummat manusia menjadi lebih bermartabat dan berakhlaq. Iringan doa dan ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada:

1. Orang tua yang telah memberikan doa, kasih sayang, motivasi dan materil kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si; Bapak A. Hanapi, M.Sc; dan Bapak M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat demi kesempurnaan skripsi ini.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si sebagai Ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
4. Seluruh dosen dan laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.
5. Teman-teman Jurusan Kimia Angkatan 2013, serta semua mahasiswa Kimia Fakultas Sains dan teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan motivasi dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Ibu Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
7. Bapak Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
8. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan secara satu persatu dalam

menyelesaikan skripsi ini baik berupa moral maupun materiil.

Penulis menyadari bahwa laporan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik serta saran atas kekurangan laporan ini akan diterima dengan senang hati. Akhir kata semoga dengan tersusunnya proposal penelitian ini dapat memberikan manfaat dan masukan bagi kita semua, Amin.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Malang, 28 Desember 2017

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
LEMBAR ORISINALITAS	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
المخلص	xv
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	5
1.3 Tujuan Penelitian	5
1.4 Batasan Masalah	6
1.5 Manfaat Penelitian	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kulit jeruk	7
2.1.1 Bagian Jeruk	8
2.1.2 Minyak Atsiri kulit Jeruk	9
2.1.3 Pemanfaatan Minyak Atsiri kulit Jeruk sebagai antibakteri	10
2.2 Destiasi Uap Air	12
2.3 Kromatografi Gas - Spektrofotometri Massa	14
2.4 Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri kulit Jeruk	19
2.4.1 Antibakteri	19
2.4.2 Bakteri Uji	20
2.4.2.1 Bakteri Gram Positif	20
2.4.2.2 Bakteri Gram Negatif	21
2.4.3 Pembuatan Media	22
2.4.4 Uji Antibakteri Metode Kertas Cakram	22
2.4.5 Pengukuran Zona Hambat	23
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.2 Alat dan Bahan	24
3.2.1 Alat	24
3.2.2 Bahan Penelitian	24
3.3 Rancangan Penelitian	25
3.4 Tahapan Penelitian	25
3.5 Pelaksanaan Penelitian	25
3.5.1 Uji Taksonomi	25

3.5.2 Preparasi Sampel	26
3.5.3 Ekstraksi dengan metode Destilasi Uap Air	26
3.5.4 Identifikasi komponen menggunakan KG-SM	26
3.5.5 Uji aktivitas Antibakteri	27
3.5.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan	27
3.5.5.2 Pembuatan Media	27
3.5.5.3 Pembuatan Larutan Uji	28
3.5.5.4 Peremajaan Bakteri	28
3.5.5.5 Pembuatan Inokulum Bakteri	29
3.5.5.6 Uji Antibakteri	29
3.5.5.7 Pengukuran Zona Hambat	30
3.5.6 Analisis Data	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Uji Taksonomi dan Preparasi sampel	32
4.2 Ekstraksi Kulit Jeruk Manis dengan Metode Distilasi Uap-Air	33
4.3 Identifikasi Komponen Minyak Atsiri menggunakan KG-SM	36
4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dengan metode Kertas Cakram	40
4.5 Pemanfaatan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (<i>Citrus sinensis L.</i>) sebagai Antibakteri perspektif Islam	44
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan	49
5.2 Saran	49
DAFTAR PUSTAKA	50
LAMPIRAN	55

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Jeruk manis (<i>Citrus sinensis</i> L.)	7
Gambar 2.2	Bagian-bagian Buah Jeruk	9
Gambar 2.3	Rangkaian Alat destilasi Uap-Air	12
Gambar 2.4	Kromatogram minyak Atsiri kulit Jeruk Limau	15
Gambar 2.5	Kromatogram Minyak Atsiri kulit Jeruk Pontianak	16
Gambar 2.6	Spektra Massa senyawa limonen Minyak Atsiri kulit Jeruk	16
Gambar 2.7	Kromatogram minyak Atsiri kulit jeruk Bali	16
Gambar 2.8	Spektra Massa senyawa dengan Waktu Retensi 5,27 menit	17
Gambar 2.9	Kromatogram minyak Atsiri Kulit Nipis	17
Gambar 2.10	Spektra Massa senyawa dengan waktu retensi 5,290 menit	18
Gambar 2.11	Fragmentasi limonene	18
Gambar 2.12	<i>Staphylococcus aureus</i>	20
Gambar 2.13	<i>Escherichia coli</i>	21
Gambar 4.1	Alat Destilasi Uap-Air	34
Gambar 4.2	Reaksi hidrodifusi Dinding sel Kulit Jeruk	35
Gambar 4.3	Hasil Kromatografi Gas Senyawa hasil Destilasi	37
Gambar 4.4	Spektra Massa Puncak 1	37
Gambar 4.5	Pola Fragmentasi Puncak 1	38
Gambar 4.6	Spektra Massa Puncak 2	39
Gambar 4.7	Spektra Massa standar limonene (library WILEY7.LIB).....	39
Gambar 4.8	Pola Fragmentasi Puncak 2	39
Gambar 4.9	Korelasi antara Variasi Konsentrasi dan Jenis Bakteri terhadap Diameter Zona Hambat	44

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Komponen minyak atsiri kulit jeruk manis (<i>Citrus sinensis</i>)	10
Tabel 2.2	Randemen Minyak Atsiri kulit Jeruk Pontianak	13
Tabel 2.3	Kadar limonen Minyak Atsiri kulit Jeruk Pontianak	13
Tabel 2.4	Komponen utama minyak atsiri kulit jeruk Nipis	17
Tabel 2.5	Kategori zona hambat	23
Tabel 4.1	Hasil Pemisahan Senyawa pada Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (<i>Citrus sinensis</i> L.) hasil Destilasi	37
Tabel 4.2	Hasil Diameter Zona Hambat (Rendam)	42

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Rancangan Penelitian	55
Lampiran 2.	Diagram Alir	56
Lampiran 3.	Perhitungan	60
Lampiran 4.	Data KG-SM	62
Lampiran 5.	Data Antibakteri	64
Lampiran 6.	Data Hasil Analisis SPSS	65
Lampiran 7.	Dokumentasi Penelitian	67
Lampiran 8.	Hasil Uji Taksonomi	69

ABSTRAK

Alfianur. 2017. **Identifikasi Komponen Penyusun Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) asal Selorejo dan Uji Aktivitas Antibakteri menggunakan Metode Kertas Cakram.**

Pembimbing I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Pembimbing II: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I; Konsultan: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Kata kunci : Antibakteri, *Escherichia coli*, Destilasi Uap Air, Metode Kertas Cakram, Minyak Atsiri kulit jeruk Manis, *Staphylococcus aureus*.

Minyak Atsiri merupakan salah satu jenis minyak yang dihasilkan dari berbagai bagian tumbuhan, berwujud cairan kental pada suhu ruang dan mudah menguap, sehingga memberikan aroma yang khas. Minyak atsiri kulit jeruk digunakan dalam dunia farmakologi salah satunya sebagai senyawa antibakteri. Penelitian ini bersifat eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang kemudian dianalisis menggunakan SPSS metode *one way anova*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa: $F_{hit} \geq F_{tab}$ maka perlakuan variasi konsentrasi minyak atsiri terdapat pengaruh, sehingga (terima H_1 , tolak H_0). Minyak atsiri kulit jeruk diperoleh dari hasil pemisahan menggunakan metode destilasi uap air. Metode destilasi uap air memiliki keunggulan yaitu minyak yang dihasilkan lebih murni, sederhana dan ramah lingkungan karena tidak melibatkan pelarut berbahaya. Adapun randemen yang dihasilkan adalah sebesar 0,1%. hasil identifikasi kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM) menunjukkan bahwa Minyak atsiri kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) memiliki komponen senyawa dl-limonen sebesar 99,78% dan *Octamethyl-Cyclotetrasiloxane* yang merupakan senyawa hidrokarbon sebesar 0,22%. Minyak atsiri kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) yang diperoleh dibuat dengan berbagai kosentrasi (0,25; 2; 10; 100; dan 500 mg/mL). Uji aktivitas antibakteri dilakukan menggunakan metode kertas cakram (*disc diffusion method*) memberikan efek terhadap bakteri uji berupa zona bening disekitar kertas cakram dengan rata-rata diameter zona hambat yang dihasilkan berturut-turut 2; 6,7; 7,5; 8,1; dan 10,9 mm untuk *Staphylococcus aureus* dan 0; 0; 0; 2,4; dan 2,9 untuk *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Alfianur. 2017. **Identification Components Essential Oil of sweet Orange Peel (*Citrus sinensis L.*) from Selorejo and Antibacterial Activity Test using Disc Diffusion Method.**

Supervisor I: Rachmawati Ningsih, M.Si; Supervisor II: M. Mukhlis Fahrudin, M.S.I; Consultant: Ahmad Hanapi, M.Sc.

Keywords : *Antibacterial, Escherichia coli, Essential Oil of sweet Orange Peel (Citrus sinensis L.), Water-Steam Distillation, Staphylococcus aureus.*

Essential oil is one type of oil produced from various parts of plants, form by thick liquid at room temperature but easily evaporate, until confer the distinctive aroma. The essential oil of citrus peel used in pharmacological world, one of them as an antibacterial compound. This research was experimental using Randomized Complete Random Design (RAL) which was then analyzed using SPSS method of one way anova. The results show that: $F_{hit} \geq F_{tab}$ then the treatment of variations concentration of essential oils have an effect, so (accept H_1 , reject H_0). The essential oil of citrus peel is obtained from separated by water-steam distillation method. Water-steam distillation method has the advantage that the oil produced more pure, simple and environmentally friendly because does not involve dangerous solvents. The resulting yield is 0.1%. The result of identification of Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (KG-SM) shows that the essential oil of citrus fruits (*Citrus sinensis L.*) has a component of dl-limonene compound is 99.78% and Octamethyl-Cyclotetrasiloxane which is a hydrocarbon compound is 0.22% . The essential oil of sweet orange peel (*Citrus sinensis L.*) obtained with variation concentrations are (0.25, 2, 10, 100, and 500 mg / mL). The antibacterial activity test was performed using disc diffusion method giving effect to test bacteria form inhibitor zone around the paper disc with the average diameter of inhibited zone respectively 2; 6.7; 7.5; 8.1; and 10.9 mm for *Staphylococcus aureus* and 0; 0; 0; 2.4; and 2.9 for *Escherichia coli*.

الملخص

تحديد مكونات الملحن الزيوت أيسيرى للقشر البرتقال الحلوى (*Citrus sinensis L.*) من سيلوريجو واختبار النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة أوراق القرص. المشرفة الأول: رحمواتي نيجسيه، الماجستير؛ المشرف الثاني: محمد مخلص فخر الدين، الماجستير؛ المستشار: أحمد حنفي، الماجستير.

الكلمات الرئيسية: مضاد للبكتيريا، *Escherichia coli* ، التقطير بالبخار الماء، طريقة أوراق القرص، الزيوت أيسيرى للقشر البرتقال الحلوى ، *Staphylococcus aureus*

الزيت أيسيرى هو نوع من الزيوت التي تنتج من مناطق النباتات، كمثّل سائل لزج في درجة حرارة الغرفة ولكن تتبخّر بسهولة حتى توفير رائحة مميزة. استخدمت الزيوت أيسيرى للقشر البرتقال الحلوى في العالم الدوائية، يعني كمركب مضاد للجراثيم. كان هذا البحث تجريبي باستخدام تصميم عشوائي الكامل (RAL) العوالمية التي تحلل باستخدام SPSS بطريقة *one way anova*. وتدل النتائج أن ف حساب $\leq$ ف جدول وكان هناك تأثير في علاج الاختلاف في تركيز الزيوت أيسيرى، لذلك (قبلت H_1 ، رفضت H_0) حصلت زيوت أيسيرى للقشر البرتقال الحلوى من نتيجة التقطير باستخدام طريقة التقطير بالبخار الماء. زكانت لها طريقة التقطير ببخار الماء يعني النفط المنتجة أكثر نقاء وبسيطة وصديقة للبيئة لأنها لا تنطوي على المذيبات الخطرة. الناتج المنتج هو 0.1%. وتدل الكروماتوغرافي الغاز الكتلة الطيفية (GC-MS) أن من الزيوت أيسيرى للقشر البرتقال الحلوى (*Citrus sinensis L.*) تحتوي على عنصر مركب دل الليمونين بقدره 99.78% و-Octamethyl- Cyclotetrasiloxane الذي هو مركب الهيدروكربون بنسبة 0.22% ، الزيوت أيسيرى للقشر البرتقال الحلوى (*Citrus sinensis L.*) مع تركيزات مختلفة (0.25، 2، 10، 100، و 500 ملغ / مل). فعل اختبار النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة أوراق القرص (*disc diffusion method*) لإعطاء تأثير للبكتيريا في شكل منطقة واضحة حول ورقة القرص مع متوسط القطر في منطقة المثبطة على التوالي 2.6.7، 7.5، 8.1 و 10.9 ملم للمكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* و 0؛ 0؛ 0؛ 2.4 و 2.9 للإشريكية القولونية *Escherichia coli*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Produksi buah jeruk di Indonesia tahun 2015 diperkirakan sebesar 2,40 juta ton dan terus meningkat hingga tahun 2019 sebanyak 2,77 juta ton dengan presentasi 3,64% per tahun (PDSIP, 2015). Tingginya produksi jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) di Indonesia, khususnya di kabupaten Malang sebagai salah satu sentral produksi jeruk di Indonesia mengakibatkan semakin tinggi pula limbah kulit jeruk yang ada. Kementerian Pertanian tahun 2013 menjelaskan, jumlah kulit jeruk di Indonesia mencapai 309.678 ton tiap tahunnya (Kementerian Pertanian, 2013).

