

FERMENTASI *Aspergillus sp* UNTUK PENINGKATAN RENDEMEN DAN MUTU MINYAK ATSIRI LIMBAH INDUSTRI SIRUP KALAMANSI

Tuti Tutuarima^{1*}, Dewi Handayani², Budiyanto¹, dan Ade Tri Hartawi¹

¹Jurusan Teknologi Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu

²Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Bengkulu

*Email: tutitutuarima@unib.ac.id

ABSTRAK

Kulit jeruk merupakan salah satu limbah yang dihasilkan dari industri pengolahan sirup kalamansi. Minyak kulit jeruk tersimpan dalam kantung minyak (oil gland) kulit (flavedo). Kulit jeruk mengandung selulosa, hemiselulosa, pektin dan komponen lainnya. Degradasi yang dilakukan agen biologis seperti bakteri dan fungi diharapkan mampu meningkatkan rendemen minyak. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan pengaruh perlakuan lama fermentasi dan jumlah inokulum terhadap rendemen minyak jeruk. Penelitian ini terdiri dari dua faktor yaitu lama fermentasi (2 hari, 4 hari, 6 hari) dan jumlah inokulum (2,5%, 5%, 7,5%). Data yang didapat dianalisis dengan metode ANOVA dan DMRT. Hasil penelitian menunjukkan bahwa lama waktu fermentasi dan jumlah inokulum memberi pengaruh nyata terhadap peningkatan rendemen dan tidak berpengaruh nyata terhadap karakteristik mutu minyak atsiri kulit jeruk kalamansi. Rendemen tertinggi diperoleh pada fermentasi 4 hari dengan inokulum 7,5% dengan kandungan senyawa D-limonen sebesar 93,22%.

Kata kunci- *Aspergillus sp*; limbah; kalamansi; minyak atsiri; D-limonene.

PENDAHULUAN

Keberadaan pengrajin sirup jeruk kalamansi mengakibatkan adanya limbah industri yang dihasilkan selama proses produksi. Limbah yang dihasilkan dari proses pengolahan jeruk kalamansi mencapai 60% dari bahan baku yang digunakan (40% limbah kulit dan ampas, 20% limbah cair hasil pengendapan) (Dewi, dkk., 2016). Limbah industri pengolahan jeruk kalamansi di Kota Bengkulu umumnya hanya dibuang saja. Limbah kulit yang dibuang cenderung menjadi masalah karena menghasilkan aroma yang tidak sedap dan mengganggu lingkungan di sekitarnya. Limbah olahan jeruk tersebut masih berpotensi untuk dikembangkan menjadi suatu produk, salah satunya minyak atsiri.

Tutuarima (2019) telah mengidentifikasi komponen minyak atsiri dari limbah cair industri sirup kalamansi. Hasil identifikasi menghasilkan 8 senyawa yang terdapat dalam limbah cair tersebut. D-limonen merupakan senyawa utama yang terkandung pada minyak tersebut dengan luasan area 75,92%. Cheong *et al.* (2012) melaporkan bahwa terdapat 79 komponen volatil pada kulit kalamansi asal Malaysia, Philippina, dan Vietnam. Minyak kulit jeruk mengandung komponen aktif yang bermanfaat, antara lain senyawa terpena, flavonoid, kumarin, linalol, dan lain-lain (Kamal *et al.*, 2011). Minyak kulit jeruk juga mengandung antimikroba dan antioksidan (Kademi & Garba, 2017; Lan-Phi & Vy, 2015) serta berfungsi sebagai larvasida (Sanei-dehkordi, *et al.*, 2016). Komponen utama yang ada pada minyak kulit jeruk adalah limonen (Kamal *et al.*, 2011; Lan-Phi and Vy, 2015; Sanei-dehkordi, *et al.*, 2016; Boudries *et al.*, 2017; Kademi and Garba, 2017). Limonene berfungsi untuk aditif bahan makanan, kosmetik, bahan tambahan perasa, aroma tambahan.

Rendemen minyak atsiri dipengaruhi oleh banyak faktor, salah satunya adalah perlakuan bahan sebelum penyulingan (*pretreatment*). Guenther (1990) menyebutkan bahwa minyak atsiri dalam tanaman aromatik dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, kantung minyak atau rambut glandular. Minyak atsiri hanya dapat diekstraksi apabila uap air berhasil melalui jaringan tanaman dan mendesaknya ke permukaan (hidrodifusi). Bila bahan dibiarkan utuh tanpa perlakuan awal, maka proses difusi berlangsung lambat. Perlakuan pada bahan sebelum proses penyulingan bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin. Menurut Ketaren (1985), perlakuan bahan sebelum penyulingan dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu dengan cara pengecilan ukuran, pengeringan / pelayuan, dan fermentasi oleh mikroorganisme.

