

Produksi Ramah Lingkungan Granul Instan Antioksidan dari Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Menggunakan Ekstraksi Berbantuan Enzim

Eco-Friendly Production of Antioxidant Instant Granules from Jeruk Bali (*Citrus maxima*) Peel Using Enzyme-Assisted Extraction

Putu Era Sandhi Kusuma Yuda^{a,1*}, Ni Kadek Lita^{a,2}, Adinda Puspita Elisabet Lian^{a,3}, Ni Putu Jayanti Putri^{a,4},
I Gusti Ayu Sri Candramukhi Devi Dasi^{a,5}, Intan Alfira Kolifay^{a,6}, Erna Cahyaningsih^{a,7}, Maria Malida
Vernandes Sasadara^{a,8}

^aDepartemen Farmasi Bahan Alam, Fakultas Farmasi Universitas Mahasaraswati Denpasar, Jalan Kamboja No. 11a
Denpasar, 80233 Indonesia

¹erasandhi@unmas.ac.id, ²kdlitaa30@gmail.com, ³yuwardidinda@gmail.com, ⁴20024ptjayanti@gmail.com,
⁵mukhidevi08@gmail.com, ⁶intanalvira10@gmail.com, ⁷ernacahya@unmas.ac.id, ⁸mariasasadara@unmas.ac.id

* Corresponding author

Abstrak

Kulit jeruk bali (*Citrus maxima*) adalah limbah pertanian yang kaya akan senyawa bioaktif, terutama flavonoid dan fenolik, yang berpotensi sebagai antioksidan dan anti-penuaan. Namun, kandungan pektin yang tinggi pada kulit jeruk dapat mencegah pelepasan senyawa aktif. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi senyawa bioaktif kulit jeruk bali menggunakan metode ekstraksi berbantuan enzim (*Enzyme-Assisted Extraction/EAE*) yang ramah lingkungan menggunakan enzim pektinase dan memformulasikannya menjadi granul effervescent instan. Evaluasi dilakukan terhadap granul ekstraksi dengan enzim, granul yang dibuat tanpa enzim dan granul kontrol yang meliputi evaluasi sensorik, mutu fisik, kandungan fenol total, aktivitas antioksidan (metode DPPH) dan kadar serat kasar. Hasil penelitian menunjukkan bahwa granul berbantuan enzim (EEG) memiliki hambatan radikal bebas yang lebih tinggi ($49,57 \pm 6,10\%$) signifikan dibandingkan dengan granul non-enzimatik (NEG) ($28,48 \pm 8,67\%$). EEG juga memiliki kandungan fenol total yang lebih tinggi (0,027 g/100 g) dibandingkan dengan NEG (0,017 g/100 g). Selain itu, EEG menunjukkan penerimaan sensorik dan mutu fisik yang lebih baik, termasuk rasa yang lebih seimbang dan aroma jeruk yang lebih kuat serta kandungan serat yang lebih tinggi. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa penerapan metode EAE dapat meningkatkan kandungan fenol serat, mutu fisik serta aktivitas antioksidan dari granul instan kulit jeruk bali sehingga berpotensi untuk dikembangkan menjadi produk antioksidan alami yang ramah lingkungan.

Kata Kunci: *Citrus maxima*, granul instan, antioksidan, ekstraksi enzimatik, ramah lingkungan

Abstract

Pomelo peel (*Citrus maxima*) is an agricultural by-product rich in bioactive compounds, particularly flavonoids and phenolic compounds, which have potential antioxidant and anti-aging properties. However, the high pectin content in citrus peels can hinder the release of these active compounds. The objective of this study was to improve the extraction efficiency of bioactive compounds from pomelo peel using an environmentally friendly Enzyme-Assisted Extraction (EAE) method employing pectinase enzymes and to formulate the extract into instant effervescent granules. The granules produced using enzymatic extraction, granules prepared without enzymes, and control granules were evaluated through sensory assessment, physical quality analysis, total phenolic content, antioxidant activity (DPPH method), and crude fiber content. The results showed that enzyme-assisted extraction granules (EEG) exhibited significantly higher free radical scavenging activity ($49.57 \pm 6.10\%$) compared to non-enzymatic granules (NEG) ($28.48 \pm 8.67\%$). EEG also demonstrated a higher total phenolic content (0.027 g/100 g) than NEG (0.017 g/100 g). In addition, EEG showed better sensory acceptance and physical quality, including a more balanced taste, a stronger citrus aroma, and higher fiber content. These findings indicate that the application of the EAE method can enhance phenolic and fiber content, physical quality, and antioxidant activity of instant pomelo peel granules, suggesting their potential development as an environmentally friendly natural antioxidant product.