Sesungguhnya Allah dalam firman-Nya menjelaskan bahwa terdapat tanda-tanda kekuasaan Allah bagi orang-orang yang berfikir sehingga ia senantiasa bersyukur kepada-Nya. Memanfaatkan limbah kulit jeruk sebagai antibakteri merupakan salah satu bentuk pemikiran manusia dalam upaya mensyukuri apa yang telah Allah berikan. Penjelasan ini didasarkan pada Alquran surat Luqman ayat 10:

خَلَقَ السَّمَاوَاتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا ۗ وَاللَّيْلِ فِي الْأَرْضِ رَوَاسِي ۚ أَنْ تَمِيدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيهَا مِنْ كُلِّ دَابَّةٍ ۗ وَأَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ

Artinya: “Dia menciptakan langit tanpa tiang yang kamu melihatnya dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi supaya bumi itu tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembang biakkan padanya segala macam jenis binatang. Dan kami turunkan air hujan dari langit, lalu kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (QS. Luqman: 10).

Lafadz زَوْجٍ memiliki arti jenis (tumbuhan) dan كَرِيمٍ berarti mulia dan banyak manfaatnya. Menurut (Al Maraghi, 1992) lafadz كَرِيمٍ ditujukan pada tumbuhan dan pohon yang lebih bermanfaat yang diciptakan Allah untuk manusia. Tumbuhan yang baik adalah tumbuhan yang tumbuh subur dan menghasilkan apa yang diharapkan penanamnya.

Kulit jeruk merupakan salah satu limbah yang dapat diolah dan menghasilkan produk yang memiliki nilai jual tinggi berupa minyak atsiri. Minyak atsiri kulit jeruk diperoleh dengan cara destilasi, karena prosesnya mudah dan tidak mahal. Destilasi yang dilakukan menggunakan destilasi uap air langsung, dimana sampel dan air berada di tempat yang sama dengan sekat diantara keduanya. Proses destilasi ini terjadi di dalam ketel dimana uap air mengalir menuju tumpukan bahan tumbuh-tumbuhan sehingga minyak atsiri tersuling bersama-sama dengan uap air. Setelah pengembunan minyak atsiri akan membentuk lapisan yang terpisah dengan air selanjutnya minyak yang dihasilkan dikumpulkan (Guenther 1987). Minyak atsiri dari kulit buah jeruk yang masih tercampur dengan air hasil destilasi selanjutnya ditambahkan natrium sulfat anhidrat dan diidentifikasi menggunakan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa.

Secara kimiawi, minyak atsiri kulit jeruk mengandung berbagai komponen seperti terpen, sesquiterpen, aldehida, ester dan sterol 3 (Switaning, 2010) dengan rincian : *limonene* (94%), *mirsen* (2%), *linalool* (0,5%), *oktanal* (0,5%), *dekanal* (0,4%), *sitronelal* (0,1%), *neral* (0,1%), *geranial* (0,1%), *valensen* (0,05%), -*sinnsial* (0,02%), dan *sinensial* (0,01%) (Tarwiyah, 2001). Kamal dkk (2011) menjelaskan komposisi utama pada minyak atsiri kulit buah jeruk adalah limonen, mirsen dan dekanal dari jenis *Citrus reticulate*. Dari penelitian yang telah dilakukan menjelaskan komponen mayor adalah limonen, yang termasuk kedalam senyawa monoterpenoid. Limonen diketahui memiliki aktivitas antimikroba dan antiseptik (Magwa, *et al*, 2006).

Mulyani, dkk (2009) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa komponen yang terkandung dalam minyak atsiri kulit jeruk (*Citrus amblycarpa*) terbukti

memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 25922 yang ditentukan melalui delusi cair dengan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) berturut-turut sebesar 0,312; 0,625 dan 2,500; 2,500 . Tao, *et al* (2009) melaporkan minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* Osbeck) memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Penicillium chrysogenum*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Saccharomyces cerevisiae* dengan konsentrasi larutan uji sebesar 4,66 μ L sampai 18,75 μ L dan besar diameter zona hambat berkisar dari 14,57 mm sampai 23,37 mm. Adapun penelitian yang dilakukan oleh Switaning dkk (2010) menjelaskan manfaat lain dari minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* (L) Osbeck) asal desa Gadingkulon, Dau kabupaten Malang sebagai aromaterapi dan bahan bakar minyak tanah.

Banyaknya penelitian yang dilakukan terhadap beberapa jenis kulit jeruk menjadikan penelitian ini penting dilakukan karena besarnya produksi jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) beserta limbah yang dihasilkan di desa Selorejo, Dau kabupaten Malang dengan total produksi 15080 ton/tahun (BPS, 2013) dan limbah sebesar 208 kg/ton. Pemaparan mengenai aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk terhadap berbagai jenis bakteri, melatarbelakangi dalam melakukan penelitian terhadap potensi yang terkandung dalam minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) asal Selorejo sebagai antibakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Sari , dkk (2013) memberikan hasil yang membuktikan minyak atsiri kulit jeruk Pontianak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 0,5; 1,5 dan 2,0 mg/mL dengan rata-rata zona hambat berturut-turut sebesar 16,33; 18; dan 21 mm dan 15; 16 dan 19 mm.

sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Ullah, et al (2012) minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) asal Pakistan pada konsentrasi 10, 25, dan 50 μ L dengan zona hambat berturut-turut sebesar 07, 18 dan 21 mm terhadap *Staphylococcus aureus*, sedangkan resisten terhadap *Escherichia coli* menggunakan metode *disc diffusion*. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Kirbaslar, et al (2009) memberikan hasil bahwa minyak atsiri kulit jeruk Mandarin asal Turki dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* pada konsentrasi 20 μ L sebesar 14 dan 12 mm.

Metode kertas cakram (*disc diffusion*) merupakan salah satu metode yang umum digunakan dalam pengujian aktivitas antibakteri suatu senyawa. Metode ini menggunakan medium padat sebagai media perkembangbiakan bakteri, dimana kertas cakram yang telah direndam dengan minyak atsiri kulit jeruk diletakkan diatas media. Kertas cakram (*paper disc*) berfungsi sebagai tempat penampung zat antimikroba. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa daerah bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pelczar dan Chan, 1988).

E. coli merupakan bakteri Gram negatif yang menyebar secara mudah dari tangan yang menyentuh makanan atau air yang telah terkontaminasi dan menyebabkan adanya transfer gen secara horizontal. Sedangkan *Staphylococcus aureus* merupakan bakteri Gram positif penyebab infeksi tersering di dunia. Tingkat keparahan infeksinya pun bervariasi, mulai dari infeksi minor di kulit (furunkulosis dan impetigo), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi pada mata dan *Central Nervous System* (CNS) (DeLeo FR, 2010).

Kedua bakteri diatas merupakan populasi terbanyak yang ada didalam tubuh manusia, sehingga pemilihan kedua bakteri tersebut dinilai sesuai dengan penelitian ini, mewakili jenis bakteri lainnya. Pengujian aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk manis memberikan informasi terhadap potensi daya hambat yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media perkembangbiakan bakteri. Adapun inovasi yang dapat dilakukan dalam menghambat tumbuh kembang bakteri secara langsung dapat menjadikan minyak atsiri sebagai bahan dasar pembuatan *hand sanitizer* (sediaan *gel*) pengganti alkohol yang dapat diaplikasikan langsung terhadap manusia (Ulfa, M., dkk, 2014).

Berdasarkan latar belakang tersebut, akan dilakukan uji aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) dengan metode kertas cakram. Pengujian dilakukan dengan variasi konsentrasi (0,25; 2; 10; 100 dan 500 mg/mL) untuk mengukur berapa besar potensi atau konsentrasi suatu senyawa dapat memberikan efek bagi mikroorganisme.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil analisis komponen minyak atsiri kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) menggunakan KG-SM?
2. Apakah minyak atsiri kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dan *E. coli*?

1.3 Tujuan

1. Untuk mengetahui hasil identifikasi komponen minyak atsiri kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) menggunakan KG-SM

2. Untuk mengetahui aktivitas daya hambat minyak atsiri kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

1.4 Batasan Masalah

1. Kulit jeruk yang digunakan diperoleh dari petani jeruk desa Selorejo kabupaten Malang
2. Prinsip ekstraksi yang digunakan adalah destilasi uap air
3. Identifikasi komponen minyak atsiri kulit buah jeruk menggunakan KG-SM

1.5 Manfaat

1. Dapat mengetahui adanya aktivitas antibakteri dari minyak atsiri kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.).
2. Menambah khasanah ilmu pengetahuan kita
3. Menambah wawasan mengenai limbah buangan (kulit jeruk) untuk mendapatkan manfaat lainnya

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kulit Jeruk

Jeruk merupakan komoditas buah dengan jumlah produksi yang cukup tinggi. Produksi buah jeruk di Indonesia tahun 2015 diperkirakan sebesar 2,40 juta ton dan terus meningkat hingga tahun 2019 sebesar 2,77 juta ton dengan presentasi 3,64% per tahun (PDSIP, 2015). Hal ini didukung dengan besarnya produksi salah satu varietas buah jeruk yaitu, jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) di desa Selorejo, Dau kabupaten Malang yang mencapai total produksi sebanyak 15080 ton/tahun (BPS, 2013)

Menurut Backer dan Van, (1968) klasifikasi jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) adalah sebagai berikut :

Super Divisi : Spermatophyta
Divisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnolioosida
Sub Kelas : Rosidae
Ordo : Sapindales
Famili : Rutaceae
Genus : Citrus L.
Spesies : *Citrus sinensis* L.
Nama umum/dagang : jeruk manis

Gambar 2.1 Jeruk manis (*Citrus sinensis* L.)

Allah SWT. berfirman dalam surat dalam surat Ash-Shu'ara' ayat 7

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya : “Dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyaknya Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Q.S Ash-Shu'ara' ayat: 7).

Ayat di atas mengisyaratkan bahwa berbagai macam tanaman yang tumbuh dengan adanya air hujan yang mengalir ke tanah dan menyebabkan tanaman tersebut menjadi tanaman yang subur atau baik, yaitu tanaman yang memiliki nilai manfaat yang sangat besar. mulai dari akar, batang, daun, dan buahnya bisa dimanfaatkan secara maksimal (Shihab, 2002). Adapun salah satu tanaman tersebut adalah buah jeruk. Selain daging buahnya yang manis dan kaya akan vitamin, kulit buah jeruk juga dapat dimanfaatkan salah satunya sebagai antibakteri. Pemanfaatan kulit buah jeruk merupakan salah satu upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi jumlah limbah kulit jeruk yang akan berdampak kepada kelestarian lingkungan apabila membiarkan limbah menumpuk begitu saja, meskipun hal ini hanya sedikit mengurangi jumlah limbah yang ada.

2.1.1 Bagian Jeruk

Kulit jeruk dapat dibagi menjadi dua bagian utama yaitu flavedo (kulit bagian luar yang berbatasan dengan epidermis) dan albedo (kulit bagian dalam yang berupa jaringan busa). Epidermis merupakan bagian luar yang melindungi buah jeruk, yang terdiri dari lapisan lilin, matriks kutin, dinding sel primer dan sel epidermal. Flavedo sebagai lapisan kedua ditandai dengan adanya warna hijau, kuning, oranye, kelenjar minyak, dan tidak terdapat

ikatan pembuluh. Pigmen yang terdapat pada flavedo adalah kloroplas dan karotenoid. Dalam perkembangannya kloroplas akan terdegradasi, sehingga buah yang sebelum matang berwarna hijau menjadi berwarna oranye pada saat matang (Albrigo dan Carter, 1977).