Penggunaan mikroorganisme dan produk hasil metabolisme sekunder mikroorganisme berupa enzim telah banyak digunakan untuk meningkatkan rendemen minyak atsiri (Nurhadianty dkk, 2017; Cahyani dkk, 2017; Laurita and Herawati, 2014; Maimulyanti, *et al.*, 2016; Ortiz *et al.*, 2017; Ferreira,

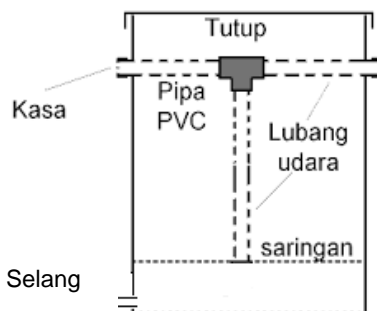
et.al., 2018). Tutuarima dan Handayani (2019) telah menggunakan bakteri pektinolitik dan selulolitik pada limbah jeruk kalamansi untuk produksi minyak atsiri. Rendemen minyak atsiri yang dihasilkan lebih tinggi daripada limbah yang tidak difermentasi. Keberadaan mikroorganisme pada proses fermentasi mampu merusak dinding sel sehingga membuka kantong minyak pada limbah kulit kalamansi (Tutuarima *et al.*, 2020). Isolasi mikroorganisme yang tumbuh pada limbah kulit jeruk kalamansi menghasilkan 5 isolat bakteri pendegradasi selulosa, 5 isolat bakteri pendegradasi pektin, dan 1 kapang yang mampu mendegradasi selulosa dan pektin.

Pemanfaatan teknologi fermentasi sebagai upaya untuk meningkatkan rendemen minyak kulit jeruk kalamansi masih perlu terus dilakukan. Tujuan penelitian yaitu menentukan lama fermentasi yang tepat pada pretreatment limbah kalamansi sehingga mampu menghasilkan minyak dengan rendemen yang tinggi.

METODOLOGI PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah wadah fermentasi dari peralatan sederhana (modifikasi komposter aerob menggunakan ember) seperti Gambar 1, 1 set alat destilasi uap, yang terdiri dari ketel suling, pendingin (kondensor), dan penampung hasil kondensasi, sedangkan alat lain yang digunakan dalam analisa antara lain : neraca analitik terkalibrasi dengan ketelitian 0,001 g, GCMS (*Nisti7 Library*). Bahan yang akan digunakan adalah limbah kulit jeruk kalamansi, ethanol 96% (*Merck*), toluene (*Merck*), sodium sulfat anhydrous (*Pudak scientific*).



Gambar 1. Rangkaian Fermentor

B. Persiapan Bahan dan Fermentasi

Limbah kulit kalamansi yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari industri pengolahan sirup kalamansi “Segar Asri” yang berlokasi di Kelurahan Padang Serai Kecamatan Kampung Melayu Kota Bengkulu. Limbah kulit jeruk dipisahkan dari bijinya. Fermentasi dilakukan dalam wadah fermentasi (Gambar 1) sesuai perlakuan yaitu lama fermentasi (2, 4, dan 6 hari) dan penggunaan inokulum (0; 2,5; dan 7,5%). Pengeringan dilakukan menggunakan alat pengering surya YSD-UNIB13 hingga kadar air berkisar 15-20%.

C. Penyulingan Minyak Kalamansi

Limbah kulit buah jeruk kalamansi yang telah mengalami fermentasi dan pengeringan kemudian dilanjutkan dengan proses penyulingan (distilasi). Metode distilasi yang digunakan adalah metode distilasi uap (*steam distillation*) dengan laju alir 65-70 ml/menit (Tutuarima & Antara, 2020). Proses penyulingan menggunakan kulit kalamansi sebanyak 3-4 kg selama 3 jam (dihitung dari tetesan pertama distilat)

D. Parameter Pengujian

Parameter pengamatan meliputi perhitungan rendemen yang mengacu pada SNI 8028-1:2014 (BSN, 2014) dan pengujian mutu yaitu berat jenis (BSN, 2018a), bilangan asam (BSN, 2018c), bilangan ester (BSN, 2018b) dan kelarutan dalam alkohol (ISO, 1999). Pengujian senyawa menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* dengan Library Nisti7.