Keywords: citrus maxima, instant granules, anti-aging, enzymatic extraction, eco-friendly

¹ email korespondensi : erasandhi@unmas.ac.id

PENDAHULUAN

Penuaan adalah proses biologis yang kompleks, progresif, dan tidak terelakkan, ditandai dengan penurunan bertahap fungsi fisiologis pada tingkat sel, jaringan, dan organ. Kondisi ini meningkatkan kerentanan terhadap penyakit dan pada akhirnya mengakibatkan kematian. Proses penuaan dipengaruhi oleh faktor genetik, molekuler, dan lingkungan, yang secara kumulatif menyebabkan kerusakan seluler seiring waktu (1).

Salah satu mekanisme utama penuaan adalah stres oksidatif, yang terjadi akibat ketidakseimbangan antara produksi Spesies Oksigen Reaktif (ROS) dan sistem pertahanan antioksidan. Mekanisme ini, bersama dengan ketidakstabilan genom, pemendekan telomer, alterasi epigenetik, gangguan homeostasis protein, disfungsi mitokondria, senescence seluler, dan gangguan komunikasi antarsel, berkontribusi terhadap disfungsi biologis dan mempercepat proses penuaan (1).

Faktor intrinsik penuaan meliputi genetika, perubahan hormonal, metabolisme, dan penurunan sistem imun. Sementara itu, faktor ekstrinsik seperti paparan UV, polusi, merokok, pola makan buruk, dan stres kronis mempercepat penuaan melalui kerusakan oksidatif. Secara global, populasi lansia terus meningkat, dan diperkirakan pada tahun 2050, individu berusia ≥ 60 tahun akan menyumbang lebih dari 20% populasi dunia, menimbulkan tantangan kesehatan masyarakat yang besar dan meningkatkan prevalensi penyakit degeneratif terkait usia (1).

Stres oksidatif yang diakibatkan oleh ketidakseimbangan antara ROS dan sistem antioksidan menyebabkan disfungsi seluler, serta kerusakan pada DNA, protein, dan lipid. Hal ini mempercepat penuaan dan berkontribusi terhadap kondisi degeneratif seperti penuaan kulit, gangguan kardiovaskular, penyakit neurodegeneratif, dan penurunan fungsi indera. Antioksidan seperti polifenol, karotenoid, dan vitamin berperan dalam menetralkan ROS dengan menstabilkan radikal bebas, melindungi sel, serta mengatur ekspresi gen,

aktivitas enzim, dan peradangan. Dengan demikian, antioksidan membantu mempertahankan fungsi tubuh dan menunda proses penuaan (2).

Kandungan antioksidan tinggi dapat ditemukan pada beberapa tanaman yang tersebar di seluruh Indonesia, salah satunya adalah kulit jeruk bali (*Citrus maxima*). Kulit buah ini umumnya dianggap sebagai limbah; namun, kaya akan metabolit sekunder, termasuk antioksidan. Komposisi buah jeruk sangat bervariasi tergantung pada varietas, ukuran, kematangan, metode budidaya, kondisi penyimpanan, dan iklim. Oleh karena itu, analisis nutrisi dan komposisi hanya dapat memberikan nilai perkiraan (3).

Buah jeruk dikenal sebagai sumber utama β -cryptoxanthin (sejenis karotenoid) dan juga mengandung berbagai karotenoid dan flavonoid lainnya. Senyawa fitokimia, khususnya polifenol, menunjukkan aktivitas antioksidan dan pembersihan radikal bebas, dengan potensi manfaat kesehatan seperti efek anti-inflamasi, antikanker, perlindungan kardiovaskular, peningkatan imun, dan vasodilatasi (3). Flavonoid berkontribusi pada rasa buah, melindungi tanaman, dan memberikan manfaat kesehatan bagi manusia. Contohnya adalah naringin, sebuah flavonoid yang bertanggung jawab atas rasa pahit khas pada Jeruk Bali (3).

Jeruk bali (*Citrus maxima*) adalah buah jeruk berukuran besar dengan kulit tebal yang dapat menyumbang sekitar 30% dari total berat buah (4). Konsumsi jeruk bali segar atau pengolahannya dalam industri pangan menghasilkan limbah kulit dalam jumlah signifikan. Limbah ini sering dibuang melalui penimbunan di TPA atau insinerasi, yang dapat berkontribusi terhadap masalah lingkungan (4). Produksi jeruk bali di Indonesia menghasilkan limbah kulit dalam jumlah besar. Sebagai contoh, penelitian melaporkan bahwa dari total produksi 1 ton jeruk bali, sekitar 208 kg adalah kulit (5). Kulitnya kaya akan senyawa bioaktif, termasuk alkaloid, flavonoid, vitamin C, likopen, dan yang paling menonjol pektin dan tanin (5).

