



Isolasi dan Karakterisasi Minyak Asiri Jeruk Nipis menggunakan GC-MS dan Aktivitasnya terhadap Bakteri Patogen Kulit

Nastiti Nur Indriyani¹, Adi Susanto²

¹⁻² STIKes Ibnu Sina Ajibarang

Alamat: Wakalbangkong, Pandansari, Kec. Ajibarang, Kabupaten Banyumas, Jawa Tengah 53163

Korespondensi penulis: nastitindriyani@stikes-ibnusina.ac.id

Abstract. In the fruit processing industry, peel is one of the main by-products. Non-edible portions of fruit are likewise seen as waste and are frequently thrown out into the environment. Nowadays, one of the main sources used by the pharmaceutical sector to isolate and extract secondary metabolites is fruit peels. Many applications known for lime peel, especially for antibacterial. This study focuses on the isolation, chemical composition characterization, and antibacterial activity on skin pathogenic bacteria of lime peel essential oil (LPEO). LPEO were isolated using steam distillation and characterized by GC/MS. A total of 24 components were identified. The major constituents of the LPEO were d-limonene (40.24%), β -terpinene (15.68%), sabinene (13.15%), citral (3.41%), α -Terpineol (3.40%), and terpinene-4-ol (2.94%). The antibacterial activity was determined using the Kirby-Baurer method against several bacteria that can cause skin infections. The antibacterial activity of LPEO against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acne* is confirmed. LPEO showed varied levels of antibacteria activity against the gram positive and gram negative bacteria. Zone of inhibition (ZOI) in millimetres was used to measure the antibacterial activity, and amoxicillin was used as a control.

Keywords: antibacteria, GC-MS, lime peel essential oil, Kirby-Baurer.

Abstrak. Kulit buah merupakan salah satu produk samping pada industri pengolahan buah. Bagian buah yang tidak dapat dimakan ini sering dianggap limbah dan dibuang ke lingkungan. Padahal, kulit buah merupakan salah satu sumber yang dapat diisolasi dan diekstrak metabolit sekundernya. Kulit jeruk nipis diketahui memiliki banyak manfaat terutama sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi, mengkarakterisasi senyawa kimia dan aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen kulit dari minyak asiri kulit jeruk nipis (LPEO). LPEO diisolasi menggunakan destilasi uap dan dikarakterisasi dengan GC-MS. Sebanyak 24 komponen berhasil diidentifikasi. Adapun konstituen utama LPEO adalah d-limonene (40,24%), β -terpinene (15,68%), sabinene (13,15%), citral (3,41%), α -Terpineol (3,40%), dan terpinene-4-ol (2,94%). Aktivitas antibakteri ditentukan menggunakan metode Kirby-Baurer terhadap beberapa bakteri yang dapat menyebabkan infeksi kulit. Aktivitas antibakteri LPEO terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis* dan *Propionibacterium acne* dikonfirmasi. LPEO menunjukkan berbagai tingkat aktivitas antibakteri terhadap bakteri gram positif dan gram negatif. Zona inhibisi (ZOI) dalam milimeter digunakan untuk mengukur aktivitas antibakteri, dan amoksisilin digunakan sebagai control.

Kata kunci: antibakteri, GC-MS, lime peel essential oil (LPEO), Kirby baurer.

1. LATAR BELAKANG

Tumbuhan memiliki peranan penting bagi manusia, salah satunya adalah sebagai obat. Tumbuhan obat ini mengandung komponen alami yang dapat meningkatkan kesehatan dan mengobati penyakit. Terdapat banyak komponen kimia berkhasiat yang terdapat pada tumbuhan. Salah satunya adalah minyak asiri. Salah satu tumbuhan yang menghasilkan minyak asiri adalah jeruk nipis atau *Citrus aurantifolia*. Bagian tumbuhan *C. aurantifolia*

yang mengandung minyak asiri paling banyak adalah kulitnya. Hal ini dikarenakan terdapat kantong minyak pada flavedo dan kutikula pada kulit *C. Aurantifolia* (Mahato dkk. 2019a).