Gambar 2.2 bagian-bagian Buah Jeruk

2.1.2 Minyak Atsiri kulit Jeruk

Minyak atsiri merupakan senyawa yang pada umumnya berwujud cairan, diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan. Meskipun kenyataan untuk memperoleh minyak atsiri dapat menggunakan cara lain seperti ekstraksi menggunakan pelarut organik atau dengan cara dipres (Hardjono, S., 2004). Menurut Lota, dkk (2001) tiga komponen utama dalam minyak atsiri kulit buah jeruk umumnya adalah limonen, terpinena, dan linalil asetat. Switaning (2010) menjelaskan secara kimiawi, kulit jeruk mengandung minyak atsiri yang terdiri dari berbagai komponen seperti terpen, sesquiterpen, aldehida, ester dan sterol. Rincian komponen minyak kulit jeruk adalah : *limonene* (94%), *mirsen* (2%), *linalool* (0,5%), *oktanal* (0,5%), *dekanal* (0,4%), *sitronelal* (0,1%), *neral* (0,1%), *geranial* (0,1%), *valensen*

(0,05%), -sinnsial (0,02%), dan sinensial (0,01%) (Tarwiyah, 2001). Sebagian besar minyak atsiri termasuk dalam golongan senyawa organik terpena dan terpenoid yang bersifat larut dalam minyak/lipofil.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Ullah *et al* (2012) menjelaskan komponen mayor yang terkandung dalam minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* Osbeck) adalah limonen (77,49%), mirsen (6,2%), α -farnesen (3.64%), γ -terpinen (3.34%), α -pinen (1.49%), dan sabinen (1.29%) (Tao *et al*, 2009). Sejalan dengan penelitian Istianto, dkk (2006) menyatakan komponen mayor dalam minyak atsiri kulit jeruk manis Pacitan (*Citrus sinensis*) adalah limonen, linalool, mirsen, oktanal dan α -pinen.

Berikut adalah data yang diperoleh berdasarkan penelitian Tan, *et al* (2011) mengenai komponen yang terdapat pada minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) di berbagai Negara :

Tabel 2.1 Komponen minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dalam (%)

Senyawa	Italia	Valencia	North Irania	Cai Be Vietnam
Limonen	93,67	97,0	92,42	96,46
α -Pinen	0,65	-	0,94	0,51
Sabinen dan β -Pinen	1,00	-	-	0,09
Mirsen	2,09	0,03	3,89	2,13
Oktanal	0,41	-	-	-
Linalool	0,31	0,03	0,63	0,07
δ -3-Karen	0,31	-	-	-
Dekanal	0,27	-	0,38	0,12

2.1.3 Pemanfaatan Minyak Atsiri kulit Jeruk sebagai antibakteri

Kulit jeruk yang telah diekstraksi menjadi minyak atsiri banyak dimanfaatkan sebagai aromaterapi, namun ada manfaat lainnya yang kita dapat dari minyak tersebut, sebagaimana Allah SWT. berfirman dalam surat Ibrahim ayat 32

اللَّهُ الَّذِي خَلَقَ السَّمَوَاتِ وَالْأَرْضَ وَ أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً فَأَخْرَجَ بِهِ مِنَ الثَّمَرَاتِ رِزْقًا لَكُمْ

Artinya: “Allah-lah yang telah menciptakan langit dan bumi dan menurunkan air hujan dari langit, kemudian Dia mengeluarkan air hujan itu berbagai buah-buahan menjadi rezeki untukmu. (Q.S Ibrahim ayat: 32.)”

Allah SWT. menjelaskan berbagai macam nikmat yang telah diberikan kepada makhluk-Nya dengan menciptakan langit, bumi dan air hujan dari langit yang kemudian tumbuh buah-buahan yang diberikan atas rezeki yang ada sebagaimana halnya kulit buah jeruk yang awalnya hanya berupa limbah tak terpakai, namun memiliki manfaat dan daya jual (sebagai rezeki). Kulit buah jeruk yang telah diekstrak menjadi minyak atsiri memiliki manfaat farmakologi sebagai antibakteri.

Minyak atsiri adalah suatu substansi alami yang dikenal memiliki aktivitas antibakteri, Minyak atsiri kulit jeruk dapat menghambat beberapa jenis bakteri merugikan seperti *E. coli*, *Salmonella* sp, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella* dan *Pasteurella* (Agusta,2000). Mulyani, dkk (2009) dalam penelitiannya menjelaskan bahwa komponen yang terkandung dalam minyak atsiri kulit jeruk (*Citrus amblycarpa*) terbukti memberikan aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *E. coli* ATCC 25922 yang ditentukan melalui delusi cair (Tao *et al*, 2009) melaporkan minyak atsiri kulit jeruk manis memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Staphylococcus aureus*, *Penicillium chrysogenum*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* dan *Saccharomyces cerevisiae*. Penelitian yang dilakukan oleh Sari , dkk (2013) memberikan hasil yang membuktikan minyak atsiri kulit jeruk Pontianak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

2.2 Destilasi Uap Air

Destilasi Uap Air adalah suatu metode destilasi yang bertujuan untuk memisahkan suatu substansi dari campurannya yang tidak saling campur atau menurunkan titik didih komponen campuran yang memiliki titik didih tinggi dengan bantuan uap air. Keuntungan dari destilasi uap air adalah adanya peristiwa hidrodifusi dimana uap air akan masuk kedalam jaringan sel tanaman yang mengakibatkan pecahnya dinding sel tanaman sehingga minyak yang terkandung didalamnya akan terdorong keluar (Abdjul, dkk., 2012). Pada destilasi uap air ada yang dilakukan secara langsung, ada juga yang dilakukan secara terpisah. Hal ini hanya bergantung pada peletakan sampel. dimana untuk destilasi uap air secara langsung, sampel diletakkan diatas sekat yang dibawahnya sudah terdapat air. Sedangkan untuk yang terpisah sampel dan air diletakkan di dua tempat berbeda. Berikut adalah rangkaian alat destilasi uap air secara langsung :

Gambar 2.3 Rangkaian Alat destilasi Uap-Air

Minyak atsiri yang dihasilkan dari proses penyulingan, bukanlah suatu senyawa murni, melainkan minyak tersebut merupakan suatu campuran dengan

beberapa senyawa organik lainnya. Dari percobaan yang dilakukan Sari, dkk (2013) menggunakan desilasi uap air langsung dengan lama waktu destilasi selama 3-4 jam terhitung dari destilat pertama turun meghasilkan randemen sebesar 0,26%. Hidayati (2012) memvariasikan lama waktu dan Temperatur destilasi uap air secara tidak langsung yang berpengaruh terhadap randemen dan kadar limonen pada minyak atsiri kulit jeruk Pontianak.

Tabel 2.2 Randemen Minyak Atsiri kulit Jeruk Pontianak (Hidayati,2012)

Suhu (°C)	Waktu Penyulingan (jam)	Kode	Randemen (%)
100	4	A	1,178
	5	B	1,197
	6	C	1,292
	7	D	1,652
110	4	E	1,145
	5	F	1,387
	6	G	1,483
	7	H	1,524

Tabel 2.3 Kadar limonen Minyak Atsiri kulit Jeruk Pontianak (Hidayati,2012)

Suhu (°C)	Waktu Penyulingan (jam)	Kadar Limonen (%)
100	4	96,20
	5	96,35
	6	96,79
	7	97,69
110	4	96,14
	5	96,22
	6	96,54
	7	96,60

Percobaan yang dilakukan oleh Mulyani, dkk (2009) dengan sampel kulit jeruk Limau meggunakan destilasi uap air langsung memberikan hasil berupa Randemen (%), Bobot Jenis (25°C) dan Indek Bias (25°C) berturut-turut sebesar 0,72; 0,8957 dan 1,4736. Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh Abdjul, dkk (2012) dengan sampel daun Nilam menggunakan metode destilasi uap air

langsung dengan lama waktu destilasi 4 jam memperoleh hasil randemen sebesar 2,4%. Sejalan dengan penelitian Schaduw, dkk (2012) melakukan destilasi selama 5 hari dan menghasilkan randemen sebesar 3,93%. Besarnya hasil yang diperoleh dari desilasi daun Nilam menggunakan destilasi uap air dikarenakan pada bagian daun Nilam memiliki kandungan Minyak atsiri yang lebih besar dibandingkan dengan bagian yang lainnya sebesar 2,5-5,0% (Kardinan, 2005).

2.3 Kromatografi Gas- Spektrometri Massa

Kromatografi gas (KG) merupakan jenis kromatografi yang digunakan dalam kimia organik untuk pemisahan dan analisis. Pemisahan senyawa berdasarkan perbandingan distribusinya terhadap fasa diam dan fasa gerak. Komponen yang mudah menguap maupun komponen yang stabil terhadap panas akan bermigrasi melalui kolom yang berisi fasa diam dengan suatu kecepatan yang tergantung pada rasio distribusinya. Senyawa yang lebih terdistribusi pada fase diam akan tertahan dan keluar dari kolom dengan waktu yang lebih lama daripada senyawa yang terdistribusi pada fase gerak (Rohman dan Gandjar, 2012).

Kadar suatu senyawa dalam sampel dapat ditentukan dengan kromatografi gas dengan cara membandingkan antara luas senyawa dengan jumlah luas sampel, kadar senyawa diberikan dalam bentuk prosentase dengan persamaan 2.1

$$\text{Persen (\%)} \text{ Komponen} = \frac{\text{luaskomponen}}{\text{jumlahluassemuasampel}} \times 100 \% \dots\dots\dots(2.1)$$

Spektrometri massa merupakan metode analisis kualitatif suatu senyawa berdasarkan pola fragmentasinya. Senyawa yang dianalisis dengan spektrometri massa akan diubah menjadi ion molekuler yang kemudian akan dipecah

berdasarkan pola fragmentasinya (Day dan Underwood, 1999). Fragmen-fragmen disusun menurut kenaikan massa fragmentasinya (m/z atau m/e), yaitu dari kiri ke kanan, sedangkan intensitas puncak sebanding dengan kelimpahan fragmennya. Kelimpahan fragmen tersebut didasarkan pada kestabilannya. Kestabilan dipengaruhi oleh kemampuannya untuk beresonansi. Semakin stabil suatu fragmen maka kelimpahan relatifnya akan semakin tinggi (Supratman, 2010).

Penelitian Hidayati (2012) memberikan gambaran berupa kromatogram minyak atsiri kulit Jeruk Limau.

Gambar 2.4 Kromatogram minyak Atsiri kulit Jeruk Limau

Dari gambar tersebut diketahui minyak kulit jeruk limau memiliki komponen mayor berupa limonen (97,69%), linalool (0,56%), β -pinene (0,53%), α -pinene (0,41%) dan nerol (0,18%). Sedangkan penelitian yang dilakukan oleh (Lestari dan Savante, 2014) memberikan gambaran kromatogram minyak atsiri kulit Jeruk Pontianak dengan dua komponen mayor yaitu puncak no. 1 pada gambar menunjukkan senyawa γ -mirsen sebesar 1,05% dan puncak no. 2 menunjukkan senyawa dominan yaitu limonen sebesar 98,95%.

Gambar 2.5 Kromatogram Minyak Atsiri kulit Jeruk Pontianak (Lestari dan Savante, 2014)

Gambar 2.6 Spektra Massa senyawa limonen Minyak Atsiri kulit Jeruk Pontianak (Lestari dan Savante, 2014)

Sejalan dengan penelitian yang dilakukan Sari, dkk (2016) dengan hasil Dua senyawa tersebut ialah β -mirsen pada puncak 8 dengan % area sebesar 15,34% serta *dl*-limonen sebagai komponen senyawa terbesar pada puncak 9 dengan % area sebesar 41,98%.

Gambar 2.7 kromatogram minyak Atsiri kulit jeruk Bali ((Sari, dkk (2016)

Gambar 2.8 Spektra Massa senyawa dengan Waktu Retensi 5,27 menit (Sari, dkk., 2016)

Percobaan yang dilakukan Wibaldus, dkk (2016) menjelaskan kromatogram minyak kulit Jeruk Nipis memiliki 5 senyawa mayor yaitu limonen (26,04%), -citral (Neral) (10,40%), -pinen (18,84%), Citral (Geranial) (13,09%), dan phellandren (6,29%) sesuai dengan Gambar dan Tabel dibawah ini:

Gambar 2.9 Kromatogram minyak Atsiri Kulit Nipis (Wibaldus, dkk., 2016)

Tabel 2.4 Komponen utama minyak atsiri kulit jeruk Nipis

Puncak	Waktu Retensi (menit)	Luas Area (%)	SI (%)	Rumus Molekul	Berat Molekul	Perkiraan Senyawa
5	4,424	6,29	96	$C_{10}H_{16}$	136	β -phellandren
6	4,515	18,84	96	$C_{10}H_{16}$	136	β -pinen
26	8,829	10,40	96	$C_{10}H_{16}O$	152	β -citral (Neral)
14	5,290	26,04	96	$C_{10}H_{16}$	136	limonen
27	9,335	13,09	97	$C_{10}H_{16}O$	152	Citral (Geranial)

Analisis MS dilakukan untuk mengetahui pola dan struktur hasil senyawa yang terfragmentasi. Senyawa yang dianalisis dengan spektrometri massa akan diubah menjadi ion molekuler yang kemudian akan dipecah berdasarkan pola fragmentasinya. Kelimpahan fragmen tersebut didasarkan pada kestabilannya yang dipengaruhi oleh kemampuan senyawa tersebut beresonansi.

Gambar 2.10 Spektra Massa senyawa dengan waktu retensi 5,290 Jeruk Nipis (Wibaldus, dkk., 2016)

Limonen merupakan salah satu komponen terbanyak yang terkandung didalam minyak atsiri kulit jeruk, sehingga dapat diketahui pola fragmentasi yang terjadi, sesuai dengan gambar 2.11.