Saat ini, pemanfaatan kulit jeruk bali masih

terbatas pada pakan ternak, kompos, dan sebagai bahan baku karbon aktif atau adsorben (4). Namun, literatur menunjukkan bahwa kulit jeruk bali dapat diolah menjadi produk bernilai tambah seperti minyak atsiri, bahan pangan fungsional, bahan baku farmasi, dan pektin untuk industri pangan, farmasi, dan bioteknologi (5). Kurangnya pemanfaatan ini terutama disebabkan oleh teknologi pengolahan yang terbatas di tingkat industri lokal (4), biaya produksi tinggi untuk teknik ekstraksi modern (6) dan kurangnya investasi dalam valorisasi limbah pertanian (4).

Kulit jeruk bali mengandung pektin dalam jumlah tinggi, berkisar antara 18-30% dari berat kering (4). Meskipun pektin berharga sebagai agen pembentuk gel, pengental, dan zat pembentuk film, ia juga dapat menimbulkan tantangan. Selama ekstraksi senyawa lain seperti flavonoid atau minyak atsiri, pektin yang terlarut dapat meningkatkan viskositas pelarut, menyumbat pori-pori, dan memperlambat difusi senyawa target (6). Kandungan pektin yang tinggi juga memerlukan langkah pemisahan tambahan, meningkatkan waktu dan biaya pemrosesan (6).

Beberapa teknologi telah dikembangkan untuk mengatasi tantangan ini. Ekstraksi Berbantuan Gelombang Mikro (MAE) mempercepat pelepasan pektin menggunakan radiasi gelombang mikro, sementara Ekstraksi Berbantuan Ultrasonik (UAE) merusak dinding sel melalui gelombang ultrasonik. Pelarut Eutektik Dalam (DES) adalah pelarut hijau yang mampu melarutkan pektin sekaligus memfasilitasi pemisahan senyawa target (5). Meskipun efektif, metode-metode ini seringkali memerlukan peralatan atau kondisi tertentu yang dapat membatasi skalabilitasnya. Oleh karena itu, pendekatan alternatif seperti ekstraksi berbantuan enzim semakin mendapat perhatian karena kesederhanaan, keramahan lingkungan, dan efisiensinya yang tinggi (4). Kulit jeruk bali mengandung pektin tinggi yang menghambat ekstraksi senyawa bioaktifnya karena peningkatan viskositas dan pembentukan gel. Untuk

mengatasinya, diterapkan metode baru dan ramah lingkungan Ekstraksi Berbantuan Enzim (EAE) menggunakan pektinase untuk mendegradasi pektin dan memfasilitasi pelepasan senyawa seperti flavonoid dan polifenol. Dibandingkan dengan metode konvensional seperti Ekstraksi Berbantuan Gelombang Mikro (MAE), Ekstraksi Berbantuan Ultrasonik (UAE), dan Ekstraksi Refluks Panas (HRE), EAE menawarkan kondisi yang lebih ringan, hasil lebih tinggi, stabilitas senyawa yang lebih baik, dan konsumsi energi yang berkurang. Untuk meningkatkan pemanfaatan masyarakat, senyawa bioaktif diformulasi menjadi granul effervescent, yang meningkatkan kelarutan, rasa, dan kemudahan konsumsi (7).

Penelitian mengenai penerapan ekstraksi enzimatik ramah lingkungan dalam memproduksi granul instan antioksidan dari kulit Jeruk Bali belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, dilakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas ekstraksi berbantuan enzim untuk meningkatkan potensi antioksidan, kandungan fenol total, mutu fisik, penerimaan sensorik serta kadar serat kasar dari granul instan kulit Jeruk Bali. Penelitian ini dapat digunakan sebagai acuan metode dalam pengembangan sediaan antioksidan alami yang lebih ramah lingkungan khususnya dari bahan kulit jeruk Bali. Pendekatan ini juga sejalan dengan prinsip ekonomi sirkular dengan mengubah limbah pertanian menjadi bahan baku bernilai tinggi untuk industri farmasi dan kosmetik.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan tumbuhan terdiri dari kulit jeruk bali (*Citrus maxima* L.) yang dikumpulkan dari Bali, Indonesia, diekstraksi secara enzimatik menggunakan pektinase (Shaanxi Fonda Biotech, 99% purity) dan aquadest sebagai pelarut. Eksipien tambahan untuk formulasi effervescent meliputi Polyvinylpyrrolidone (PVP), manitol, asam sitrat, asam tartarat, dan natrium bikarbonat. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan radikal bebas DPPH (Sigma, USA) (9). Alat yang digunakan meliputi Spektrofotometri UV-Vis

(Shimadzu), pH meter (Ohaus Starter 5000), moisture analyzer (Ohaus MB90), hot plate stirer (Thermo Scientific).