C. aurantifolia dikenal di Indonesia sebagai “jeruk nipis”. Minyak asiri yang diekstrak dari *C. aurantifolia* umumnya digunakan dalam industri farmasi, perawatan rumah, penyedap makanan, aromaterapi, dan industri kosmetik (Machado, Oliveira, dan Semut 2022). Minyak asiri ini diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, neuroprotektif, antiseptik, antiplasmodik, antikanker, dan antibakteri (Anwar dkk. 2023; Uahomo dkk. 2023). Bioaktivitas ini berkaitan erat dengan komponen kimia yang terkandung dalam minyak asiri *C. aurantifolia*. Menurut Li Yun Lin, (2019), minyak esensial *C. aurantifolia* mengandung 60 senyawa volatil, dengan komponen utama adalah limonene, γ -terpinene, dan β -pinene.

Infeksi bakteri merupakan salah satu masalah kesehatan yang sering dijumpai (Savitri, Indiatuti, dan Wahyunitasari 2019). Bakteri patogen merupakan mikroorganisme umum yang menyebabkan kerusakan pada manusia dan ditemukan pada kulit. Infeksi kulit seperti dermatitis dapat disebabkan oleh bakteri umum pada kulit, termasuk *S. aureus* dan *S. Epidermidis* ((Byrd, Belkaid, dan Segre 2018). Bakteri lain yang dapat ditemukan pada kulit adalah *E. Coli* (Starc, 2009). *E. coli* rentan muncul di area bedah dan infeksi setelah luka bakar. Selain itu, bakteri lain yang umum ditemukan pada kulit adalah bakteri *P. acne* karena kemampuannya memengaruhi peradangan, produksi komedo, dan sekresi sebum, bakteri ini diketahui menyebabkan jerawat (Xu dan Li 2019).

Antibiotik biasanya digunakan untuk mengobati mikroorganisme ini. Namun, saat ini terdapat banyak resistensi antibiotik (Torimiro 2020). Beberapa penelitian menyelidiki aktivitas antibakteri *C. Aurantifolia*. Pohan & Djojaputro, (2021) meneliti mengenai aktivitas dari ekstrak daun *C. aurantifolia* terhadap bakteri *E. coli*, Sari & Asri, (2022) tentang ekstrak kulit jeruk nipis terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, Sormin *et al.*, (2023) mengenai ekstrak etanol kulit *C. aurantifolia* terhadap *P. acnes* dan *S. epidermidis*, Aini *et al.*, (2018) mengenai aktivitas antibakteri jus jeruk terhadap *P. acnes* dan *S. epidermidis*, Pathirana *et al.*, (2018) mengenai aktivitas antibakteri terhadap bakteri patogen pada ikan, Khaing *et al.*, (2022) mengenai aktivitas minyak asiri *C. aurantifolia* terhadap *S. aureus*, *E. coli*, dan *Porphyromonas gingivalis*, Basnett *et al.*, (2020) mengenai MIC dan MBC minyak asiri *C. aurantifolia* terhadap *S. aureus* dan *E. coli*.

Oleh karena itu, penggunaan bahan alami yang memiliki efek antibakteri yang kuat perlu diteliti lebih lanjut. Salah satunya adalah minyak asiri *C. aurantifolia*. Aktivitas antibakteri minyak asiri *C. aurantifolia* terhadap mikroorganisme patogen pada kulit,

khususnya jeruk nipis yang berasal dari Jawa Timur, Indonesia, belum banyak diteliti. Mengingat Indonesia merupakan negara tropis dengan kelembaban udara yang tinggi sehingga memudahkan bakteri berkembang biak, termasuk infeksi kulit. Penelitian ini menggunakan metode destilasi uap untuk memisahkan minyak asiri dari kulit *C. aurantifolia*. Komponen-komponen minyak asiri kemudian dianalisis untuk mengetahui kualitasnya, meliputi rendemen, densitas, kelarutan dalam alkohol, dan bilangan asam. Selain itu, komponen-komponen kimia yang berperan terhadap aktivitas antibakteri diidentifikasi menggunakan analisis GC-MS terhadap komposisinya. Bakteri patogen yang sering terdapat pada kulit manusia digunakan untuk mengetahui efektivitas antibakterinya.

2. METODE PENELITIAN

A. Bahan

C. aurantifolia diperoleh dari Jawa Timur, Indonesia. Bahan kimia dengan tingkat pro analis seperti nutrient agar, aquades, etanol 96%, natrium sulfat anhidrat, dan amoksisilin diperoleh dari Merck. Sampel bakteri yang diperoleh dari Lab Mikrobiologi UMP adalah *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) dan *Staphylococcus epidermidis* (ATCC 11228), dan strain Gram-negatif dari *Propionibacterium acnes* (ATCC 6919), dan *Escherichia coli* (ATCC 11229).