Gambar 2.11 Fragmentasi limonen (Irawan, 2010)

Merujuk ke data spektrum Massa terlihat sebagai berikut: puncak ion molekul adalah m/z 136 menunjukkan berat molekul dari d-limonen. Kemudian terdapat peak pada m/z 68 yang menunjukkan puncak khas dari d-limonen yakni terjadi pemecahan sejenis retro Diels-Alder. Adapun fragmentasi dari ion molekul d-limonen hingga menghasilkan puncak-puncak m/z 121, m/z 107, m/z 93, m/z 79, m/z 68 dan m/z 53

2.4 Uji aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri kulit Jeruk

2.4.1 Antibakteri

Bahan antibakteri diartikan sebagai bahan yang mengganggu pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga bahan tersebut dapat menghambat pertumbuhan atau bahkan membunuh bakteri. Cara kerja bahan antibakteri antara lain dengan merusak dinding sel, merubah permeabilitas sel, merubah molekul protein dan asam nukleat, menghambat kerja Enzim, serta menghambat sintesis asam nukleat dan protein (Pelczar dan Chan, 1988).

Antibakteri adalah agen kimia yang mampu menginaktivasi bakteri. inaktivasi bakteri dapat berupa penghambatan pertumbuhan bakteri (bakteriostatik), atau bahkan membunuh bakteri (bakteriosidal). Aktivitas penghambatan pertumbuhan atau pembunuhan bakteri dilakukan dengan cara merusak DNA, denaturasi protein, merusak dinding sel atau menghalangi sintesis dinding sel, pemindahan kelompok sulfhidril bebas, serta antagonisme kimiawi (gangguan pada reaksi antara enzim spesifik dengan substratnya) (Brooks, dkk., 2001).

2.4.2 Bakteri Uji

2.4.2.1 Bakteri Gram Positif

Staphylococcus aureus merupakan bakteri Gram positif berbentuk bulat berdiameter 0,7-1,2 μm , tersusun tidak teratur seperti buah anggur, fakultatif anaerob, tidak membentuk spora, dan tidak bergerak. Bakteri ini tumbuh pada suhu optimum 37 °C, tetapi membentuk pigmen paling baik pada suhu kamar (20-25°C). Koloni pada perbenihan padat berwarna abu-abu sampai kuning keemasan, berbentuk bundar, halus, menonjol, dan berkilau. Lebih dari 90% isolat klinik menghasilkan *S. aureus* yang mempunyai kapsul polisakarida atau selaput tipis yang berperan dalam virulensi bakteri (Jawetz *et al.*, 2005)

Staphylococcus aureus merupakan salah satu bakteri penyebab Infeksi tersering di dunia. Tingkat keparahan infeksi pun bervariasi, mulai dari infeksi minor di kulit (furunkulosis dan impetigo), infeksi traktus urinarius, infeksi traktus respiratorius, sampai infeksi pada mata dan Central Nervous system (CNS) (DeLeo FR, 2010). Menurut Syahrurachman dkk. (2010) klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut:

Divisi : Protophyta
Kelas : Schizomycetes
Ordo : Eubacteriales
Famili : Micrococcaceae
Genus : Staphylococcus
Spesies: *Staphylococcus aureus* (Salle, 1978)

Gambar 2.12 *Staphylococcus aureus*

2.4.2.2 Bakteri Gram Negatif

Escherichia coli merupakan bakteri Gram negatif berbentuk batang pendek yang memiliki panjang sekitar 2 μm , diameter 0,7 μm , lebar 0,4-0,7 μm dan bersifat anaerob fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Smith-Keary, 1988 ; Jawetz *et al.*, 1995). positif pada tes indol, glukosa, laktosa, sukrosa (Greenwood *et al.*, 1995). *Escherichia coli* adalah anggota flora normal usus yang biasanya berkolonisasi di saluran pencernaan dalam beberapa jam setelah masuk ke dalam tubuh dan membangun hubungan mutualistik. Berdasarkan taksonominya *E. coli* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Bacteria
Divisio	: Proteobacteria
Kelas	: Gamma Proteobacteria
Ordo	: Enterobacteriales
Famili	: Enterobacteriaceae
Genus	: <i>Escherichia coli</i> . (Todar, 2008)

Gambar 2.13 *Escherichia coli*

2.4.3 Pembuatan Media

Nutrient Agar (NA) adalah suatu medium berbentuk padat, berwarna coklat muda yang merupakan perpaduan antara bahan alamiah dan senyawa-senyawa kimia. Media ini mengandung sumber nitrogen dalam jumlah cukup

yang dapat digunakan untuk budidaya bakteri. Komposisi medium NA terdiri dari ekstrak daging sapi 3 gram, pepton 5 gram, dan agar 15 gram dalam 1000 mL akuades (Leboffe dan Pierce, 2012). Sedangkan *Nutrient Broth* (NB) adalah suatu medium berbentuk cair, berwarna coklat yang merupakan media dengan fungsi serupa dengan *Nutrient Agar*, NB dibuat dengan komposisi 5 gram pepton, dan 3 gram ekstrak daging sapi (Leboffe dan Pierce, 2012).

2.4.4 Uji Antibakteri Metode Kertas Cakram

Metode ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram kertas saring (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat penampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji. Kemudian diinkubasi pada waktu dan suhu tertentu, semua sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya, hasil yang didapat bisa diamati setelah inkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Pelczar dan Chan, 1988).

2.4.5 Pengukuran Zona Hambat

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi ukuran zona hambat (Greenwood, *et al.*, 1995) yaitu : Konsentrasi mikroba pada permukaan medium, semakin tinggi konsentrasi mikroba maka zona hambat yang terbentuk akan semakin kecil. Kedalaman medium pada cawan petri, semakin tebal medium pada

cawan petri maka zona hambat akan semakin kecil. Nilai pH pada medium, beberapa antibiotik bekerja dengan baik pada kondisi asam dan beberapa pada kondisi basa.

Tabel 2.5 Kategori zona hambat menurut Susanto, dkk (2012)

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April - Oktober tahun 2017 di laboratorium taksonomi jurusan biologi; institut Atsiri Universitas Brawijaya dan laboratrium biokimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat distilasi uap air yang terdiri dari boiler, distilator, dan kondensor, seperangkat alat gelas, neraca analitik (lokal), spatula, *hot plate*, *shaker*, aluminium foil (SIGMA), rak tabung reaksi (lokal), Cawan petri, *plasticwrap*, vial, KG-SM

3.2.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) diperoleh dari petani jeruk di daerah SeloRejo Kabupaten Malang, Etanol 95%, Na₂SO₄ anhidrat (Merck), Bakteri (*Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923), Antibiotik Chloramphenicol, NaCl (Merck), kertas Whatman no.1

3.3 Rancangan penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui pengujian eksperimental di Laboratorium. Sampel yang diambil adalah kulit Jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) dan diekstraksi menggunakan metode destilasi uap air selama 4 jam. Minyak atsiri yang diperoleh ditambah Natrium Sulfat anhidrat sebanyak 2% dari minyak atsiri yang diperoleh, diidentifikasi senyawa aktif menggunakan KG-SM selanjutnya diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dilakukan secara in Vitro menggunakan metode difusi cakram dengan analogi penentuan diameter zona hambatan.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Uji Taksonomi,
2. Preparasi sampel,
3. Ekstraksi dengan metode destilasi,
4. Identifikasi komponen minyak atsiri menggunakan KG-SM
5. Uji Aktivitas antibakteri metode cakram
6. Analisis data.

3.5 Pelaksanaan Penelitian

3.5.1 Uji Taksonomi

Uji taksonomi dilakukan untuk mengetahui jenis atau penggolongan suatu spesies tumbuhan maupun makhluk hidup lainnya. Adapun perlakuannya dengan melihat dan memperhatikan struktur yang dimiliki tumbuhan dan mencocokkan

kesamaan ciri-ciri yang tampak baik dari segi morfologi maupun anatominya dengan literatur.

3.5.2 Preparasi sampel

Sampel yang telah disiapkan berupa kulit jeruk (*Citrus sinensis* L.) diperoleh dari petani jeruk desa Selorejo, kabupaten Malang. kemudian dipotong dengan ukuran kurang lebih 2 cm untuk memperbesar luas permukaan.

3.5.3 Ekstraksi dengan metode destilasi uap air

Kulit jeruk sebanyak 20 kg dimasukkan kedalam ketel diatas sekat yang dibawahnya terdapat air, kemudian ketel ditutup dan direkatkan dengan pengunci sehingga ketel benar-benar tertutup sempurna, selanjutnya api pada kompor dinyalakan dan destilasi dilakukan selama kurang lebih 4 jam sampai destilat tidak keluar lagi dengan temperatur 100 °C. Minyak hasil destilasi kemudian dipisahkan menggunakan corong pisah dan ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat untuk menghilangkan kandungan air.

3.5.4 Identifikasi komponen minyak atsiri menggunakan KG-SM

Sebanyak 1 µL minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) diinjeksikan dengan menggunakan syringe ke dalam tempat KG-SM dengan kondisi operasional sebagai berikut:

Injektor	: mode split 1;60
Kecepatan linier	: 29.2 cm/sec
Jenis kolom	: DB-1 (100% dimetil polisiloksan, penyangga <i>fused silica</i>)
Panjang kolom	: 30 meter

Laju alir kolom	: 0,66 ml/min
Suhu kolom	: 40-310 °C dengan kenaikan suhu 10 °C/5 menit
Suhu detektor	: 310 °C
Jenis pengionan	: <i>Electron Impact</i> (EI)
Kecepatan aliran gas	: 0,5 mL/menit (konstan)
Gas pembawa	: Helium.

3.5.5 Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherchia coli* dan *Staphylococcus aureus*

3.5.5.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi bertujuan untuk memusnahkan mikroorganismenya yang terdapat dalam alat-alat atau bahan yang akan digunakan (Savitri dan Sinta, 2010). Sterilisasi dilakukan dengan cara mencuci alat-alat hingga bersih dan kemudian dikeringkan. Alat-alat dibungkus menggunakan kertas dan dibungkus menggunakan plastik. Langkah selanjutnya memasukkan semua alat dan bahan (termasuk media) ke dalam *autoclav* selama 20 menit dengan temperatur 121°C dengan tekanan 1 atm selama 20 menit (Mulyadi, dkk, 2013).

3.5.5.2 Pembuatan Media (Rosana, 2015)

Pembuatan media padat dilakukan dengan cara sebanyak 2,3 g *Nutrient Agar* dimasukkan ke dalam gelas beker kemudian ditambahkan 100 mL akuades dan dimasukkan *stirrer*. setelah itu dipanaskan di atas *hot plate* hingga mendidih. Proses selanjutnya dimasukkan pada 2 tabung reaksi sebanyak 5 mL dan sisanya pada erlenmeyer 250 ml. Tabung reaksi tersebut ditutup dengan kapas, dirapatkan dengan plastik warp dan dibungkus plastik tahan panas. Selanjutnya disterilkan dengan *autoklav* selama 15 menit pada tekanan 15 psi dan suhu 121°C (Volk dan

Wheeler, 1993). Media agar yang berada pada tabung reaksi dimiringkan 15-30° hingga memadat.

Media cair dibuat dengan cara sebanyak 1g *Nutrient Broth* dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam gelas beker, dimasukkan dalam erlenmeyer dan dipanaskan sampai mendidih. Erlenmeyer tersebut ditutup dengan kapas, dirapatkan menggunakan plastik warp dan dibungkus dengan plastik tahan panas. Media disterilkan dalam *autoklav* selama 15 menit pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi (Volk dan Wheeler, 1993).

3.5.5.3 Pembuatan Larutan Uji

Minyak atsiri yang diperoleh kemudian dibuat dengan variasi konsentrasi 0,25; 2; 10; 100 dan 500 mg/mL.

3.5.5.4 Peremajaan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* (Andriani, 2013)

Biakan murni bakteri diremajakan pada media agar padat miring. Mengambil bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan jarum ose dari stok yang akan digunakan. Jarum ose yang mengandung bakteri digoreskan secara aseptis pada media NA pada cawan yaitu dengan mendekatkan cawan pada nyala api saat menggoreskan jarum ose. Tabung ditutup kembali dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang.

3.5.5.5 Pembuatan Inokulum Bakteri (Andriani, 2013)

Hasil peremajaan biakan murni *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diambil 1 ose, dibiakkan dalam 10 mL media cair (*Nutrient Broth*) dan dishaker ±18 jam. Larutan ini berfungsi sebagai biakan aktif.

3.5.5.6 Uji Antibakteri

Media padat (tahap 3.5.5.2) yang telah dipanaskan hingga mencair, didinginkan sampai suhu ± 40 °C. Sebanyak 1 mL larutan biakan aktif bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri steril dan ditambahkan 10 mL *Nutrient Agar* yang telah dicairkan. Setelah itu dihomogenkan dengan cara di goyang (membentuk angka 8) dan dibiarkan hingga memadat. Kertas cakram steril yang telah direndam minyak atsiri kulit jeruk selama 30 menit dengan variasi konsentrasi 0,25; 2; 10; 100 dan 500 mg/mL ditempatkan di atas permukaan media. Kontrol positif yang digunakan adalah Kloramfenikol pada *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli* sedangkan Etanol 96% sebagai uji kontrol negatif diatas kertas cakram.