Pembuatan Granul Instan Kulit Jeruk Bali

Kulit jeruk bali (125 g) dipotong kecil, diblender dengan aquadest (500 mL), dan disaring untuk mendapatkan sari kulit jeruk Bali. Sari tersebut kemudian ditambahkan dengan pektinase (7,5 g/500 mL) dan dipanaskan pada suhu 50 °C selama 30 menit sambil diaduk dengan pengaduk magnetik dan kemudian disaring setelah dingin. Ekstrak cair dipekatkan dengan sukrosa hingga mengental dan didinginkan sambil diaduk hingga membentuk kristal granul (10).

Granul ekstrak (20 g) dicampur dengan PVP (3 g), manitol (27 g), asam sitrat (3 g), asam tartarat (22 g), dan natrium bikarbonat (25 g). Campuran dihomogenisasi, diayak (12-20 mesh), dikeringkan, dan disimpan sebagai granul effervescent untuk evaluasi. Tiga batch granul berbeda disiapkan, yaitu EEG (Granul Ekstraksi Enzimatik), NEG (Granul Non-Enzimatik), dan PG (Granul Polos).

Tabel 1. Formulasi granul instan effervescent kulit jeruk Bali (100g)

Bahan	EEG	NEG	PG
Granul Ekstrak Enzimatik	20 g	-	-
Granul Ekstrak Non Enzimatik		20 g	-
Sukrosa	-	-	20 g
PVP	3 g	3 g	3 g
Manitol	27 g	27 g	27 g
Asam sitrat	3 g	3 g	3 g
Asam tartrat	22 g	22 g	22 g
Natrium bikarbonat	25 g	25 g	25 g

Evaluasi Sensorik

Evaluasi sensori dilakukan terhadap formula EEG dan NEG dengan bantuan 30 responden tidak terlatih, mencakup penilaian warna, aroma, rasa, dan tekstur. Produk PG tidak dilakukan uji sensorik karena merupakan granul kontrol yang tidak mengandung

ekstrak kulit jeruk Bali sehingga memiliki rasa yang netral. Evaluasi dilakukan oleh panel responden menggunakan skala hedonik sembilan poin (1 = amat sangat tidak suka; 9 = amat sangat suka). Hasil dinyatakan sebagai rerata ± simpangan baku (11).

Evaluasi Mutu Fisik Granul

Evaluasi fisik dilakukan untuk menilai kualitas dan stabilitas granul. Pengukuran pH dilakukan dengan melarutkan granul dalam air suling dan mengukur pH menggunakan pH meter digital yang telah dikalibrasi, untuk menentukan keasaman atau kebasaan sediaan. Kadar air diukur menggunakan moisture analyzer hingga diperoleh berat konstan, yang penting untuk menilai umur simpan dan stabilitas produk. Kelarutan dievaluasi dengan mengukur waktu disolusi dalam air suling pada suhu kamar, yang menunjukkan kemudahan penggunaan dan potensi bioavailabilitas komponen aktif (12). Hasil dinyatakan sebagai rerata ± simpangan baku.

Uji Fenol Total dan Aktivitas Antioksidan

Standarisasi kandungan fitokimia dilakukan dengan menguji kandungan fenol total yang dianalisis menggunakan metode Folin-Ciocalteu, sedangkan aktivitas antioksidan dievaluasi menggunakan uji peredaman radikal bebas DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Ekstrak cair kulit jeruk Bali yang diekstraksi dengan bantuan enzim pektinase dan tanpa enzim pektinase dengan konsentrasi 20% direaksikan dengan DPPH 40 ppm. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam persentase peredaman radikal bebas DPPH. Semua pengujian dilakukan triplo, dan hasilnya dinyatakan sebagai rerata ± simpangan baku (13).

Kandungan Serat Kasar

Analisis proksimat dilakukan untuk menentukan serat kasar, dimana serat kasar ditentukan menggunakan metode hidrolisis asam-basa (14).

Analisis Data

Data dianalisis secara deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Hasil uji organoleptik dijabarkan dalam bentuk deskripsi kualitatif, sedangkan data mutu fisik, kandungan fenol total, antioksidan dan kadar serat dianalisis secara kuantitatif. Uji T indenpenden dan Oneway ANOVA dengan taraf kepercayaan 95% digunakan untuk membandingkan data antarkelompok.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Organoleptik Granul

Sediaan EEG, NEG, dan PG yang telah diformulasi dievaluasi sifat organoleptiknya, yang meliputi warna, aroma, rasa, dan tekstur. Hasil uji organoleptik disajikan dalam Tabel 2. Selain itu, Gambar 1-3 menunjukkan hasil produk granul yang dihasilkan.