B. Prosedur

1) Isolasi minyak kulit jeruk nipis

Metode isolasi minyak asiri jeruk nipis dilakukan sesuai dengan prosedur dari (Spadaro et al., 2012). Masukkan 12 kg kulit jeruk nipis segar ke dalam alat distilasi uap yang telah diisi air. Distilasi dilakukan selama 4 jam (sampai tidak diperoleh minyak asiri) dalam alat tipe Clevenger. Minyak asiri diekstraksi, dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat, dan disimpan pada suhu 4°C dalam botol tertutup yang terlindung dari cahaya sampai dibutuhkan. Hasil minyak asiri ditentukan dengan menggunakan rumus (1):

$$\text{Oil } \left(\% \frac{v}{w} \right) = \frac{\text{observed volume of oil (mL)}}{\text{weight of sampel (g)}} \times 100\% \dots (1)$$

2) Karakterisasi menggunakan GC-MS.

Minyak asiri jeruk nipis yang dihasilkan dianalisis komponen kimianya menggunakan GC-MS (Gas chromatography-mass spectrometry) merk Agilent tipe 7890A/597C menggunakan kolom kapiler DB 35 ms dengan panjang 30 m, diameter kolom 0,25 mm dengan ketebalan fase cair 0,25 mikron. GC-MS

diprogram menggunakan suhu 50-250°C dengan kecepatan kenaikan suhu 3,5°C/menit, suhu injektor 250°C, dan jumlah minyak yang diinjeksikan 1 µL. Data yang diperoleh dibandingkan dengan *National Institute of Standards and Technology* (NIST)-11 dan setiap puncak dihitung relatif terhadap seluruh area kromatogram (100%).

3) Karakterisasi menggunakan spektra FTIR

Fourier Transform Infrared (FTIR) merek Perkin Elmer Spectrum-100. Rentang bilangan gelombang pemindaian ditetapkan pada 400–4000 cm⁻¹ pada resolusi 4 cm⁻¹ menggunakan cakram KBr.

4) Aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri mengacu pada prosedur (Julaeha et al., 2021). Uji ini menggunakan metode Kirby Bauer terhadap bakteri *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. acnes*, dan *E. coli*. Strain mikroba dikultur semalam pada 10⁵ CFU/mL dengan larutan garam steril. Sebanyak 500 µL suspensi ditempatkan pada media agar MHA. Cakram steril diresapi dengan sampel dan ditempatkan di media. Amoksisilin digunakan sebagai kontrol positif. Isolat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Diameter yang terbentuk dihitung dan zona penghambatan ditentukan.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Isolasi minyak kulit jeruk nipis

Minyak asiri yang diperoleh dari hasil penyulingan kulit jeruk nipis berwarna kuning dan memiliki bau khas jeruk nipis dengan rendemen 1,86%. Menurut Haggag dan kawan-kawan, (1998) dan Lin et al., (2019), minyak asiri kulit *C. aurantifolia* yang diperoleh dari hasil destilasi berkisar antara 0,50–2,30%. Hasil analisis kualitatif minyak asiri dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Kualitas minyak asiri kulit *C. aurantifolia*

No	Karakter	Tanda
1	Kepadatan (g/cm ³)	0,87
2	Indeks bias	1.45
3	Kelarutan dalam alkohol 96%	5,8 mL (Larut)
4	Nomor asam	1,59%

Kualitas minyak asiri sangat dipengaruhi oleh komponen senyawa yang terkandung dalam minyak asiri. Komponen terpenting dalam kualitas minyak asiri adalah gugus aldehida teroksigenasi, terutama karbonil, yang memiliki pengaruh penting terhadap aroma minyak asiri (Gamarra dan kawan-kawan, 2006). Secara fisik, kualitas