Kertas cakram tersebut kemudian diletakkan di atas permukaan media bakteri menggunakan pinset dan ditekan sedikit. Media bakteri yang sudah terdapat senyawa antibakteri diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan penggaris untuk menentukan efektifitas antibakteri (volk dan wheeler, 1993). Zona bening yang terbentuk diukur diameternya dengan jangka sorong.

3.5.5.7 Pengukuran Zona Hambat (Simarmata, 2007)

Luas zona hambat dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$Lz = Lav - Ld \dots\dots\dots 3.1$$

Dimana :

LZ = Luas zona hambat (mm)

Lav = Luas zona hambat dengan kertas saring (mm)

Ld = Luas diameter kertas saring (mm)

Kategori zona hambat menurut Susanto, dkk (2012) antara lain adalah :

Diameter	Kekuatan daya hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
≥ 21 mm	Sangat kuat

3.5.6 Analisis Data

Data yang diperoleh berupa nilai diameter zona hambat hasil uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan uji *anova* (Yitnosumarto, 1993).

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi minyak atsiri terhadap aktivitas antibakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* apabia :

- $F_{hitung} \geq F_{tabel}$ maka perlakuan variasi konsentrasi minyak atsiri terdapat pengaruh sehingga H_0 ditolak berarti variasi konsentrasi berpengaruh pada aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*.
- $F_{hitung} \leq F_{tabel}$ maka variasi konsentrasi minyak atsiri terdapat pengaruh sehingga H_0 diterima.

Selain dilakukan analisis secara saintis, dilakukan pula analisis berdasarkan pendekatan nalar spiritual berlandaskan Islam. Hasil yang diperoleh dari destilasi uap air berupa minyak atsiri dari limbah kulit jeruk manis yang berpotensi sebagai antibakteri ini sesuai dengan firman Allah dalam Q.S Al-A'raf ayat 56 dan Q.S Al Furqaan ayat 2 yang menegaskan agar kita tidak berbuat kerusakan di muka bumi. Kerusakan yang dimaksud adalah membiarkan limbah

kulit jeruk berserakan dan mengakibatkan penumpukan yang berpotensi terjadinya pencemaran lingkungan, banjir dan terjangkitnya penyakit tertentu.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian yang berjudul identifikasi komponen penyusun minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) asal Selorejo dan uji aktivitas antibakteri menggunakan metode kertas cakram dilakukan dengan melalui beberapa tahapan seperti: uji taksonomi buah jeruk, preparasi sampel, ekstraksi kulit jeruk dengan metode destilasi, identifikasi komponen minyak atsiri, uji aktivitas antibakteri metode kertas cakram dan analisis data. Minyak atsiri merupakan salah satu jenis minyak yang dihasilkan dari berbagai bagian tumbuhan, berwujud cairan kental pada suhu ruang dan mudah menguap, sehingga memberikan aroma yang khas. Minyak atsiri kulit jeruk dihasilkan dari proses destilasi uap air yang terjadi selama 3-4 jam. Adapun Minyak atsiri tersebut dihasilkan dari kulit buah jeruk manis yang telah diketahui spesiesnya berdasarkan uji taksonomi dan preparasi yang bertujuan untuk membersihkan dan memperbesar luas permukaan kulit jeruk.

4.1 Uji Taksonomi dan Preparasi Sampel

Uji taksonomi yang dilakukan pada buah jeruk asal selorejo di laboratorium taksonomi Jurusan Biologi Universitas Brawijaya diketahui memiliki spesifikasi Menurut Backer dan Van, (1968) klasifikasi Jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) adalah sebagai berikut :

Super Divisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliphyta
Kelas	: Magnolioosida

Sub Kelas	: Rosidae
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae
Genus	: Citrus L.
Spesies	: <i>Citrus sinensis</i> L.

Jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) yang diperoleh kemudian dilakukan preparasi meliputi: pencucian, pengeringan (kering-angin), dan pemotongan yang masing-masing bertujuan untuk membersihkan kulit jeruk dari pengotor berupa tanah dan sisa pestisida yang terkandung pada lapisan kulit jeruk, hal ini dimaksudkan agar pada proses isolasi dapat mempermudah masuknya uap air melalui pori-pori kulit jeruk. Pengeringan berfungsi untuk mengurangi kandungan air yang terdapat pada kulit jeruk. Pengeringan yang dilakukan membuat pori-pori kulit jeruk semakin besar, dan semakin besar pori-pori yang terbuka akan semakin mudah minyak yang tersimpan dibawah permukaan kulit jeruk menguap.

4.2 Ekstraksi Kulit Jeruk Manis dengan Metode Destilasi Uap-Air

Ekstraksi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) dilakukan dengan metode destilasi uap air, meskipun banyak metode lainnya namun destilasi uap air merupakan metode yang banyak digunakan untuk mengekstraksi persenyawaan dengan hasil rendemen yang lebih besar. Adapun selama proses destilasi berlangsung, dilakukan pengisian air ke dalam ketel sampai tanda batas berupa saringan, yang berfungsi untuk mengambil atau mengangkut minyak atsiri pada bahan menuju kondensor. Ketel yang telah diisi dengan air kemudian ditutup dengan saringan yang digunakan sebagai tempat bahan (kulit jeruk manis) agar

tidak terjadi kontak langsung dengan air. Gambar 4.1 merupakan rangkain alat destilasi uap-air.

Gambar 4.1 Alat Destilasi Uap-Air

Selanjutnya bahan yang telah dipreparasi kemudian dimasukkan dalam ketel di atas saringan, kemudian bagian ketel ditutup rapat dan dilanjutkan dengan menyambungkan ketel dengan alat gelas yang berupa kondensor dan penampung hasil destilasi, setelah alat terangkai sempurna kemudian air kondensor dinyalakan, air kondensor ini berfungsi untuk mengkondensasi uap-air dan minyak sehingga mengalir kembali ke penampung dalam bentuk cair. Selanjutnya pemanas dinyalakan dan dibiarkan sampai 3-4 jam. Pemanasan ini akan menghasilkan uap air yang akan membantu mendorong kelenjar minyak pada kulit jeruk sehingga terdorong keluar.

Pada proses destilasi akan terjadi peristiwa hidrodifusi yang mengakibatkan lisisnya dinding sel tanaman sehingga minyak yang terkandung didalamnya akan

terdorong keluar (Abdjul, dkk., 2012). Pada kulit jeruk terdapat kelenjar minyak diantara Flavedo dan Albedo yang dengan mudah akan terdorong bersamaan dengan uap air setelah lisisnya dinding sel pada kulit jeruk. Lisisnya dinding sel pada kulit jeruk diakibatkan karena adanya kontak antara uap air yang dihasilkan dari pemanasan pada alat destilasi dengan kulit jeruk yang sebelumnya telah dipreparasi. Selanjutnya uap air akan membawa partikel-partikel minyak yang terkandung di dalam kulit jeruk ikut menguap bersamaan dengan uap air.

Gambar 4.2 Reaksi hidrodifusi dinding sel kulit jeruk oleh uap-air

Hasil dari tumbukan yang berupa partikel minyak atsiri dan uap air akan menjadi satu menuju kondensor yang kemudian akan mengalami proses kondensasi sehingga pada akhirnya akan terbentuk dua lapisan di dalam penampung hasil berupa lapisan air (bawah) dan lapisan minyak (atas). Minyak atsiri hasil destilasi yang memiliki bau menyengat dan tidak berwarna selanjutnya ditambahkan natrium sulfat anhidrat untuk menghilangkan kandungan air yang terdapat pada minyak. Penambahan natrium sulfat anhidrat menghasilkan

gumpalan berwarna putih yang mengidentifikasi adanya molekul air. selanjutnya minyak hasil penambahan natrium sulfat anhidrat dikarakterisasi secara fisik meliputi Wujud, Warna, Randemen, Indeks bias dan Berat jenis. Adapun hasil yang diperoleh berupa minyak atsiri berwujud cair tidak berwarna dengan Randemen (%), Indeks bias (31°C) dan Berat jenis (27°C) berturut-turut sebesar 0,1; 1,467 dan 0,881.

4.3 Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Menggunakan KG-SM

Identifikasi komponen minyak atsiri dilakukan dengan KG-SM. Hal tersebut karena senyawa hasil destilasi bersifat volatil sehingga penggunaan instrument ini dinilai sesuai dengan melihat prinsip dasar dari KG-SM. Adapun proses pemisahan senyawa campuran menjadi senyawa tunggal terjadi berdasarkan perbedaan sifat kimia dan waktu yang diperlukan (spesifik untuk masing-masing senyawa). Hasil analisis senyawa hasil destilasi ditunjukkan pada Gambar 4.3.

Berdasarkan Gambar 4.3 diketahui bahwa senyawa hasil destilasi terpisahkan menjadi dua puncak senyawa. Kedua puncak tersebut mempunyai waktu retensi dan % luas area yang berbeda-beda. Puncak pertama dengan waktu retensi 9,692 menit mempunyai % luas area yang paling kecil. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa pada puncak pertama mempunyai persentase kadar yang paling kecil dibandingkan komponen lainnya pada minyak atsiri kulit jeruk.

Gambar 4.3 Hasil kromatografi gas minyak atsiri kulit jeruk

Tabel 4.1 Hasil pemisahan senyawa pada minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) hasil destilasi

Puncak	Waktu Retensi (menit)	Luas Area (%)	SI (%)	Rumus Molekul	Berat Molekul	Perkiraan Senyawa
1	9,692	0,22	89	$C_8H_{24}O_4Si_4$	296	<i>Cyclotetrasiloxane</i>
2	10,378	99,78	97	$C_{10}H_{16}$	136	<i>Limonene</i>

Hasil analisis puncak 1 dengan spektrometer massa ditunjukkan pada

Gambar 4.4.

Gambar 4.4 Spektra Massa puncak 1

Gambar 4.5 Pola Fragmentasi Puncak 1 (Aslamiyah, 2017)

Spektra massa puncak 1 mempunyai ion molekuler dengan m/z 281 yang memiliki pola fragmentasi menyerupai *Octamethyl-Cyclotetrasiloxane* dengan berat molekul sebesar 296. *Octamethyl-cyclotetrasiloxane* merupakan senyawa hidrokarbon yang terbawa dalam pengaturan kondisi laju alir kolom pada KG-SM yang tidak sempurna, sehingga mengakibatkan senyawa lain ikut terbaca dalam jumlah kecil pada kromatogram, yaitu sebesar 0,22%.

Spektra massa puncak ke dua ditunjukkan pada Gambar 4.6 Spektra massa senyawa dengan waktu retensi 10,378 menit tersebut mempunyai ion molekuler dengan m/z sebesar 136 yang sesuai dengan berat molekul limonen. Limonene mempunyai titik didih yang lebih tinggi dibandingkan cyclotetrasiloxane sehingga waktu retensi yang dimiliki lebih besar. Persentase limonen pada minyak atsiri kulit jeruk terbaca dengan konsentrasi yang sangat tinggi pada kromatogram,

yaitu 99,78%. Pola fragmentasi spektra massa puncak 2 ditunjukkan pada Gambar 4.8.

Gambar 4.6 Spektra Massa puncak 2

Gambar 4.7 Spektra Massa standar limonen (library WILEY7.LIB)

Gambar 4.8 Pola fragmentasi puncak 2 (Irawan, 2010)

Menurut Wibaldus, dkk (2016) senyawa target mempunyai ion molekuler dengan m/z sebesar 136. Spektra massa puncak ke dua mempunyai kesesuaian dengan spektra massa tersebut sehingga dapat dipastikan bahwa senyawa pada puncak ke dua merupakan senyawa dl-limonen.

Fragmen yang menjadi puncak dasar pada senyawa limonen membentuk ion molekul $[C_{10}H_{16}]^+$ dengan m/z 136 akibat hilangnya satu elektron. Kemudian melepaskan radikal CH_3 (15) sehingga membentuk ion molekul $[C_9H_{13}]^+$ dengan m/z 121. Selanjutnya melepaskan molekul CH_2 (14) membentuk ion molekul $[C_8H_{11}]^+$ dengan m/z 107 dan kembali melepaskan molekul CH_2 (14) membentuk ion molekul $[C_7H_9]^+$ dengan m/z 93. Ion molekul $[C_7H_9]^+$ melepaskan molekul CH_2 (14) sehingga membentuk $[C_6H_7]^+$ dengan m/z 80. Selanjutnya lepas molekul C_2H_2 (26) sehingga membentuk $[C_4H_5]^+$ dengan m/z 53. Ion molekul $[C_4H_5]^+$ melepaskan molekul CH_2 sehingga membentuk $[C_3H_3]^+$ dengan m/z 39. Menurut Siburian (2008) puncak pada $m/z = 68$ ini menunjukkan puncak khas dari limonen yakni terjadinya pemecahan sejenis reaksi homolitik *retro Diels-Alder* (reaksi yang terjadi antara dienofil dan alkena) pada fragmen yang menjadi puncak dasar ($m/z = 136$). Fragmen-fragmen yang kelimpahannya tinggi pada spektra massa menunjukkan kestabilannya cukup tinggi sehingga terbaca dalam jumlah besar oleh detektor.