Tabel 2. Uji Organoleptik Granul

Parameter	PG	EEG	NEG
Warna	Putih bersih	Putih susu	Putih tulang
Aroma	Netral	Aroma jeruk kuat	Aroma jeruk
Rasa	Manis dan asam	Agak manis	Dominan asam
Tekstur	Serbuk	Serbuk	Serbuk



Gambar 1. EEG (Granul Ekstraksi Enzimatik)



Gambar 2. NEG (Granul Non Enzimatik)



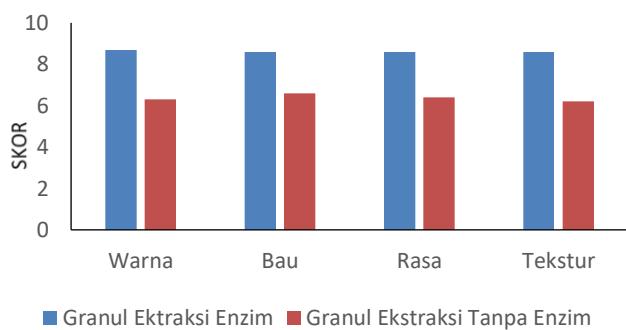
Gambar 3. PG (Granul Polos)

Secara visual, EEG menghasilkan granul dengan warna coklat yang lebih kuat dan daripada warna putih tulang pada NEG dan warna putih susu pada PG. Hal ini dapat disebabkan karena kandungan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak berbantuan enzim lebih tinggi dibandingkan ekstrak tanpa enzim sehingga menghasilkan warna yang lebih pekat. Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstraksi berbantuan enzim dapat menghasilkan reduksi pigmen yang lebih efektif, homogenisasi yang lebih baik, dan penampilan visual produk akhir yang lebih baik, yang semuanya merupakan faktor penting dalam membentuk preferensi konsumen (15). EEG menghasilkan aroma jeruk yang lebih kuat dinadingkan NEG. Peningkatan ini kemungkinan disebabkan oleh hidrolisis enzimatik, yang memfasilitasi pelepasan senyawa volatil seperti limonena dan mendorong pembentukan gula sederhana turunan alami, sehingga meningkatkan aroma dan palatabilitas (16).

Evaluasi Sensorik

Evaluasi sensorik dilakukan untuk mengetahui tingkat kesukaan responden terhadap granul yang dihasilkan. Dari hasil penelitian, responden secara konsisten lebih menyukai EEG karena atribut sensori

yang lebih unggul baik dari segi warna, aroma, rasa dan tekstur. Dalam hal aroma dan rasa, EEG menunjukkan keunggulan yang jelas. Aroma jeruk segarnya lebih disukai daripada aroma jeruk bali samar dari NEG dan aroma susu kuat dari PG, yang kurang disukai responden. Demikian pula, rasa agak manis dari EEG dianggap lebih alami dan seimbang dibandingkan dengan rasa sangat asam dari NEG dan profil manis-dan-asam dari PG. Secara keseluruhan, temuan ini menunjukkan bahwa ekstraksi berbantuan enzim dapat meningkatkan kualitas sensorik granul instan kulit *Citrus maxima* tercemin dari skor warna (8,7), bau (8,6), rasa (8,6), dan tekstur (8,6) yang mana tergolong sangat disukai oleh responden. Peningkatan ini menunjukkan bahwa metode ekstraksi enzimatik dapat meningkatkan profil organoleptis dari produk granul instan kulit jeruk bali. Oleh karena itu, granul EEG memiliki potensi kuat sebagai kandidat yang layak untuk diformulasikan sebagai minuman herbal antioksidan dengan produksi yang ramah lingkungan.



Gambar 3. Hasil Evaluasi Sensorik

Evaluasi Fisik

Hasil pengujian mutu fisik granul instant ditunjukkan pada Tabel 4. Granul effervescent enzimatik (EEG) menunjukkan nilai pH sedikit lebih tinggi yaitu $5,20 \pm 0,02$ dibandingkan dengan granul non-enzimatik (NEG) yang memiliki pH $5,10 \pm 0,01$, dan PG pada pH $5,13 \pm 0,01$. Perbedaan pH dapat disebabkan karena adanya perbedaan senyawa yang tertarik selama proses ekstraksi (17). Namun, ketiga produk menghasilkan pH yang masih dapat diterima dengan

perbedaan yang tidak signifikan.

Tabel 4. Evaluasi Fisik Granul

Evaluasi	PG	EEG	NEG
pH	$5,13 \pm 0,01$	$5,20 \pm 0,02$	$5,10 \pm 0,01$
Kadar air (%)	$10,06 \pm 0,05$	$5,3, \pm 0,14$	$4,76 \pm 0,02$
Kelarutan (detik)	$16,85 \pm 0,01$	$19,14 \pm 0,01$	$18,67 \pm 0,01$

Di sisi lain, nilai pH yang sedikit lebih rendah pada NEG menunjukkan kondisi yang relatif lebih asam karena kemungkinan adanya senyawa organik (seperti asam organik) yang tidak terdegradasi oleh enzim. Meskipun perbedaan pH antara EEG dan NEG hanya sekitar 0,1, hal ini tetap menunjukkan pengaruh perlakuan enzimatik terhadap tingkat keasaman granul.