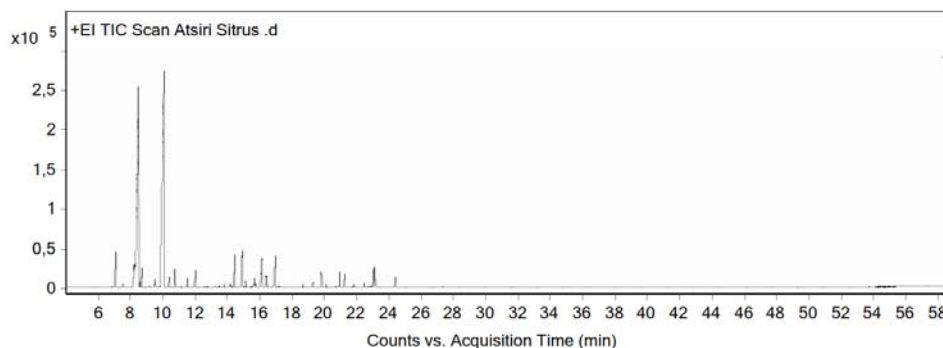
minyak asiri dapat dilihat berdasarkan indeks bias dan berat jenisnya. Selain itu, kualitas minyak asiri dapat dilihat dari bilangan asamnya. Hal ini dikarenakan beberapa minyak asiri mengandung asam bebas dan umumnya dilaporkan sebagai bilangan asam. Bilangan asam ini akan bertambah seiring bertambahnya umur minyak. Hal ini dapat disebabkan oleh proses oksidasi aldehid atau hidrolisis ester. Oleh karena itu, bilangan asam juga digunakan untuk menentukan kualitas minyak asiri. Sementara itu, kelarutan dalam alkohol termasuk dalam penentuan kualitas minyak karena minyak asiri hanya sedikit larut dalam air dan larut dalam alkohol absolut. Minyak asiri yang memiliki senyawa teroksidasi lebih banyak akan lebih mudah larut dalam alkohol encer dibandingkan minyak asiri yang memiliki senyawa terpena lebih banyak. (Guenther, 1987).

B. Karakterisasi minyak asiri kulit *C. aurantifolia* menggunakan GC/MS

Analisis minyak asiri kulit *C. aurantifolia* menggunakan GC/MS ditunjukkan berdasarkan % puncak (Gambar 1). Berdasarkan hasil analisis, dapat diketahui terdapat 24 puncak yang menunjukkan terdapat 24 komponen dalam minyak asiri kulit *C. aurantifolia*. Hasil analisis ini merupakan campuran senyawa yang terdapat dalam minyak asiri kulit jeruk nipis yang sebagian besar terdiri dari monoterpen dan monoterpen teroksidasi. Komponen utama minyak asiri kulit *C. aurantifolia* adalah d-limonene (40,24%). D-limonene banyak dilaporkan sebagai komponen utama yang terdapat dalam minyak asiri *C. aurantifolia* (Jain, Arora, dan Popli 2020; Li-yun Yun Lin dkk. 2019; Mahato dkk. 2019b; Ramos-Ibarra dkk. 2021).

Senyawa utama lain yang ditemukan adalah β -terpinene (15,68%), Sabinene (13,15%), citral (3,41%), α -Terpineol (3,40%), dan terpinene-4-ol (2,94%). Sementara itu, komponen minor (<1%) yang teridentifikasi adalah α -terpinena (0,59%), α -terpinena (0,67%), 3-karena (0,55%), 1,3-Sikloheksadiena, 1-metil-4-(1-metiletil) (0,56%), 2,6-Oktadien-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z) (0,43%), 2,6-Oktadien-1-ol, 3,7-dimetil (0,97%), 4-Heksen-1-ol, 5-metil-2-(1-metiletenil)-asetat (0,96%), Bisiklo[5.2.0]nonana, 2-metilena-4,8,8-trimetil-4-vinil (0,99%), Bisiklo[3.1.1]hept-2-ena, 2,6-dimetil-6-(4-metil-3-pentenil) (0,73%), dan 1, 5-Siklodekadiena, 1,5-dimetil-8-(1-metiletilidena) (0,63%). Komponen senyawa lain dalam minyak asiri kulit *C. aurantifolia* dapat bervariasi dalam komposisi dan konsentrasi. Hal ini dapat disebabkan oleh perbedaan daerah asal dan juga dalam proses penyiapan minyak asiri (Galovičová dkk. 2022). Identifikasi komponen dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil identifikasi diperoleh dengan membandingkan indeks retensi Kovats dengan data spektrofotometri massa dengan yang ada di NIST (Hsouna