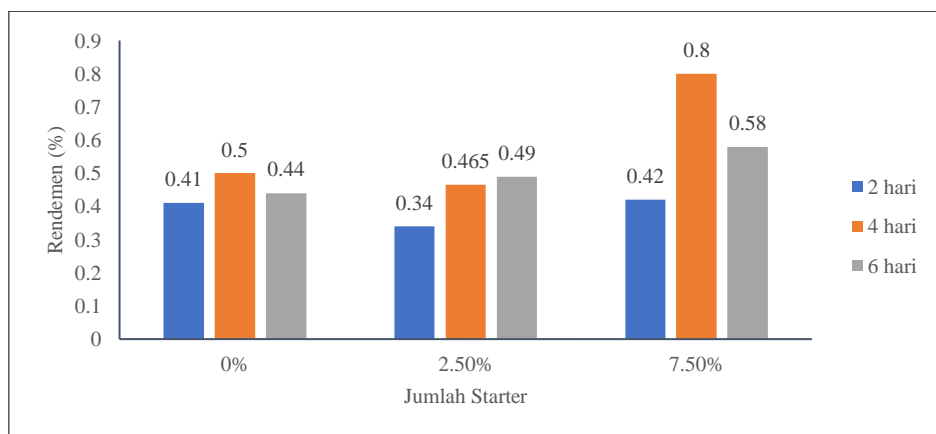
E. Analisis Data

Analisis data menggunakan ANOVA (*Analisis Of Varians*) dan DMRT (*Duncan Multiple Range Test*) dengan tingkat kepercayaan 95 % menggunakan program SPSS 21.

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Rendemen

Rendemen minyak atsiri merupakan persentase minyak atsiri yang dihasilkan per satuan berat kulit jeruk kalamansi. Rendemen dihitung untuk mengetahui banyaknya minyak atsiri yang diperoleh dari proses destilasi bahan. Hasil rata-rata rendemen dapat dilihat pada Gambar 2



Gambar 2. Rendemen Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi

Rendemen minyak atsiri kulit jeruk kalamansi yang dihasilkan antara interaksi perlakuan yaitu 0,34 % – 0,82 %. Berdasarkan Gambar 2, rendemen minyak atsiri kulit jeruk kalamansi yang telah difermentasi mengalami peningkatan seiring bertambahnya jumlah starter dan lama hari fermentasi, namun untuk lama fermentasi pada hari ke-0 dan ke-6 rendemen minyak atsiri berkurang pada jumlah starter 7,5%. Rendemen tertinggi didapat pada fermentasi hari ke 4 dengan konsentrasi 7,5% sebesar 0,80% dengan jumlah minyak 31 ml. Atria (2020), menerangkan bahwa hasil rendemen minyak atsiri yang tertinggi pada fermentasi kulit jeruk kalamansi menggunakan bakteri *Leuconostoc sp* didapatkan pada fermentasi hari ke 4 dengan starter 3% sebanyak 0,49%. Rendemen minyak atsiri kulit jeruk kalamansi dengan perlakuan fermentasi pada fermentasi hari ke 4 memiliki nilai rata-rata hasil rendemen lebih tinggi dari pada rendemen minyak atsiri kulit jeruk kalamansi (kering) yaitu sebesar 0,33 % (Dewi dkk., 2016). Peningkatan hasil rendemen melalui proses fermentasi disebabkan karena proses pemecahan sel-sel minyak pada kulit jeruk kalamansi (Ketaren, 1989).

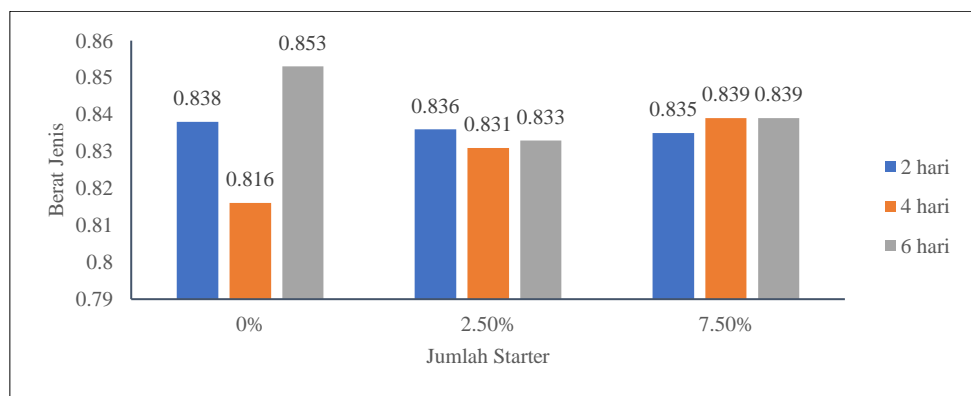
Fermentasi hari ke-4 diduga merupakan hari terbaik untuk meningkatkan rendemen minyak atsiri kulit jeruk kalamansi. Fermentasi hari ke-4 diduga merupakan waktu optimal *Aspergillus niger* tumbuh dan memberi waktu yang cukup lama bagi *Aspergillus niger* untuk melakukan aktivitasnya dalam upaya mendegradasi senyawa yang ada pada kulit jeruk kalamansi. Degradasi selama proses fermentasi dapat mempermudah dalam memecahkan sel-sel minyak sehingga minyak yang dapat diekstraksi lebih banyak. Hasil ini sesuai dengan penelitian Khasanah et al. (2014) yang memperoleh hasil terbaik pada hari ke-4 pada fermentasi daun kayu manis menggunakan ragi tempe.