Granul EEG memiliki kadar air rata-rata lebih tinggi ($5,30 \pm 0,14\%$) dibandingkan NEG ($4,76 \pm 0,02\%$) namun lebih rendah dibandingkan PG ($10,06 \pm 0,05\%$). Kadar air yang lebih tinggi pada EEG mungkin dipengaruhi oleh sifat higroskopis dari produk degradasi enzimatik, yang cenderung menyerap lebih banyak kelembapan. Sebaliknya, granul NEG cenderung lebih kering karena tidak mengalami degradasi enzimatik. Perbedaan kadar air dapat mempengaruhi stabilitas penyimpanan granul, dimana kadar air yang lebih tinggi dapat meningkatkan risiko ketidakstabilan fisik dan kimia. Namun, secara keseluruhan granul EEG telah memiliki kadar air yang cukup baik karena masih dibawah 10%. Hal ini dapat mempertahankan stabilitasnya selama penyimpanan.

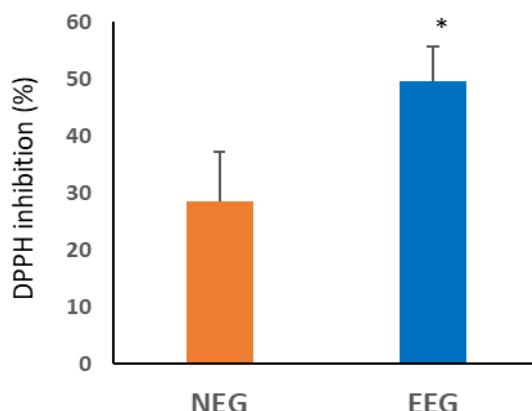
Waktu Melarut

Hasil pengujian menunjukkan bahwa waktu disolusi granul effervescent EEG adalah $19,14 \pm 0,01$ detik, sedangkan granul NEG larut dalam $18,67 \pm 0,01$ detik, dan PG larut dalam $16,85 \pm 0,01$ detik. Perbedaan antara EEG dan NEG sangat kecil ($\pm 0,47$ detik), dan dengan demikian dapat dianggap tidak signifikan secara praktis. Kedua formulasi memenuhi kriteria sediaan effervescent yang baik, yaitu larut dalam waktu kurang dari satu menit (18). Waktu disolusi yang sedikit lebih lama pada EEG mungkin

dipengaruhi oleh kadar metabolit sekunder yang lebih tinggi serta struktur granul yang lebih padat akibat perlakuan enzimatik. Namun demikian, baik EEG maupun NEG menunjukkan kualitas kelarutan yang baik karena dapat dilarutkan kurang dari satu menit.

Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan granul effervescent kulit jeruk bali dievaluasi menggunakan metode DPPH. Granul non-enzimatik (NEG) menunjukkan nilai inhibisi DPPH rata-rata $28,48 \pm 8,67\%$ (Gambar 4). Sebaliknya, granul enzimatik (EEG) menunjukkan nilai persentase inhibisi DPPH sebesar $49,57 \pm 6,10\%$. Hasil ini menunjukkan bahwa EEG memiliki aktivitas antioksidan yang secara signifikan lebih tinggi dibandingkan NEG ($p < 0,05$), yang tercermin dari inhibisi DPPH yang lebih besar. Nilai absorbansi DPPH yang lebih rendah pada EEG menandakan lebih sedikit radikal bebas DPPH yang tersisa, menunjukkan bahwa granul enzimatik lebih efektif dalam menetralkan radikal bebas.



Gambar 4. Persentase inhibisi DPPH (%) dari EEG (granul ekstraksi enzimatik), NEG (granul non-enzimatik). Data disajikan sebagai Rerata \pm SD; * $p < 0,05$ menggunakan uji-T independen.

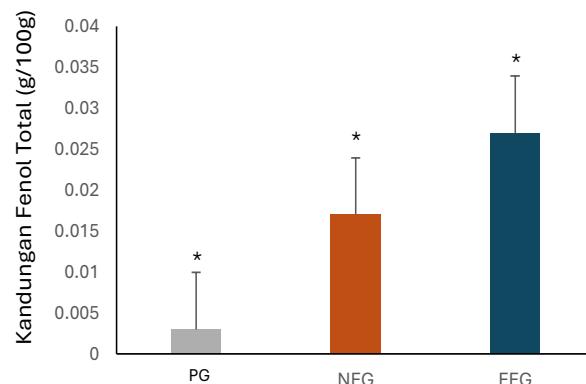
Analisis statistik menggunakan uji-t sampel independen mengonfirmasi perbedaan signifikan antara kedua kelompok dengan nilai $p = 0,022$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan bahwa granul enzimatik (EEG) secara signifikan lebih efektif dalam mengurangi kadar DPPH dibandingkan granul non-enzimatik (NEG). Penambahan enzim pektinase

selama proses ekstraksi kemungkinan dapat meningkatkan pelepasan senyawa bioaktif, khususnya senyawa fenolik, yang sangat berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan granul effervescent kulit jeruk bali.