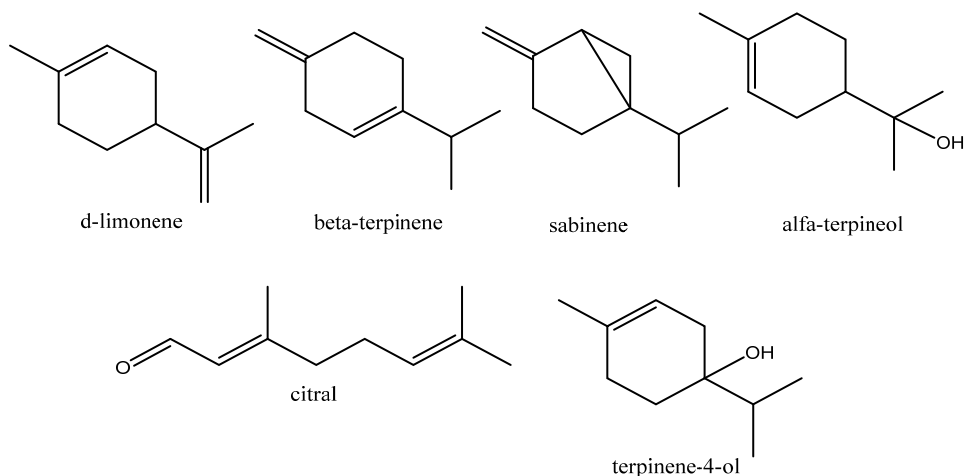
dan kawan-kawan, 2017). Struktur komponen utama minyak kulit *C. aurantifolia* dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 1. Kromatogram GC/MS minyak asiri kulit *C. aurantifolia*

Tabel 2. Analisis GC/MS minyak asiri kulit *C. aurantifolia*

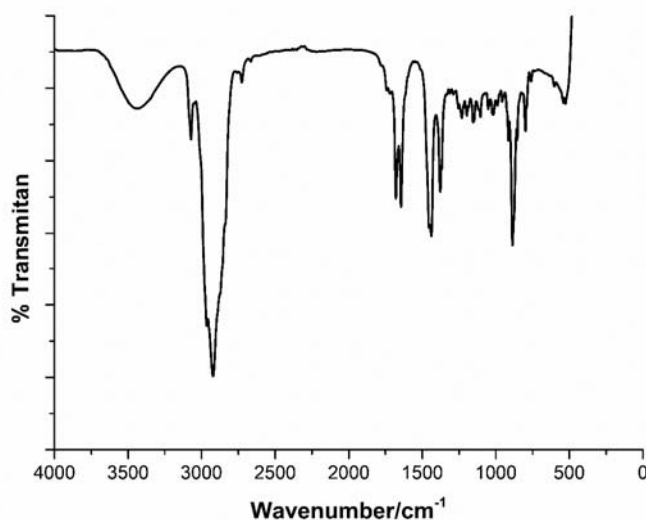
No	tr (menit)	peak (%)	Nama senyawa
1	7.07	2.50	Bisiklo[3.1.1]hept-2-ena, 3,6,6-trimetil
2	8.27	3.17	(-)- α -tujena
3	8.30	0.59	sebuah-terpinena
4	8.45	15.68	sebuah-terpinena
5	8.49	13.15	Bahasa Sabinene
6	8.68	1.05	β -Mirsen
7	9.50	0.67	α -terpinena
8	10.07	40.24	d-Limonena
9	10.38	0.55	3-Carene
10	10.74	1.02	γ -Terpinena
11	11.52	0.56	1,3-Sikloheksadiena, 1-metil-4-(1-metiletil)
12	12.01	1.03	Obat Linalol
13	14.46	2.94	Terpinena-4-ol
14	14.91	3.40	α -Terpineol
15	15.67	0.43	2,6-Oktadiena-1-ol, 3,7-dimetil-, (Z)-
16	16,12	2.86	Citral
17	16.42	0.97	2,6-Oktadien-1-ol, 3,7-dimetil
18	16.97	3.41	Citral
19	19.83	0.96	4-Heksen-1-ol, 5-metil-2-(1-metiletetil)-, asetat
20	20.93	0.99	Bicyclo[5.2.0]nonane, 2-metilen-4,8,8-trimetil-4-vinil
21	21.23	0.73	Bisiklo[3.1.1]hept-2-ena, 2,6-dimetil-6-(4-metil-3-pentenil)
22	23.03	1.11	Alfa-Farnesene
23	23.13	1.37	β -Bisabolen
24	24.40	0.63	1,5-Siklodekadiena, 1,5-dimetil-8-(1-metiletilidena)



Gambar 2. Struktur kimia komponen utama dalam minyak asiri kulit *C. aurantifolia*