Enzim selulase dan pektinase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger* selama fermentasi merupakan komponen yang berperan penting dalam mendegradasi bahan. Penggunaan enzim untuk meningkatkan rendemen minyak juga telah dilakukan antara lain enzim selulase untuk ekstraksi minyak cengkeh (Amudan et al., 2011) dan ekstraksi minyak thyme (Rashed et al., 2017), enzim pektinase untuk ekstraksi minyak cengkeh (Maimulyanti et al., 2016) serta enzim hemiselulase untuk ekstraksi daun *Artemisia*.

B. Berat Jenis

Berat jenis merupakan salah satu kriteria penting dalam penentuan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Berat jenis adalah perbandingan berat zat di udara pada suhu 20°C - 25°C terhadap berat air

dengan volume dan suhu yang sama. Pengaruh penggunaan *Aspergillus sp* terhadap berat jenis minyak kalamansi disajikan pada Gambar 3.



Gambar 3. Berat jenis minyak kulit jeruk kalamansi

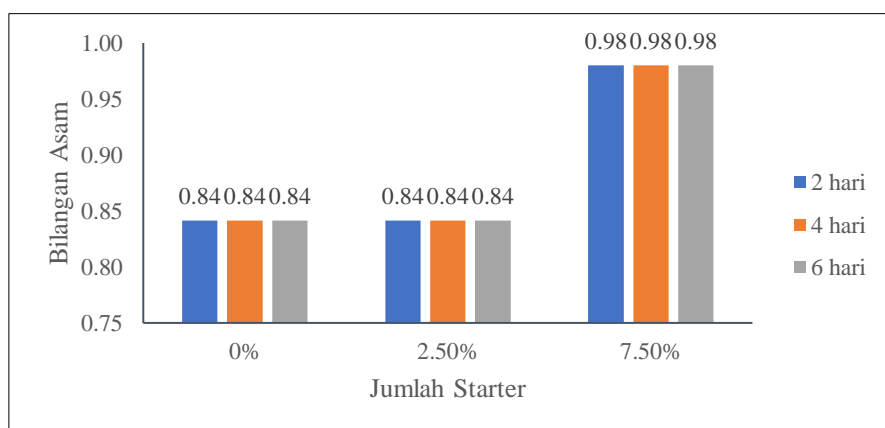
Gambar 5 menunjukkan nilai berat jenis minyak atsiri kulit jeruk kalamansi berada pada rentang 0,81 -0,85. Nilai berat jenis tertinggi pada lama hari fermentasi ke 4 dan ke 6 pada jumlah starter 7,5% %. Tingginya nilai berat jenis dipengaruhi oleh banyaknya minyak terekstraksi sehingga komponen-komponen yang terkandung dalam minyak lebih kompleks. Hasil ini tidak jauh berbeda dari penelitian yang dilakukan Dewi et al. (2016) memperoleh berat jenis minyak atsiri yang berasal dari hasil samping sirup kalamansi baik itu limbah cair atau padat bekisar 0,83 - 0,84.

Berat jenis suatu minyak dipengaruhi oleh jenis dan jumlah komponen senyawa yang terkandung dalam minyak. Setiap komponen mempunyai berat jenis yang berbeda-beda, pada umumnya minyak atsiri yang berasal dari bahan baku jeruk memiliki persentase kandungan senyawa *Limonene* yang lebih tinggi. Senyawa *Limonene* memiliki berat jenis 0,84. Semakin tinggi konsentrasi komponen minyak maka semakin tinggi pula berat jenisnya.

Komponen utama dari minyak atsiri kulit jeruk adalah golongan monoterpen yaitu senyawa limonen. Minyak atsiri jeruk kalamansi diduga mengandung senyawa terpen tak teroksidasi. Guenther (1990), menjelaskan bahwa komponen yang larut dalam air sebagian besar terdiri dari senyawa-senyawa teroksigenasi (termasuk sinamaldehyd) yang mempunyai berat jenis lebih besar dari senyawa-senyawa tidak teroksigenasi (terpen, sesquiterpene, dan lain-lain), oleh karena itu minyak atsiri kulit jeruk kalamansi memiliki nilai berat jenis yang lebih kecil dari tanaman citrus yang lainnya.

C. Bilangan Asam

Bilangan asam dari suatu minyak didefinisikan sebagai jumlah miligram KOH yang dibutuhkan untuk menetralkan asam bebas dalam 1 atau lebih gram minyak. Sebagian besar minyak atsiri mengandung sejumlah kecil asam bebas. Jumlah asam bebas biasanya dinyatakan sebagai bilangan asam. Hasil bilangan asam minyak atsiri jeruk kalamansi dapat dilihat pada Gambar 4.