Kandungan Fenol Total

Penentuan kandungan fenol total dalam granul effervescent kulit jeruk bali dilakukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu dengan asam galat sebagai standar. Kurva kalibrasi asam galat menunjukkan persamaan regresi linier $y = 0,0055x - 0,0069$ dengan koefisien determinasi $R^2 = 0,9974$, menunjukkan hubungan linier yang sangat kuat antara konsentrasi standar dan nilai absorbansi; dengan demikian, persamaan ini valid untuk menghitung kandungan fenol dalam sampel.

Hasil menunjukkan bahwa granul berbantuan enzim (EEG) memiliki kandungan fenol total tertinggi yaitu $0,027 \text{ g}/100 \text{ g}$, diikuti oleh granul tanpa enzim (NEG) sebesar $0,017 \text{ g}/100 \text{ g}$, dan yang terendah adalah granul tanpa ekstrak (PG) sebesar $0,003 \text{ g}/100 \text{ g}$. Temuan ini menunjukkan bahwa penambahan enzim pektinase memainkan peran penting dalam meningkatkan pelepasan senyawa fenolik dari kulit jeruk bali, sejalan dengan mekanismenya dalam memecah dinding sel tanaman, sehingga memungkinkan lebih banyak metabolit sekunder yang dilepaskan.



Gambar 5. Kandungan fenol total dari EEG (granul ekstraksi enzimatik) dan NEG (granul non-enzimatik). Data disajikan sebagai Rerata \pm SD; * $p < 0,05$ menggunakan uji oneway ANOVA dilanjutkan uji Tukey .

Analisis statistik menggunakan ANOVA satu arah mengungkapkan perbedaan signifikan di antara kelompok ($p < 0,05$). Uji Lanjut LSD mengonfirmasi bahwa semua kelompok secara signifikan berbeda satu sama lain, dengan urutan kandungan fenol total EEG > NEG > PG.

Dengan demikian, EEG tidak hanya secara signifikan berbeda dari PG (granul tanpa ekstrak) tetapi juga secara nyata lebih tinggi daripada NEG (granul tanpa enzim). Temuan ini memperkuat bahwa ekstraksi berbantuan enzim lebih unggul dibandingkan ekstraksi tanpa bantuan enzim dalam preparasi granul.

Temuan ini konsisten dengan hasil uji aktivitas antioksidan (DPPH), di mana EEG menunjukkan absorbansi terendah, menunjukkan kapasitas pembersihan radikal bebas tertinggi. Dengan demikian, peningkatan kandungan fenol total akibat penggunaan enzim berkorelasi positif dengan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari granul effervescent kulit jeruk bali.

Kandungan Serat Kasar

Kandungan serat merupakan salah satu indikator proksimat dari minuman herbal yang digunakan untuk kesehatan. Kadar serat yang tinggi dapat membantu tubuh melakukan detoksifikasi melalui pencernaan dan penting untuk mencegah penuaan dini. Granul dengan enzim (EEG) menghasilkan kandungan serat kasar lebih tinggi dengan rata-rata tiga replikat sebesar $2,9 \pm 0,08\%$ dibandingkan granul tanpa enzim (NEG) yang memiliki rata-rata tiga replikat sebesar $1,68 \pm 0,05\%$ (Tabel 5). Hal ini menunjukkan bahwa penggunaan enzim dalam ekstraksi membantu meningkatkan ketersediaan serat kasar yang kemungkinan melalui mekanisme degradasi dinding sel.

Tabel 5. Kandungan Serat Kasar

Sampel	Serat Kasar (%)
EEG	$2,49 \pm 0,08$
NEG	$1,68 \pm 0,05$

Data disajikan sebagai Rerata \pm SD; $p < 0,05$

menggunakan Uji-T Independen.