C. Karakterisasi minyak kulit jeruk nipis menggunakan FTIR

Gambar 3 menunjukkan spektrum minyak asiri kulit *C. aurantifolia*. Spektrum ini didominasi oleh pita serapan yang berkaitan dengan komponen utamanya (Al-sayed, Gad, dan El-kersh 2021). Limonen memiliki serapan pada daerah 1640 dan 885 cm^{-1} . Sebagian besar serapan menunjukkan pita kuat akibat vibrasi ulur ($\text{C}=\text{C}$) pada daerah $1640\text{-}1680\text{ cm}^{-1}$. Selain itu, terdapat pula vibrasi goyangan dari gugus CH dan CH_2 pada daerah $885\text{-}787\text{ cm}^{-1}$. Pita serapan utama ini berdasarkan literatur.



Gambar 3. Spektrum FTIR minyak kulit *C. aurantifolia*

D. Aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri diuji menggunakan metode Kirby Baurer terhadap bakteri *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, dan *P. acne*. Dengan kontrol positif amoksisilin dan kontrol negatif air suling. Aktivitas antibakteri dapat ditentukan dengan menghitung diameter zona penghambatan pertumbuhan bakteri di sekitar hard disk (Yanis, Medta, dan Augusta 2019). Zona hambatan (mm) masing-masing bakteri dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Zona penghambatan pertumbuhan bakteri

Sampel	Zona Penghambatan (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>S.epidermidis</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. acne</i>
LPEO	24,25	26,50	25,50	30,00
Kontrol + (Amoksisilin)	14,25	36,50	22,25	31,00
Kontrol - (akuades)	Tidak	Tidak	Tidak	Tidak

*Na = tidak aktif.

Berdasarkan Tabel 3 dapat dilihat bahwa bakteri *P. acne* memiliki zona hambat terbesar yaitu 30 mm dan terkecil yaitu *S. aureus*. Bakteri *S. aureus* dan *E. coli* juga memiliki daya hambat yang lebih besar dibandingkan dengan kontrol positif yaitu Amoksisilin. Aktivitas antibakteri ini disebabkan oleh komponen kimia yang terkandung dalam *C. aurantifolia*.

Aktivitas antibakteri minyak asiri bergantung pada kandungan terpenoid dalam minyak asiri. Sinergi komponen minyak asiri tertentu menghasilkan aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan dengan komponen utamanya saja, yaitu d-limonene.(Pratiwi dkk. 2022). Mekanisme antibakteri minyak asiri disebabkan oleh minyak asiri yang merusak membran sel dengan menyebabkan hilangnya integritas membran dan menyebabkan kebocoran zat makromolekul intraseluler, penghambatan protein, dan sintesis biofilm. Hal ini menunjukkan bahwa minyak asiri dapat memberikan efek antibakteri yang lebih baik, sehingga membuka jalan dan memperluas pemahaman tentang mekanisme antibakteri (Tang et al., 2020).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Dalam penelitian ini, kami menganalisis aktivitas biologis dan karakteristik fitokimia minyak kulit jeruk nipis. Minyak asiri *C. aurantifolia* dapat diperoleh dengan distilasi uap. Sebanyak 24 komponen diidentifikasi dalam minyak asiri *C. aurantifolia* dengan komponen utama adalah d-limonene (40,24%), β -terpinene (15,68%), Sabinene (13,15%), citral (3,41%), α -Terpineol (3,40%), dan terpinene-4-ol (2,94%). Minyak asiri ini

memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *S. epidermidis*, *E. coli*, dan *P. acne* yang umum ditemukan pada kulit. Fraksinasi dan karakterisasi senyawa aktif dari minyak asiri *C. aurantifolia* dapat digunakan sebagai penelitian lebih lanjut untuk berkontribusi dalam peningkatan nilai tanaman ini serta eksplorasi antibakteri yang lebih baik.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada STIKes Ibnu Sina Ajibarang atas dukungannya dalam penelitian ini.