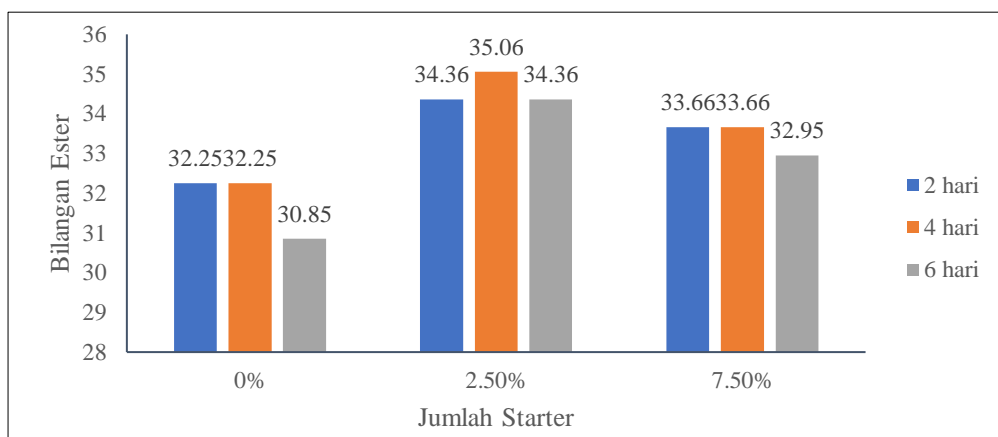


Gambar 4. Bilangan asam minyak jeruk kalamansi

Bilangan asam yang diperoleh pada penelitian ini berkisar antara 0,84 – 0,98. Dewi et al. (2016) memperoleh bilangan asam dari minyak atsiri yang didestilasi dari limbah padat sirup kalamansi yaitu 1,4330 mg-KOH/g. Bilangan asam yang besar menunjukkan asam lemak bebas yang besar yang berasal dari hidrolisis minyak ataupun karena proses pengolahan yang kurang baik. Makin tinggi angka asam, semakin rendah kualitasnya. Sebayang., (2011), menyatakan bahwa bilangan asam yang semakin besar dapat mempengaruhi kualitas, diantaranya mengubah aroma khas minyak atsiri. Nilai asam pada penelitian ini lebih kecil dari pada nilai asam penelitian sebelumnya mengenai minyak atsiri kulit jeruk kalamansi diduga karena setelah destilasi minyak di tambahkan sodium sulfate, anhidrus (Na₂SO₄)/ Natrium sulfat, anhidrat, penambahan ini bertujuan untuk memisahkan air yang terikat dalam minyak atsiri setelah destilasi.

D. Bilangan Ester

Bilangan ester merupakan banyaknya jumlah alkali yang diperlukan untuk penyabunan ester dan merupakan salah satu komponen berharga dalam minyak atsiri. Adanya bilangan ester pada minyak dapat menandakan bahwa minyak tersebut mempunyai aroma yang baik. Bilangan ester selalu terdapat dalam hampir semua minyak atsiri dalam konsentrasi yang berbeda. Semakin banyak minyak atsiri yang terekstrak dan semakin besar bilangan esternya, maka kualitas minyak atsiri semakin baik.



Gambar 5. Bilangan ester minyak jeruk kalamansi

Gambar 5 memperlihatkan nilai rata-rata bilangan ester pada minyak atsiri kulit jeruk kalamansi yaitu 30,85 mg KOH /g minyak – 35,06, mg KOH /g minyak. Hasil uji ANOVA dengan taraf 5 % menunjukkan lama fermentasi yang diberikan berpengaruh nyata terhadap bilangan ester dengan nilai signifikan 0,070. Adanya bilangan ester pada minyak atsiri ini selaras dengan aroma wangi minyak atsiri yang dihasilkan. Keberadaan mikroorganisme pada proses fermentasi mampu merusak dinding sel sehingga membuka kantong minyak pada limbah kulit kalamansi (Tutuarima et al., 2020).