4.4 Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri dengan Metode Kertas Cakram

Pada uji aktivitas antibakteri digunakan bakteri *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang mewakili golongan bakteri Gram negatif dan Gram positif. Penggunaan kedua bakteri ini bertujuan untuk

mengetahui spektrum dari senyawa antibakteri yang terdapat pada minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) asal Selorejo, Malang. suatu zat dikatakan berspektrum luas apabila dapat menghambat pertumbuhan keduanya, dan berspektrum sempit apabila hanya menghambat salah satu dari golongan bakteri tersebut (Pelczar. 1988).

Penghambatan aktivitas antibakteri oleh senyawa agen dapat disebabkan oleh beberapa faktor antara lain: 1) gangguan pada senyawa penyusun dinding sel, 2) peningkatan permeabilitas membran sel yang menyebabkan kehilangan komponen penyusun sel, 3) menginaktif enzim metabolik, 4) kerusakan fungsi material genetik. Menurut Fitriana (2010), terjadinya proses tersebut dimungkinkan karena adanya interaksi antara senyawa bakteri pada permukaan sel bakteri atau senyawa tersebut berdifusi ke dalam sel. Pengujian antibakteri minyak atsiri kulit jeruk menggunakan metode Kertas Cakram yang efektivitasnya ditunjukkan oleh besar zona hambat disekitar kertas. Pengujian ini digunakan variasi pada konsentrasi larutan antibakteri yaitu 0,25; 2; 10; 100 dan 500 mg/mL. Hasil yang diperoleh, menunjukkan minyak atsiri kulit jeruk manis asal Selorejo memiliki kemampuan antibakteri berspektrum sempit. Yaitu, hanya menghambat pertumbuhan salah satu bakteri saja yaitu, bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hal ini sejalan dengan penelitian (Ullah,2012) yang menjelaskan bahwa minyak atsiri kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) asal Pakistan resisten terhadap bakteri *Escherichia coli* ATCC 759. Penelitian pendukung lainnya adalah Mulyani, dkk (2009) menjelaskan bahwa minyak atsiri baik dari daun maupun kulit buahnya lebih aktif membunuh bakteri *S aureus*. Siddique et al, 2011 memberikan hasil yang menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit *Citrus*

aurantium dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif saja. Hal ini mungkin disebabkan karena adanya perbedaan susunan dinding sel bakteri.

Ekstrak uji yang digunakan tidak dapat larut dalam air. Hal ini dimungkinkan karena adanya perbedaan kepolaran sehingga digunakan etanol 95% sebagai pelarut. Hasil uji aktivitas antibakteri disajikan dalam tabel 4.2. Berdasarkan hasil uji tersebut, menunjukkan kecenderungan aktivitas yang meningkat dengan semakin tingginya konsentrasi larutan uji terhadap bakteri *S. aureus* yang ditandai dengan besarnya zona hambat disekitar kertas cakram.

4.2 hasil diameter zona hambat

Bakteri uji	Konsentrasi (mg/mL)	zona hambat			Rata-rata (mm)
		I	II	III	
<i>E. coli</i>	0.25	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	10	-	-	-	-
	100	-	-	-	2.4
	500	-	-	-	2.9
	Kontrol (+)	28.9	28	26.8	27.9
	Kontrol (-)	-	-	-	-
<i>S. aureus</i>	0.25	-	6.1	-	2.0
	2	6.5	6.8	6.9	6.7
	10	7.1	8.7	6.6	7.5
	100	10.2	7.3	6.9	8.1
	500	12.7	10.4	9.8	10.9
	Kontrol (+)	29.9	28.6	28.4	28.9
	Kontrol (-)	-	-	-	-

Besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan kedua bakteri ini jauh berbeda, hasil aktivitas antibakteri dari minyak atsiri kulit jeruk manis tertera pada tabel 4.2. Pada bakteri *S. aureus* terdapat zona hambat di setiap konsentrasi, sedangkan untuk bakteri *E. coli* hanya terdapat pada dua konsentrasi terbesar. Hal ini sejalan dengan penelitian (Mulyani, dkk 2009) yang mengatakan bahwa minyak atsiri baik dari daun maupun kulit buah keduanya lebih aktif membunuh

bakteri *S. aureus* dibandingkan dengan bakteri *E. coli*. Perbedaan aktivitas tersebut dimungkinkan karena adanya perbedaan struktur dinding sel bakteri. Dinding sel bakteri Gram positif tersusun dari peptidoglikan dan asam teikoat. Sementara dinding sel bakteri Gram negatif mempunyai struktur berlapis tiga yang terdiri dari peptidoglikan, lipoprotein dan lipopolisakarida.

Adanya lapisan lipopolisakarida pada membran sel bakteri Gram negatif akan melindungi senyawa-senyawa polar penyebab lisis sel gar tidak terjadi penetrasi pada membran. Sedangkan pada bakteri Gram positif tidak terdapat lapisan lipopolisakarida yang melindungi membran, mengakibatkan minyak atsiri akan lebih mudah merusak protein porin, sehingga menyebabkan sel lisis (More,2007). Minyak atsiri kulit jeruk manis mengandung terpena hidrokarbon (limonen) yang bersifat lipofilik, sehingga mudah menetrasi membran *E. coli*. Akan tetapi, pada penelitian yang dilakukan Ullah, *et al* (2012) menjelaskan bahwa minyak atsiri kulit jeruk (*Citrus aurantium*) resisten terhadap Bakteri *E. coli*. Begitu pula dengan penelitian Siddique, *et al* (2011) yang menjelaskan bahwa minyak atsiri kulit jeruk (*Citrus aurantium*) hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif saja.

Diameter zona hambat yang dihasilkan kemudian diinterpretasikan menggunakan analisis *one way* anova untuk melihat bagaimana hubungan antara besarnya konsentrasi yang diberikan terhadap bakteri uji dengan besar diameter zona hambat yang terbentuk.

Gambar 4.9 korelasi antara variasi konsentrasi dan jenis bakteri terhadap diameter zona hambat

Berdasarkan Gambar 4.9 menjelaskan bahwa terdapat hubungan sangat nyata antara besarnya konsentrasi dengan diameter zona hambat yang dihasilkan. Adapun hasil analisis SPSS menggunakan *one way* ANOVA diperoleh nilai levene test $0,014 < 0,05$ sehingga bisa dikatakan varian antar grup berbeda secara signifikan dan memiliki korelasi yang sangat kuat diantara keduanya.

4.5 Pemanfaatan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) sebagai Antibakteri dalam Perspektif Islam

Ekstraksi kulit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) dengan metode distilasi uap air merupakan salah satu bentuk upaya menjaga kebersihan dan kelestarian lingkungan. Kebersihan lingkungan dalam dunia isolasi dilakukan dengan pemanfaatan limbah kulit jeruk sebagai bahan dasar pembuatan minyak atsiri, dan Pelestarian lingkungan yang dilakukan dengan cara mengurangi penggunaan bahan-bahan yang bersifat toksik seperti pelarut organik.

Pentingnya memelihara lingkungan telah disebutkan oleh Allah SWT. dalam firmanNya Q.S Al-A'raf ayat 56.

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَدَعُوهُ حَوْفًا وَطَمَعًا ۚ إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ ﴿٥٦﴾

Artinya: “Dan janganlah kamu berbuat kerusakan di muka bumi, sesudah Allah memperbaikinya dan berdo`alah kepada-Nya dengan rasa takut (tidak akan diterima) dan harapan (akan dikabulkan). Sesungguhnya rahmat Allah amat dekat kepada orang-orang yang berbuat baik (Q.S. Al A’Raf Ayat: 56)”

Tafsir Al-Maraghi (1992), menjelaskan bahwa yang dimaksud dengan perusakan itu mencakup kerusakan terhadap akal, akidah, tata kesopanan, pribadi maupun sosial. Selain itu, mencakup juga sarana-sarana penghidupan, dan hal-hal yang bermanfaat untuk umum seperti lahan pertanian, perindustrian, perdagangan, dan sarana-sarana kerja sama untuk sesama manusia.

Sesungguhnya Allah SWT. menjadikan bumi dan seisinya sebagai anugerah bagi manusia. Allah yang telah membuat kemaslahatan dengan menciptakan hal-hal yang bermanfaat dan menunjukkan pada manusia tentang cara memanfaatkan bumi dengan menundukkan bumi itu kepada mereka.

أَوَلَمْ يَرَوْا إِلَى الْأَرْضِ كَمْ أَنْبَتْنَا فِيهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيمٍ ﴿٧﴾

Artinya: “dan apakah mereka tidak memperhatikan bumi, berapakah banyakNYA Kami tumbuhkan di bumi itu berbagai macam tumbuh-tumbuhan yang baik” (Q.S Ash-Shu’ara’ ayat7).

Ayat di atas mengisyaratkan bahwa berbagai macam tanaman yang tumbuh dengan adanya air hujan yang mengalir ke tanah yang gersang tersebut menyebabkan tanaman tersebut menjadi tanaman yang baik yaitu tanaman yang memiliki nilai manfaat yang sangat besar. Mulai dari akar, batang, daun, dan

buahnya bisa dimanfaatkan secara maksimal (Shihab, 2002). Salah satu contoh tanaman yang baik adalah tanaman buah jeruk. Mulai dari buah dan kulitnya dapat dimanfaatkan sebagai obat dan antibakteri. Banyak penelitian yang menyebutkan pemanfaatan kulit jeruk sebagai antibakteri terhadap berbagai jenis bakteri uji. Hasil penelitian ini, telah membuktikan bahwa kulit buah jeruk memiliki manfaat sebagai antibakteri dan juga membuktikan bahwa kita sebagai makhluk yang berakal mampu mengambil pelajaran dan berfikir tentang tanda kekuasaan Allah. Hasil penelitian ini menyatakan bahwa terdapat kandungan senyawa limonen dalam kulit buah jeruk dari hasil ekstraksi dengan metode destilasi uap-air yang merupakan senyawa aktif yang mempunyai potensi sebagai antibakteri.

Penelitian ini menunjukkan dengan adanya ilmu pengetahuan, kita mampu untuk mengetahui berbagai macam hal yang tentunya bertujuan untuk menambah ketauhidan dan kepercayaan kita kepada ajaran-ajaran Allah yang dijelaskan dalam Al-Qur'an. Allah berfirman dalam al Quran surat Al-Hajj ayat 54 yang berbunyi :

وَلِيَعْلَمَ الَّذِينَ أُوتُوا الْعِلْمَ أَنَّهُ الْحَقُّ مِنْ رَبِّكَ فَيُؤْمِنُوا بِهِ فَتُخْبِتَ لَهُ قُلُوبُهُمْ وَإِنَّ اللَّهَ لَهَادِ الَّذِينَ آمَنُوا إِلَى صِرَاطٍ مُسْتَقِيمٍ ﴿٥٤﴾

Artinya: “dan agar orang-orang yang telah diberi ilmu, meyakini bahwasannya Al Quran itulah yang hak dari Tuhanmu lalumereka beriman dan tunduk hati mereka kepadanya, dan sesungguhnya Allah adalah pemberi petunjuk bagi orang-orang yang beriman kepada jalan yang lurus” (QS. Al-Hajj ayat 54).

Menurut Abu Hanifah dalam kitab ta'limul muta'alim : “ilmu itu hanya untuk diamalkan (meninggalkan sesuatu yang fana demi sesuatu yang akan datang)”. Jadi, hendaknya manusia tidak mengabaikan apa yang bermanfaat dan apa yang

berbahaya di dunia dan diakhiratnya, seperti halnya limbah kulit jeruk yang biasa kita buang ternyata memiliki manfaat sebagai antibakteri.

Diameter zona bening yang dihasilkan bervariasi tergantung pada besarnya konsentrasi senyawa agen. Kondisi yang berbeda dapat memberikan hasil yang berbeda pula karena setiap hal mempunyai ketentuan dan ukuran masing-masing sebagaimana firman Allah dalam Q.S. Al-Furqaan ayat 2.

الَّذِي لَهُ مُلْكُ السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضِ وَمَآ يَتَّخِذُ وَلَدًا وَمَآ يَكُنْ لَهُ شَرِيكٌ فِي الْمُلْكِ وَخَلَقَ كُلَّ شَيْءٍ
فَقَدَرَهُ تَقْدِيرًا ﴿٢﴾

Artinya: “Yang kepunyaan-Nya lah kerajaan langit dan bumi, dan Dia tidak mempunyai anak, dan tidak ada sekutu bagi-Nya, dan Dia menciptakan segala sesuatu dan Dia menetapkan ukuran-ukurannya dengan serapi-rapinya (Q.S. Al-Furqaan Ayat: 2)”

Kata *qaddar* dalam segi bahasa berarti kadar tertentu yang tidak bertambah atau berkurang. Kata *qaddar* diartikan juga sebagai ketentuan dan sistem yang ditetapkan terhadap segala sesuatu. Ayat ini memberikan penjelasan sesuatunya telah diatur rapi dengan ukuran-ukuran tertentu (Shihab, 2002a).