DAFTAR REFERENSI

- Aini, N., Permatasani, B., Khasanah, U., & Sukmawati, A. (2018). Antimicrobial activity of lime juice (*Citrus aurantifolia*) against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus epidermidis*. December 2017. <https://doi.org/10.1166/asl.2017.10788>
- Al-Sayed, E., Gad, H. A., & El-Kersh, D. M. (2021). Characterization of four Piper essential oils (GC/MS and ATR-IR) coupled to chemometrics and their anti-*Helicobacter pylori* activity. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c03777>
- Anwar, T., Qureshi, H., Fatima, A., Sattar, K., Albasher, G., & Kamal, A. (2023). Citrus sinensis peel oil extraction and evaluation as an antibacterial and antifungal agent.
- Basnett, P., Marcello, E., Lukasiewicz, B., Nigmatullin, R., Paxinou, A., Ahmad, M. H., Gurumayum, B., & Roy, I. (2020). Antimicrobial materials with lime oil and a poly(3-hydroxyalkanoate) produced via valorisation of sugar cane molasses. *Journal of Functional Biomaterials*, 11(2). <https://doi.org/10.3390/jfb11020024>
- Byrd, A. L., Belkaid, Y., & Segre, J. A. (2018). The human skin microbiome. *Nature Reviews Microbiology*, 16(3), 143–155. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2017.157>
- Galovičová, L., Borotová, P., Vukovic, N. L., Vukić, M., Kunová, S., Hanus, P., Kowalczewski, P. Ł., Bakay, L., & Kačániová, M. (2022). The potential use of *Citrus aurantifolia* L. essential oils for decay control, quality preservation of agricultural products, and anti-insect activity. *Agronomy*, 12(3), 1–12. <https://doi.org/10.3390/agronomy12030735>
- Gamarra, F. M. C., Sakanaka, L. S., Tambourgi, E. B., & Cabral, F. A. (2006). Influence on the quality of essential lemon (*Citrus aurantifolia*) oil by distillation process. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23(1), 147–151. <https://doi.org/10.1590/S0104-66322006000100016>
- Guenther, E. (1987). Minyak asiri jilid I. Universitas Indonesia.
- Haggag, E. G., Abdel Wahab, S. M., El-Zalabany, S. M., Abou Moustafa, E. A., El-Kherasy, E. M., & Mabry, T. J. (1998). Volatile oils and pectins from *Citrus aurantifolia* (lime) and *Citrus limonia* (lemon). *Asian Journal of Chemistry*, 10(4), 828–833.

- Hsouna, A. B., Halima, N. B., Smaoui, S., & Hamdi, N. (2017). Citrus lemon essential oil: Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities with its preservative effect against *Listeria monocytogenes* inoculated in minced beef meat. 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12944-017-0487-5>
- Jain, S., Arora, P., & Popli, H. (2020). A comprehensive review on Citrus aurantifolia essential oil: Its phytochemistry and pharmacological aspects. *Brazilian Journal of Natural Sciences*, 3(2), 354. <https://doi.org/10.31415/bjns.v3i2.101>
- Julaeha, E., Puspita, S., Eddy, D. R., Wahyudi, T., Nurzaman, M., Nugraha, J., Herlina, T., & Al Anshori, J. (2021). Microencapsulation of lime (*Citrus aurantifolia*) oil for antibacterial finishing of cotton fabric. *RSC Advances*, 11(3), 1743–1749. <https://doi.org/10.1039/d0ra09314a>
- Khaing, E. M., Mahadlek, J., Okonogi, S., & Phaechamud, T. (2022). Lime peel oil–incorporated rosin-based antimicrobial in situ forming gel. *Gels*, 8(169), 1–19. <https://doi.org/10.3390/gels8030169>
- Lin, L., Chuang, C.-H., Chen, H.-C., & Yang, K.-M. (2019). Lime (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) essential oils: Volatile compounds, antioxidant capacity, and hypolipidemic effect. *Foods*, 8(9). <https://doi.org/10.3390/foods8090398>
- Machado, C. A., Oliveira, F. O., & Ant, M. (2022). Steam distillation for essential oil extraction: An evaluation of technological advances based on an analysis of patent documents.
- Mahato, N., Sharma, K., Koteswararao, R., Sinha, M., Baral, E., & Cho, M. H. (2019). Citrus essential oils: Extraction, authentication and application in food preservation. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(4), 611–625. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1384716>
- Pathirana, H. N. K. S., Wimalasena, S. H. M. P., De Silva, B. C. J., Hossain, S., & Heo, G. J. (2018). Antibacterial activity of lime (*Citrus aurantifolia*) essential oil and limonene against fish pathogenic bacteria isolated from cultured olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Archives of Polish Fisheries*, 26(2), 131–139. <https://doi.org/10.2478/aopf-2018-0014>