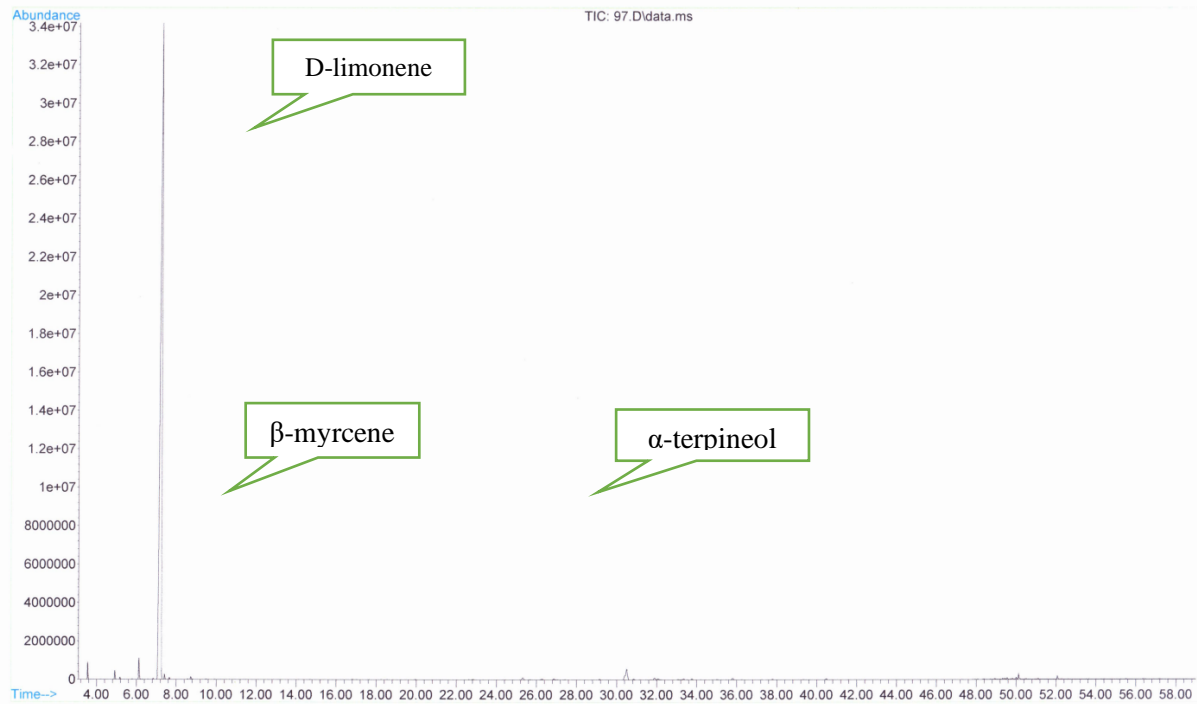
E. Komposisi Senyawa

Proses fermentasi mempengaruhi perolehan komposisi senyawa minyak atsiri yang dihasilkan. Selama berlangsungnya fermentasi terjadi degradasi bahan oleh mikroorganisme sehingga proses ini diduga menjadi penyebab perubahan komposisi senyawa tersebut. Namun senyawa yang paling dominan dari semua perlakuan sama yaitu D-limonen, hanya saja dengan persentase kandungan yang berbeda (Tabel 1). Hal ini sesuai dengan hasil GC yang memperlihatkan puncak yang berbeda, dimana puncak senyawa yang diduga sebagai D-limonen memiliki puncak tertinggi (Gambar 6).

Tabel 1. Kandungan senyawa minyak atsiri pada berbagai lama fermentasi

Senyawa*	Fermentasi 2 hari	Fermentasi 4 hari	Fermentasi 6 hari
D-limonene	92,15	93,22	89,48
3-Cyclohexene-1-methanol, alpha,alpha,4-trimethyl-(R) atau α -terpineol	1,83	1,72	4,47
β -myrcene	1,09	1,24	1,26

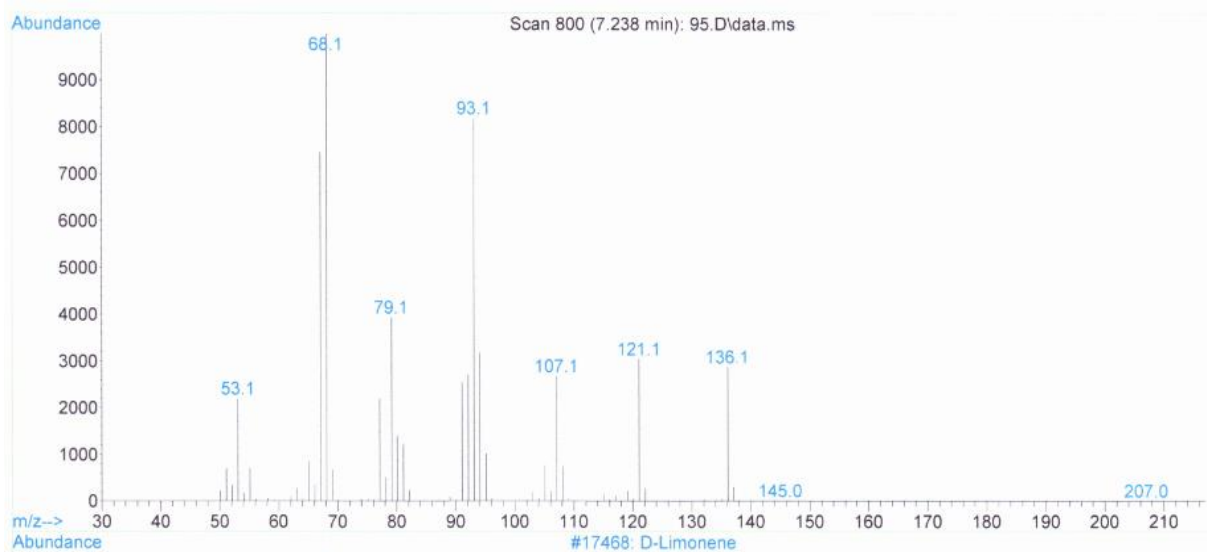
*Hanya 3 senyawa paling dominan



Gambar 6. Hasil GC-MS fermentasi 4 hari

Kandungan senyawa D-limonen paling tinggi diperoleh pada perlakuan fermentasi 4 hari yaitu 93,22%. Diduga pada fermentasi selama 4 hari ini semua kandungan yang ada pada bahan dapat keluar maksimal. Hal ini juga ditandai dengan perolehan rendemen tertinggi jg diperoleh pada perlakuan ini. Sementara fermentasi 6 hari mengakibatkan senyawa D-limonen menurun cukup banyak. Namun pada perlakuan ini, senyawa α -terpineol meningkat. Diduga perpanjangan waktu fermentasi mengakibatkan terjadinya perombakan/biotransformasi beberapa senyawa.