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini adalah senyawa limonene yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap *E coli* dan *S aureus* dengan penentuan besarnya zona hambat yang terbentuk pada media.

Berdasarkan hasil perhitungan zona hambat menggunakan jangka sorong menunjukkan bahwa tingkat penggunaan minyak atsiri sangat nyata terhadap diameter daerah hambatan pertumbuhan bakteri *E. coli* dan *S. aureus*, artinya penggunaan minyak atsiri pada konsentrasi yang berbeda-beda akan memberikan pengaruh yang berbeda pula terhadap luas diameter zona hambat. Dimana semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri yang digunakan, maka pembentukan

zona hambat pada uji aktivitas terhadap kedua bakteri juga semakin besar (Samsundari, 2006). Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Dwijoseputro (1987) bahwa besar kecilnya diameter zona hambat disekitar kertas cakram tergantung pada konsentrasi seyawa atau obat yang digunakan.

Sebagai generasi ulul albab yang pada dasarnya juga merupakan khalifah bagi diri sendiri dan terlebih bermanfaat bagi orang lain, mengharuskan kita senantiasa bersyukur atas apa yang selama ini Allah SWT. karuniakan. Banyak fenomena alam yang memaksa kita untuk lebih kreatif dalam menyikapi permasalahan yang ada. Seperti halnya kulit jeruk yang selama ini kita kenal sebagai limbah yang berdampak pada kelestarian lingkungan. Banyaknya produksi buah jeruk berimbas kepada peningkatan jumlah kulit jeruk, yang akan menjadikan tingginya tingkat produksi limbah. Hal ini, mendorong kita untuk lebih berinovasi dalam mengembangkan limbah tersebut menjadi hal yang bermanfaat dengan mengolah kulit jeruk menjadi minyak atsiri terlebih dahulu. Minyak atsiri merupakan zat cair yang mudah menguap bercampur dengan persenyawaan padat yang berbeda dalam hal komposisi dan titik cairnya, minyak atsiri juga memiliki nilai ekonomi dan memiliki banyak manfaat, salah satunya sebagai antibakteri.

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

1. hasil uji KG-SM menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) mengandung senyawa dl-limonen sebesar 99,78.
2. Minyak atsiri kuit jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan nilai rata-rata diameter zona hambat yang diperoleh dari konsentrasi 0,25; 2; 10; 100 dan 500 mg/mL berturut-turut sebesar 2,0; 6,7; 7,5; 8,1; 10,9 dan 0; 0; 0; 2,4; 2,9 mm.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan pengujian lebih lanjut dengan metode difusi lainnya (silinder dan sumuran) agar diperoleh hasil yang lebih akurat.
2. Minyak atsiri dapat digunakan sebagai pengganti penggunaan alkohol dalam pembuatan *hand sanitizer* .
3. Perlu dilakukan pengujian dengan konsentrasi lebih dari 500 mg/mL agar diperoleh nilai optimum pada diameter zona hambat.
4. Perlu diperhatikan jumlah sel bakteri yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdul N, M. Paputungan, dan S. Duengo. (2012). Analisis komponen minyak atsiri pada tanaman nilam hasil destilasi uap air dengan menggunakan KG-SM.
- Al-Maraghi A. M (1992). Tafsir Al-Maraghi XI. Semarang : CV. Toha Putra.
- Albrigo, L. G dan R. D Carter. Structure of Citrus Fruit in Reaction to Processing di dalam S. Nagy, P. E. Shaw, dan M. K. Veldhuis (eds). Citrus Science and Technology Volume I. The AVI Publishing Company Inc. West Point, Connecticut.
- Agusta, A., (2000). Cara Sehat dengan Wewangian Alami. Jakarta : Penebar Swadaya
- Agusta, A. (2000). Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia. Bandung: ITB.
- BPS. (2013). <http://bps.go.id/Daudalamangka>. Dau dalam angka.
- Backer, A. dan V. D. Brink, B., (1968). Flora of Java (Spermatophytes Only),. Vol 1, N.V.P. Nederlands : Noordhoff-Groningen.
- Buccaile, Mauric., *Bible, Quran dan Sains modern*, terj. H.M. Rasjidi, Jakarta : Bulan Bintang.
- Andriani, Z. (2013). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Alga Merah Eucheema Cottoni Dari Pantai tujung Sumenep terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang : jurusan Kimia SAINTEK UIN Malang.
- Brooks, G.F, J.S Bute,. dan S,A., Morse. (2001). Medical Microbiology , 22th edition. Diterjemahkan oleh Mudihardi, dkk . Jakarta : Salemba Medika.
- Day dan Underwood. (1999). *Analisis Kimia Kuantitatif*. Jakarta: Erlangga.
- DeLeo. FR, M. Otto, B. N. Kreiswirth, and H.F Chambers. Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Laboratory of Human Bacterial Pathogenesis, Rocky Mountain Laboratories, National Institute of Allergy and Infectious Diseases, National Institutes of Health, Hamilton, MT 59840, USA. 2010.
- Dwijoseputro. P (1987). Dasar-dasar Mikrobiologi. Jakarta : Djambatan.

- Fitriana, Erny (2010). Analisis Komponen Kimia Minyak Atsiri daun Sirih (*Piper bettle Linn.*) dan Uji Aktivitas antibakteri terhadap Bakteri Gram negative (skripsi). Jakarta : UIN syarif Hidayatullah.
- Gandjar, I. dan Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Guenther, E. (1987). *Minyak Atsiri*. Jilid I dan IVA. Ketaren, S. Penerjemah Jakarta: Universitas Indonesia Press. Terjemahan dari: The Essential Oils.
- Greenwood. W. D. Robert, and W. Hooper, (1995). Public health laboratory service London. *Practical Food Microbiol.* (1): 40–43.
- Hardjono, S. (2004). *Kimia Minyak Atsiri*. Yogyakarta : UGM press.
- Haight, John F., 2004. Perjumpaan Sains dan Agama; dari Konflik ke Dialog. Bandung : Mizan.
- Hidayati, (2012). Distilasi minyak atsiri dari kulit jeruk Pontianak dan pemanfaatannya dalam pembuatan sabun aromatik.
- Irawan, C., (2010). Studi Komponen Bioaktif Daun Sirih Merah. Tesis. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Depok : Universitas Indonesia.
- Jawetz, E., J. L Melnick,, dan E. A., Adelberg. (1995). *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology)*, Edisi ke-16. Jakarta: EGC.
- Jawetz, E., J. L Melnick,, dan E. A., Adelberg. (2005). *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta : Salemba Medika.
- Kamal, G.M., F. Anwar., A.I. Hussain., N. Sarri., and M.Y. Ashraf. (2011). Yield and chemical composition of citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels. *International Food Research Journal* 18(4) : 1275-1282.
- Kardinan, A , (2005). *Tanaman penghasil minyak atsiri*. Jakarta : PT. Agromedia Pustaka.
- Kementrian Pertanian. (2013). *Statistik produksi Hortikultura*.
- Kirbaslar, F,G., T. Aydin., D. Basaran., and T. Gulen. (2009). Antimicrobial Activity of Turkish citrus peel oils. *Pak.J. Bot.*, 41(6) : 3207-3212.

- Leboffe, M.J., and B.E. Pierce. (2012). Brief microbiology laboratory theory & application 2nd edition. Englewood : Morton Publishing.
- Lestari, A., dan S. Arreneuz.(2014). Uji bioaktivitas minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour) terhadap rayap tanah (*Coptotermes curvignathus* sp). ISSN: 2303-1077.
- Lota, M.L., D.R. Serra., F. Tomi., and J. Casanova. (2001). *Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins.*, *Biochem Sys and Ecol.*, January 29,77-104.
- Magwa, M.L., M. Gundidza and N. Gweru. (2006). chemical composition and biological activities of essential oil from the leaves of sesuvium portulacastrum. *J Ethnopharmacol*, 103: 85-89.
- More, F.N., (2007). Antimicrobial Properties of Conifers Essential Oil, a Summary, London : Thompsons Rivers University
- Mulyadi, M.W., dan R.S. Purbowatiningrum. 2013. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Kadar sampel Alang-Alang (*Impretia cylindrica*) dalam Etanol Melalui Metode Difusi cakram. *Chem Info*. Vol. 1. No. 1. hal : 35-42.
- Mulyani S., Susilowati, dan M.M. Hatubarat. (2009). Analisis dan Daya Antibakteri Citrus amblycarpa (Hassk) Ochse. *Majalah Farmasi Indonesia*. 20 (3). P.127-132.
- Nengoguo T., L. Yueojin., and Z. Miao-ling. (2009). Chemical composition and antimicrobial activities of essential oil from the peel of bingtang sweet orange (*Citrus sinensis* Osbeck). *International Journal of food Sciences and Tecnology*. 44(7). 1281–1285.
- PDSIP. (2015). Komoditas pertanian subsector hortikultura (Outlook Jeruk). ISSN : 1907-1507.
- Pelczar M. J. dan E. C. S. Chan, (1988). Dasar-Dasar Mikrobiologi, Jilid 2, Terjemahan Ratna Sri Hadioetomo, dkk., Jakarta : Universitas Indonesia.
- Tan, Q.L.P., M.V. Ai and N.T. Thi-Minh. (2011). Volatile constituents of essential oil from citrus sinensis grown in Tieng Giang Province, Vietnam. *As. J. Food Ag-Ind*. 4(03), 183-186.

- Rosana, I.R. (2015). Aktivitas Antibakteri jamu "Empot Super" Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Malang : Jurusan Biologi Sintek UIN Malang.
- Samsundari, Sri (2006). Pengujian Ekstrak Temulawak dan Kunyit terhadap Resistensi Bakteri *Aeromonas hydrophila* yang menyerang Ikan Ma (*Cyprinus carpio*). Malang : UMM.
- Salle, A.J. (1978). *Fundamental Principles of Bacteriology*. NewYork : McGrawHill
- Sari, R., F.N.A. Mustari., dan S. Wahdaningsih. (2013). Aktivitas antibakteri minyak atsiri kulit jeruk Pontianak terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. ISSN : 1410-5918.
- Sari, V., A. Jayuska, dan Harlia,. (2016). Aktivitas antirayap minyak atsiri kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) terhadap rayap *Coptotermes* sp. ISSN : 2303-1077.
- Savitri, R dan S. Sinta. (2010). *Medium Analisa Mikroorganisme (Isolasi dan Kultur)* Jakarta : CV. Trans Info Media.
- Schaduw, J., J.A. Pojoh dan T.O Djahar., (2012). Isolasi dan identifikasi minyak atsiri pada daun nilam (*Pogostemon cablin* Benth).
- Shihab. M.Q (2002a). tafsir Al-Misbah. Pesa, kesan dan keserasian Al-Quran. Jilid 9. Jakarta : Lentera Hati.
- Siburian, R. (2008). Isolasi dan identifikasi komponen utama minyak atsiri dari kulit buah jeruk manis (*Citrus sinensis* L.) asal Timor, Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Natur Indonesia* 11(1), Oktober 2008: 8-13 ISSN 1410-9379, Keputusan Akreditasi No 55/DIKTI/Kep./2005.
- Siddique, S., Shafique, M., Parveen, Z., Khan SJ., Khanum R. (2011). Volatile components, antioxidant and antimicrobial activity of *Citrus aurantium* var. bitter oranges peel oil. *Pharmacologyonline*. 2: 499-507.
- Simarmata, Rumella, S. Lekatompessy dan H. Sukiman. (2007). Isolasi Mikroba Endofitik dari Tanaman Obat Sambung Nyawa (*Gynura procumbens*) dan Analisis Potensinya sebagai Antimikroba. *Jurnal Of berk*, 13(85).

- Smith-Keary P. F., (1988), Genetic Elements in Escherichia coli, Macmillan Molecular biology series, London, p. 1-9, 49-54.
- Supratman. U., (2010). Elusidasi Struktur senyawan Organik. Bandung : Widya Padjajaran.
- Susanto, D. S., dan Rega. (2012). Studi kandungan bahan Aktif tumbuhan Meranti merah (*Shorea leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa Antibakteri. Mulawarmnan scientifie. 11 (2) 181-190.
- Switaning, R.E.S, N. Fajari, dan M. Afi D.A., (2010). *Ekstraksi minyak atsiri dari limbah kulit jeruk manis di desa Gadingkulon kecamatan Dau kabupaten Malang sebagai campuran minyak goreng untuk penambah aroma terapi jeruk*. Malang : UNM.
- Syahrurachman A, A. Chatim, A. Soebandrio, A. Karuniawati. (1993). Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran. Edisi revisi. Jakarta : Binarupa Aksara.
- Tarwiyah, K. (2001). *Minyak Kulit Jeruk*. Teknologi Tepat Guna Agroindustri Kecil Sumatera Barat. Hasbullah. Dewan Ilmu Pengetahuan. Teknologi dan Industri Sumatera Barat.
- Todar, K. (2004). *Bacillus cereus Food Poisoning*. Todar's Online Text Book Of Bacteriology.
- Ulfa. M., T.N. Saifullah Sulaiman, dan R. Munawaroh, (2014). Formulasi sediaan gel antiseptic tangan minyak atsiri jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) burm f) dengan basis karbopol dan aktivitas antibakteri terhadap *S aureus*.
- Ullah, N., M. Amin, J. Ali, A. khan, Zia-ur-Rahman, S.M.U Khayam, F.A Khan, A. Hussain, M. Khurram, M. Nasimullah-Quarashi. (2012). chemical composition and antimicrobial activity evaluation of sweet orange (citrus cinenses) peels essential oil. ISSN : 0974-6943.
- Volk dan Wheeler.(1993). *Mikrobiologi Dasar Jasad V*. Jakarta : Erlangga.
- Wibaldus, A. Jayuska, dan P. Ardiningsih. (2016). Bioaktivitas minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap rayap tanah (*Coptotermes* sp). ISSN : 2303-1077.
- Yitnosumarto. (1993). *Percobaan Perancangan Analisa dan Interpretasi*. Jakarta : Penerbit PT. Gramedia Pustaka Utama.