SIMPULAN

Dari penelitian yang dilakukan, dapat disimpulkan bahwa metode Ekstraksi Berbantuan Enzim (EAE) dengan menggunakan enzim pektinase dan aquadest pada kulit jeruk Bali dapat meningkatkan kandungan fenolik, aktivitas antioksidan dan penerimaan sensorik serta mutu fisik dari granul instan efervescent kulit jeruk Bali.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami menyampaikan terimakasih kepada Fakultas Farmasi, Universitas Mahasaraswati Denpasar, atas dukungan dan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Taylor E, Kim Y, Zhang K, Chau L, Nguyen BC, Rayalam S, et al. Antiaging Mechanism of Natural Compounds: Effects on Autophagy and Oxidative Stress. *Molecules*. 2022;27(14):1–24.
- [2]. Dossena S, Marino A. Oxidative Stress and Antioxidants in Aging. *Antioxidants*. 2024;13(11):1–5.
- [3]. Gupta AK, Dhua S, Sahu PP, Abate G, Mishra P, Mastinu A. Variation in phytochemical, antioxidant and volatile composition of pomelo fruit (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) during seasonal growth and development. *Plants*. 2021;10(9).
- [4]. Tocmo R, Pena-Fronteras J, Calumba KF, Mendoza M, Johnson JJ. Valorization of pomelo (*Citrus grandis* Osbeck) peel: A review of current utilization, phytochemistry, bioactivities, and mechanisms of action. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2020;19(4):1969–2012.
- [5]. Anantami A, Wulandari S, Martono A. Ekstraksi pektin kulit jeruk bali (*Citrus grandis* L.) Sebagai polisakarida pada edible coating. *Bencoolen J Pharm*. 2023;3(2):1–11.

- [6]. Riyamol N, Gada Chengaiyan J, Rana SS, Ahmad F, Haque S, Capanoglu E. Recent Advances in the Extraction of Pectin from Various Sources and Industrial Applications. *ACS Omega.* 2023;8(49):46309–24.
- [7]. Adi-Dako O, Kumadoh D, Egbi G, Okyem S, Addo PY, Nyarko A, et al. Strategies for formulation of effervescent granules of an herbal product for the management of typhoid fever. *Heliyon* [Internet]. 2021;7(10):e08147. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08147>
- [8]. Polo-Castellano C, Mateos RM, Visiedo F, Palma M, Fernández Barbero G, Ferreiro-González M. Optimization of the Enzymatic Extraction of Naringenin from Pink Grapefruit Pulp (*Citrus × paradisi* Macfad.). *Agronomy.* 2024;14(3).
- [9]. Pratama R, Nurasi W, Asnawi A, Suhardiman A, Zaelani D, Pahlevi MR. Development and Standardization of an Effervescent Granule Formulation of Pomegranate Peel Extract with Potential Antioxidant Activity. *Trop J Nat Prod Res.* 2025;9(3):1112–7.
- [10]. Vidana Gamage GC, Choo WS. Effect of hot water, ultrasound, microwave, and pectinase-assisted extraction of anthocyanins from black goji berry for food application. *Heliyon* [Internet]. 2023;9(3):e14426. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e14426>
- [11]. Yilmaz E, Karatas B. Evaluation of the sensory properties, volatile aroma compounds and functional food potentials of cold-press produced mahaleb (*Prunus mahaleb* L.) seed oil. *OCL - Oilseeds fats, Crop Lipids.* 2023;30.
- [12]. Mang Sung Thluai L, Titapiwatanakun V, Ruksiriwanich W, Boonpisuttinant K, Chutoprapat R. Development of Effervescent Cleansing Tablets Containing Asiatic-Acid-Loaded Solid Lipid Microparticles. *Cosmetics.* 2023;10(6).
- [13]. Huynh MNT, Nguyen TNP, Van KC, Mai CH. Study of the extraction of bioactive compounds from pomelo (*Citrus maxima*) pith and applying it to drinking products. *Food Res.* 2025;9(3):110–9.
- [14]. Singh R, Chaudhary M, Singh Chauhan E, Kumari J. International Journal of Food Science and Nutrition www.foodsciencejournal.com Effects of several processing techniques on proximate composition, antioxidant properties of citrus fruit peel and its application in value-added food products. 2022;7(4):18–22. Available from: www.foodsciencejournal.com
- [15]. Ramzan K, Zehra SH, Balciunaitiene A, Viskelis P, Viskelis J. Valorization of Fruit and Vegetable Waste: An Approach to Focusing on Extraction of Natural Pigments. *Foods.* 2025;14(8).
- [16]. Li Y, Guo L, Mao X, Ji C, Li W, Zhou Z. Changes in the nutritional, flavor, and phytochemical properties of *Citrus reticulata* Blanco cv. 'Dahongpao' whole fruits during enzymatic hydrolysis and fermentation. *Front Sustain Food Syst.* 2024;8(October).
- [17]. Sun S, Yu Y, Jo Y, Han JH, Xue Y, Cho M, et al. Impact of extraction techniques on phytochemical composition and bioactivity of natural product mixtures. *Front Pharmacol.* 2025;16(July):1–14.
- [18]. Dhondale MR, Thakor P, Nambiar AG, Singh M, Agrawal AK, Shastri NR, et al. Co-Crystallization Approach to Enhance the Stability of Moisture-Sensitive Drugs. *Pharmaceutics.* 2023;15(1).