D-limonen merupakan *finger print* penanda untuk minyak jeruk. Menurut Sugiantoro et al., (2016), ciri khas dari fragmentasi limonen adalah dengan munculnya puncak m/z 68 pada spektrum massa limonen. Hal ini disebabkan limonen merupakan salah satu senyawa sikloalkena, dimana pemecahan cincin sikloalkena menghasilkan suatu diena dan dienofil (Gambar 7).



Gambar 7. Spektrum massa D-limonene

KESIMPULAN

Penggunaan *Aspergillus sp.* mampu meningkatkan rendemen minyak atsiri dari limbah kulit kalamansi hingga 0,8% pada penggunaan starter 7,5% dibandingkan tanpa starter. Perolehan rendemen tertinggi sebesar 0,8% serta kandungan senyawa D-limonene tertinggi yaitu sebesar 93,22 % diperoleh pada perlakuan fermentasi 4 hari.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada pihak Universitas Bengkulu yang telah membiayai kegiatan penelitian ini melalui Dana PNPB Universitas Bengkulu Tahun 2020 Nomor Kontrak 2040/UN30.15/PG/2020 serta pihak-pihak yang telah membantu kegiatan ini sehingga dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amudan, R., Kamat, D. V., & Kamat, S. D. (2011). Enzyme - assisted extraction of essential oils from *Syzygium aromaticum*. In *South Asian Journal of Experimental Biology* (Vol. 1, Issue 6, pp. 248–254).
- Boudries, H., Loupassaki, S., Ladjal Ettoumi, Y., Souagui, S., Bachir Bey, M., Nabet, N., Chikhoun, A., Madani, K., & Chibane, M. (2017). Chemical profile, antimicrobial and antioxidant activities of *Citrus reticulata* and *Citrus clementina* (L.) essential oils. *International Food Research Journal*, 24(4), 1782–1792.
- BSN. (2014). *SNI 8028-1:2014 tentang Alat Penyulingan Minyak Atsiri – Bagian 1 : Sistem Kukus – Syarat Mutu dan Metode Uji*. Badan Standardisasi Nasional.
- BSN. (2018a). *SNI 8581:2018 ISO 279:1998 tentang Minyak atsiri - Penentuan bobot jenis relatif pada 20 °C - Metode acuan (ISO 279:1998, IDT)*. Badan Standardisasi Nasional.
- BSN. (2018b). *SNI 8584-2018 ISO 709-2001 tentang Minyak atsiri – Penentuan bilangan ester (ISO 709:2001)*. Badan Standardisasi Nasional.
- BSN. (2018c). *SNI 8586:2018 ISO 1242:1999 tentang Minyak atsiri – Penentuan bilangan asam*. Badan Standardisasi Nasional.
- Cahyani, C., Nurhadianty, V., Moh, R., Arifin, M., Alif, K., Wicaksono, B., & Sarosa, H. (2017). Degradasi Selulolitik Daun Cengkeh Menggunakan *Aspergillus Niger* Untuk Meningkatkan Yield Minyak pada Penyulingan. *Jurnal Rekayasa Bahan Alam Dan Energi Berkelanjutan*, 1(1), 29–35.
- Cheong, M. W., Chong, Z. S., Liu, S. Q., Zhou, W., Curran, P., & Bin Yu. (2012). Characterisation of calamansi (*Citrus microcarpa*). Part I: Volatiles, aromatic profiles and phenolic acids in the peel. *Food Chemistry*, 134(2), 686–695. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2012.02.162>
- Dewi, K. H., Mujiharjo, S., & Utama, A. (2016). Potensi Pengolahan Hasil Samping Sirup Kalamansi Menuju “Zero Waste.” *Jurnal Agroindustri*, 6(1), 8–17.
- Ferreira, E. D. S., Rogez, H. L. G., & Herman, C. A. N. P. (2018). Effect Of The Combination Of Enzymatic Preparations On The Aqueous Extraction Yield Of The Oil From The Pulp of *Euterpe oleracea* Fruit. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 35(04), 1193–1201. <https://doi.org/10.1590/0104-6632.20180354s20170305>
- Guenther, E. (1990). *Minyak Atsiri Jilid I* (S. Ketaren (ed.)). UI Press.
- ISO. (1999). *ISO 875 Essential oils - Evaluation of Miscibility in Ethanol* (Vol. 1999). International Organization for Standardization.
- Kademi, H. I., & Garba, U. (2017). Citrus peel essential oils : a review on composition and antimicrobial activities. *International Journal of Food Safety, Nutrition, Public Health and Technology*, 9(5), 38–44.
- Kamal, G. M., Anwar, F., Hussain, A. I., Sarri, N., & Ashraf, M. Y. (2011). Yield and chemical composition of Citrus essential oils as affected by drying pretreatment of peels. *International Food Research Journal*, 18(4), 1275–1282.
- Ketaren, S. (1985). *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Balai Pustaka.
- Khasanah, L. U., Utami, R., Ananditho, B. K., & Nugraheni, A. E. (2014). Pengaruh Perlakuan