LAMPIRAN

L.1 : Rancangan Penelitian

2. Diagram Alir

2.1 Destilasi Kulit Jeruk Manis

2.2 Uji aktivitas antibakteri dengan metode Difusi Agar Kirby-Bauer (Siregar, dkk., 2012)

2.2.1 Sterilisasi

2.2.2 Pembuatan Media

Nutrien Broth 1 g

- Dilarutkan dalam 100 mL aquades dalam gelas beker
- Dimasukkan dalam erlenmeyer dan dipanaskan sampai mendidih
- Erlenmeyer tersebut ditutup dengan kapas dan dirapatkan menggunakan plastik warp setelah pemanasan
- dibungkus dengan plastik tahan panas
- disterilisasi

Hasil

Nutrien Agar 2,3 g

- ditambahkan 100 mL akuades dan dimasukkan *stirrer*
- dipanaskan diatas *hot plate* hingga mendidih
- dimasukkan pada 2 tabung reaksi sebanyak 5 mL
- ditutup Tabung reaksi tersebut dengan kapas dan dirapatkan dengan plastik warp
- dibungkus plastik tahan panas
- Disterilisasi

Hasil

2.2.3 Peremajaan Bakteri

Media NA

- Diambil Koloni Bakteri dari biakan murni, dilakukan secara aseptik dengan jarum ose
- Digoreskan pada media agar
- Ditutup tabung reaksi menggunakan kapas dan dirapatkan dengan plastik warp

Hasil

2.2.4 Pembuatan Inokulum Bakteri (Andriani, 2013)

1 ose bakteri *Staphylococcus* dan *Escherichia coli* hasil peremajaan

- Ditambahkan kedalam 10 mL Media cair (NB)
- Dishaker $\pm$ 18 jam
- disterilisasi

Hasil

2.2.5 Pengujian Aktivitas Antibakteri

Media Padat (NA) dalam cawan petri

- Dimasukkan 1 mL larutan biakan aktif bakteri
- Dihomogenkan dengan cara di goyang (membentuk angka 8)
- Diletakkan Kertas cakram steril yang telah direndam minyak atsiri kulit jeruk dengan variasi konsentrasi 0,25; 2; 10; 100; dan 500 mg/mL selama 30 menit, diatas media.
- Diinkubasi pada suhu ruang selama 24 jam.
- Diukur Diameter meter zona hambat yang terbentuk menggunakan penggaris

Hasil

3. Perhitungan :

pembuatan larutan stok 500 mg/mL sebanyak 10 mL

Sebanyak 5 gr minyak atsiri kulit jeruk dilarutkan dalam etanol 96% dalam gelas ukur 10 mL

Pembuatan larutan dengan konsentrasi 0,25; 2; 10 dan 100 mg/mL menggunakan rumus pengenceran :

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

3.1 Konsentrasi 0,25 g/mL sebanyak 5 mL

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$500 \text{ mg/mL} \times V_1 = 0,25 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{1,25 \text{ mg}}{500 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = 0,0025 \text{ mL minyak atsiri}$$

3.2 Konsentrasi 2 g/mL sebanyak 5 mL

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$500 \text{ mg/mL} \times V_1 = 2 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{10 \text{ mg}}{500 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = 0,02 \text{ mL}$$

3.3 Konsentrasi 10 g/mL sebanyak 5 mL

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$500 \text{ mg/mL} \times V_1 = 10 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{50 \text{ mg}}{500 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = 0,1 \text{ mL}$$

3.4 Konsentrasi 100 g/mL sebanyak 5 mL

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

$$500 \text{ mg/mL} \times V_1 = 100 \text{ mg/mL} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{500 \text{ mg}}{500 \text{ mg/mL}}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

4. DATA GC-MS

Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Peak Report TIC				A/H	Mark	Name
				Area	Area%	Height	Height%			
1	9.692	9.633	9.742	23111	0.22	16303	0.41	1.41	MI	
2	10.378	10.292	10.642	10578560	99.78	3918316	99.59	2.69	MI	
				10601671	100.00	3934619	100.00			

Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:9.692(Scan#:804) MassPeaks:7

RawMode:Averaged 9.683-9.700(803-805) BasePeak:281.05(7188)

BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

Hit#:1 Entry:207734 Library:WILEY7.LIB

SI:89 Formula:C8 H24 O4 Si4 CAS:556-67-2 MolWeight:296 RetIndex:0

CompName:Cyclotetrasiloxane, octamethyl- (CAS) 1,1,3,3,5,5,7,7-OCTAMETHYL-CYCLOOCTASILOXANE SS OCTAMETHYL-(CYCLIC TE

Hit#:2 Entry:221078 Library:WILEY7.LIB

SI:87 Formula:C20 H26 O SI CAS:138983-00-3 MolWeight:310 RetIndex:0

CompName:1,3-Diphenyl-1-trimethylsilyloxy-1-pentene SS

Hit#:3 Entry:191533 Library:WILEY7.LIB
 SI:86 Formula:C17 H15 N O S CAS:0-00-0 MolWeight:281 RetIndex:0
 CompName:E / Z -3-(3",3"-Dimethyl-1"-butynyl) benzothiophen-2'-yl) -2-oxiranecarbonitrile SS

<< Target >>
 Line#:2 R.Time:10.375(Scan#:886) MassPeaks:64
 RawMode:Averaged 10.367-10.383(885-887) BasePeak:68.10(577181)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1

Hit#:1 Entry:26325 Library:WILEY7.LIB
 SI:97 Formula:C10 H16 CAS:5989-54-8 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:l-Limonene SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)-, (S)- (CAS) S (-)-Limonene SS p-Mentha-1,8-diene, (S)-(-) SS (-)-Limonene

Hit#:2 Entry:26305 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C10 H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:dl-Limonene SS Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (CAS) 1-P-MENTHA-1,8-DIENE SS Limonene SCinen SS Nesol SS Cinc

Hit#:3 Entry:26299 Library:WILEY7.LIB
 SI:95 Formula:C10 H16 CAS:138-86-3 MolWeight:136 RetIndex:0
 CompName:Cyclohexene, 1-methyl-4-(1-methylethenyl)- (CAS) 1-P-MENTHA-1,8-DIENE SS Limonene SS Dipentene SS Carvene SS Cinen SS Nc

5. DATA ANTIBAKTERI

5.1 hasil diameter zona hambat

Bakteri uji	Konsentrasi (mg/mL)	Zona hambat (mm)			Rata-rata (mm)
		I	II	III	
E coli	0,25	-	-	-	-
	2	-	-	-	-
	10	-	-	-	-
	100	-	7,1	-	2,4
	500	-	8,8	-	2,9
	Kontrol (+)	28,9	28	26,8	27,9
	Kontrol (-)	-	-	-	-
S aureus	0,25	-	6,1	-	2,0
	2	6,5	6,8	6,9	6,7
	10	7,1	8,7	6,6	7,5
	100	10,2	7,3	6,9	8,1
	500	12,7	10,4	9,8	10,9
	Kontrol (+)	29,9	28,6	28,4	28,9
	Kontrol (-)	-	-	-	-

6. DATA HASIL ANALISIS SPSS

ONEWAY zonahambat BY konsentrasi
 /STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
 /MISSING ANALYSIS
 /POSTHOC=BONFERRONI GH ALPHA(0.05).

Descriptives

diameter zona hambat
 (mm)

Konsentrasi (mg/mL)	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0.25	6	.183	.4491	.1833	-.288	.655	.0	1.1
2	6	.367	.4227	.1726	-.077	.810	.0	.9
10	6	.733	1.0614	.4333	-.381	1.847	.0	2.7
100	6	1.250	1.5476	.6318	-.374	2.874	.0	4.2
500	6	2.950	2.6197	1.0695	.201	5.699	.0	6.7
Total	30	1.097	1.6976	.3099	.463	1.731	.0	6.7

Test of Homogeneity of Variances

diameter zona hambat (mm)

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.886	4	25	.014

ANOVA

diameter zona hambat (mm)

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	29.745	4	7.436	3.454	.022
Within Groups	53.825	25	2.153		
Total	83.570	29			

Plot

7. DOKUMENTASI PENELITIAN

7.1 Destilasi

7.2 Penambahan $\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$

7.3 Uji Aktivitas Antibakteri

7.3.1 (*E coli*)

7.2.3 Rendam (*S aureus*)

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA FAKULTAS MIPA
 JURUSAN BIOLOGI
 Jl. Veteran, Malang 65145, Jawa Timur, Indonesia, Telp-fax : +62-341-575841
<http://biologi.ub.ac.id>

SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0198/UN10.F09.42/03/2017

Kepala Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, menerangkan bahwa spesimen yang dibawa oleh:

Nama : Alfianur (NIM 13630118)
 Ainul Izzah (NIM 13630127)
 Syu'aibatul Aslamiyah (NIM 13630128)

Instansi : Jurusan Kimia, Fakultas SAINTEK, UIN Maliki Malang

Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Flora of Java (Backer dan Van den Brink, 1968), volume II, halaman 82, diidentifikasi sebagai:

Familia : Rutaceae
 Genus : *Citrus* L.
 Species : *Citrus sinensis* L.
 Nama lokal : Jeruk baby

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 24 Januari 2017

Kepala Laboratorium

LABORATORIUM TAKSONOMI
 Dr. Serafinah Indriyani, M.Si
 NIP. 19630909.198802.2.001

KEMENTERIAN AGAMA RI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN) MALIKI MALANG
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
JURUSAN KIMIA

Gedung Sains dan Teknologi UIN Malang Lt.2 Jl. Gajayana 50 Malang Telp./Fax +62341558933
www.uin-malang.ac.id Email: info_uin@uin-malang.ac.id, kimia@uin-malang.ac.id

KARTU KONSULTASI PENELITIAN

Nama : ALFIANUR
NIM : 13630118
Judul Skripsi : Identifikasi Komponen Penyusun Minyak Atsiri Kulit Jeruk
Mamir (*Citrus sinensis* L.) Asal Selorejo dan Uji Aktivitas
Antibakteri menggunakan metode cakram kertas
Pembimbing Utama : Rachmawati Ningsih, M.Si
Pembimbing Agama : M. Mukhlis, F., M.Si
Konsultansi : A. Hanapi, M.Sc.

No	Tanggal	Materi Konsultasi	Catatan (ditulis tangan)	Tanda tangan (Pembimbing)
1	26/12 2016	Penentuan Judul dan Bab II	Perpaduan kata dan Penetapan metode Analisis	
2	31/12 2016	Perbaiki Bab III	Penetapan spesifikasi Alat	
3	9/01 2017	Bab I, II	penyelarasan antar paragraf	
4	20/01 2017	Perbaiki Bab I dan II	Penghilangan penggunaan kata/kalimat dengan istilah karya ilmiah populer	
5	25/01 2017	Pergantian Judul	Kesinambungan antar kata & isi proposal	
6	3/02 2017	Bab I, RA	Penggunaan kata dengan istilah karya ilmiah populer	
7	6/02 2017	Perbaiki Bab I, RA	Kesinambungan antar paragraf	
8	8/02 2017	Perbaiki Bab I	Pemfokusan ide pokok tiap paragraf	
9	10/02 2017	Bab II, III	Keselarasan dari tinjauan pustaka terhadap metode	
10	15/02 2017	Perbaiki bab II dan III	Pemfokusan tiap bab/subbab terhadap Bab III	
11	21/08 2017	Pengambilan data bab IV	Pengambilan data hasil GC-MS dan antibakteri	
12	11/09 2017	Perbaiki data bab IV	Pembacaan tren hasil antibakteri	
13	30/10 2017	Perbaiki bab IV	Pengurangan data antibakteri	
14	31/10 2017	Perbaiki hasil analisis	hasil analisis diperbaiki dengan plot yg sesuai	
15	10/11 2017	Perbaiki bab IV & V	Pengurangan paragraf & Perbaiki saran	
16	10/11 2017	Perbaiki bab IV	Integrasi	
17	15/11 2017	Perbaiki bab I, II, III, IV	Menambahkan Integrasi	
18	16/11 2017	Perbaiki bab IV	Penambahan Gambar & penjelasan	
19	4/1 2018	Penambahan bab IV	Penambahan Indeks bias	
20	5/1 2018	Penambahan bab IV	Penambahan Berat Jenis	