- Pendahuluan (Segar, Fermentasi Padat dan Fermentasi Cair) Terhadap Rendemen dan Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Kayu Manis (Cinnamon leaf oil). *Agritech*, 34(1), 36–42.
- Lan-Phi, & Vy. (2015). Chemical composition , antioxidant and antibacterial activities of peels ' essential oils of different pomelo varieties in the south of Vietnam. *International Food Research Journal*, 22(6), 2426–2431.
- Laurita, L., & Herawati, M. M. (2016). Pengaruh Waktu Fermentasi Padat Terhadap Karakteristik Mutu Fisik dan Hasil Rendemen Minyak Atsiri Limbah Kulit Jeruk Manis (Citrus sinensis var. Baby Pacitan). In T. M. Prihanti & M. M. Herawati (Eds.), *Prosiding Konser Karya Ilmiah* (pp. 43–50). Fakultas Pertanian dan Bisnis Universitas Kristen Satya Wacana.
- Maimulyanti, A., Prihadi, A. R., & Safrudin, I. (2016). Effect of pectinase enzyme on distillation rate of eugenol , caryophyllene and eugenyl acetate from essential oil of clove bud (*Syzygium aromaticum*). *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 5(4), 266–268.
- Nurhadianty, V., Cahyani, C., Ode, W., & Nirwana, C. (2017). Peningkatan Yield Minyak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan Fermentasi Selulolitik Menggunakan *Trichoderma harzianum*. *Jurnal Rekayasa Bahan Alam Dan Energi Berkelanjutan*, 1(1), 36–41. <https://doi.org/10.21776/ub.rbaet.2017.001.01.06>
- Ortiz, G. E., Ponce, M. C., Diego, M., Gabriela, G. N., Saravalli, C., López, M. C., Gil, G. P., Blasco, M., & Albertó, E. O. (2017). Pectinase production by *Aspergillus giganteus* in solid - state fermentation : optimization , scale - up , biochemical characterization and its application in olive - oil extraction. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 44(2), 197–211. <https://doi.org/10.1007/s10295-016-1873-0>
- Rashed, M. M. A., Tong, Q., Rotail, A., Al-farga, A., Aboshora, W., & Al-Hajj, N. Q. M. (2017). Extraction Of Essential Oil From *Lavandula angustifolia* Flowers Preceded By Enzymatic Pre-Treatment And Investigate Its Activity Against Free Radicals. *International Journal of Research in Agricultural Sciences*, 4(2), 2348–3997.
- Sanei-dehkordi, A., Sedaghat, M. M., & Vatandoost, H. (2016). Original Article Chemical Compositions of the Peel Essential Oil of Citrus aurantium and Its Natural Larvicidal Activity against the Malaria Vector *Anopheles stephensi* (Diptera : Culicidae) in Comparison with Citrus paradisi. *J Arthropod-Borne Dis*, 10(4), 577–585.
- Sugiantoro, Jayuska, A., & Alimuddin, A. H. (2016). Biotransformasi Limonen Dari Minyak Atsiri Kulit Jeruk Pontianak. *Jkk*, 5(3), 3–7.
- Tutuarima, T. (2019). Identifikasi senyawa volatil minyak atsiri dari cairan hasil samping industri sirup kalamansi. *Prosiding Semirata BKS PTN Wilayah Barat Bidang MIPA. Bengkulu, 6-7 Juli 2019*, 356–362.
- Tutuarima, T., & Antara, Y. I. (2020). Kinerja Alat Penyulingan Minyak Atsiri Limbah Industri Sirup Kalamansi Skala Kecil Dengan Metode Steam Distillation. *AGRITEKNO: Jurnal Teknologi Pertanian*, 9(2), 42–47. <https://doi.org/10.30598/jagritekno.2020.9.2.42>
- Tutuarima, T., & Handayani, D. (2019). *Rekayasa Pre-Treatment Bahan Baku Menggunakan Fermentasi Selulolitik Dan Pektinolitik Sebagai Upaya Peningkatan Rendemen Minyak Kulit Jeruk Kalamansi*.
- Tutuarima, T., Handayani, D., Hidayat, L., & Atria, P. (2020). Pengaruh Fermentasi Alami Limbah Industri Kalamansi Terhadap Peningkatan Rendemen dan Mutu Minyak Atsiri. *Agritepa*, 7(2), 80–87.