

ABSTRAK

Kulit jeruk sambal (*Citrus spp*) diketahui memiliki aktivitas antioksidan karena senyawa fenolik dan flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui bagaimana profil KLT pada fraksi metanol kulit jeruk sambal, berapa nilai R_f nya untuk fenolik dan flavonoid, dan konsentrasi berapa yang paling baik untuk menarik senyawa. Metode meliputi pembuatan simplisia, ekstraksi, maserasi, fraksinasi metanol, dan uji KLT dengan fase diam *silica* G60 F254 dan campuran metanol : diklorometana sebagai fase gerak. Identifikasi noda dilakukan dengan FeCl_3 10% untuk fenolik dan AlCl_3 5% untuk flavonoid, diamati dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Hasil menunjukkan hanya dua variasi eluen yang positif mengandung fenolik dengan warna biru kehitaman dan nilai R_f berkisar 0,61-0,95. Untuk flavonoid, terdapat enam variasi eluen yang positif dengan warna biru berfluoresensi dan nilai R_f 0,61–0,89. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa fraksi metanol kulit jeruk sambal mengandung senyawa fenolik dan flavonoid.

Kata kunci: Kromatografi Lapis Tipis, jeruk sambal, fenolik, flavonoid, nilai R_f

ABSTRACT

Sambal orange peel (*Citrus spp*) is known to have antioxidant activity due to phenolic and flavonoids compounds. The purpose of this study was to determine how the TLC profile on the methanol fraction of Sambal orange peel, what is the *rf* value for phenolic and flavonoids, and what concentration is the most effective in extracting the compounds. Methods include *Simplicia* making, extraction, maceration, methanol fractionation, and TLC test with silica G60 F254 stationary phase and mixture of methanol:dichloromethane as mobile phase. Stain identification was done with FeCl_3 10% for phenolic and AlCl_3 5% for flavonoid, observed under UV light of 254 nm and 366 nm. The results showed only two positive eluent variations containing phenolic with blue-black color and *rf* values ranged from 0.61 to 0.95. For flavonoids, there are six positive eluent variations with blue fluorescence and *Rf* values of 0.61-0.89. The results showed that methanol fraction of sambal orange peel contains phenolic compounds and flavonoids.

Keywords: Thin Layer Chromatography, *Citrus spp*, phenolic, flavonoid, *Rf* value

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Keanekaragaman hayati Indonesia luar biasa. Sebanyak 38.000 jenis tanaman ditemukan, dengan 55% berasal dari Indonesia. Karena tanaman mudah diperoleh dan dibudidayakan, masyarakat Indonesia telah terbiasa menggunakannya sebagai obat. Jeruk Sambal (*Citrus spp*) adalah tanaman endemik Indonesia yang berasal dari famili *rutaceae*, genus *citrus* dan sangat umum digunakan oleh orang di seluruh dunia untuk mengobati berbagai penyakit. Tanaman jeruk menunjukkan aktivitas antioksidan, hepatoprotektif, kardiovaskular, antibakteri, antiinflamasi, anti tumor dan antivirus (Putra et al., 2018).

Kulit jeruk sambal diduga memiliki aktivitas antioksidan karena mengandung senyawa alami seperti vitamin A, vitamin C, dan flavonoid. (Pedana et al., 2017). Menurut penelitian (Wulandari et al., 2013), kulit buah jeruk sambal menunjukkan adanya potensi sebagai antioksidan. Pada nilai EC_{50} untuk ekstrak metanol sebesar 94,01 $\mu\text{g/mL}$ (antioksidan kategori kuat), ekstrak etil asetat sebesar 134,02 $\mu\text{g/mL}$ (antioksidan kategori sedang) dan ekstrak n-heksana sebesar 162,16 $\mu\text{g/mL}$ (antioksidan kategori lemah). Penelitian (Pratikto et al., 2024) menyatakan bahwa kandungan flavonoid didalam kulit jeruk sambal memiliki potensi sebagai zat aktif dalam krim tabir surya.

Kulit buah jeruk sambal memiliki aktivitas antioksidan yang baik. Flavonoid merupakan senyawa turunan polifenol yang diklasifikasikan menjadi beberapa subkelas seperti flavon, flavanon, favanol, isoflavon, antosianidin dan kalkon (Khoirunnisa & Sumiwi, 2019). Didukung pula dengan penelitian (Fahrurroji & Riza, 2020) yang menyatakan bahwa kulit jeruk positif mengandung senyawa fenolik menghasilkan warna biru kehitaman dan senyawa flavonoid menghasilkan warna warna kuning, biru, atau hijau yang berfluoresensi . Senyawa fenolik terdiri dari senyawa sederhana seperti asam galat dan asam ferulat, stilben dan kumarin yang juga penting dalam metabolit tanaman. Senyawa-senyawa ini umumnya berperan sebagai antioksidan alami (Kusumawati et al., 2021).

Penelitian penetapan kadar flavonoid total ekstrak methanol kulit buah jeruk sambal telah dilakukan sebelumnya yang memberikan hasil kadar sebesar 0,3324mg/g. Selain itu, (Pedana et al., 2017) telah melakukan pemeriksaan karakteristik minyak kulit buah jeruk sambal dengan metode KLT menggunakan fase gerak N-Heksan : etil asetat (9:1) yang menunjukkan hasil positif mengandung senyawa flavonoid ($R_f = 0,94$). Selanjutnya, hasil skrining senyawa fenolik dan flavonoid pada sampel kulit, buah, dan biji jeruk sambal menggunakan KLT dengan fase gerak masing-masing etil asetat : toluene : asam formiat : air (6 : 3 : 1,5 : 0,5) dan asam asetat glasial : asam formiat : air : etil asetat (11 : 11 : 27 : 100) memberikan hasil positif (Fahrurroji & Riza, 2020), berdasarkan penelusuran literatur, belum ada dilakukan teknik pemisahan senyawa fenolik dan flavonoid pada sampel kulit buah jeruk sambal yang menggunakan metode KLT.

Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder, khususnya senyawa fenolik dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan (Usman & Muin, 2023). Kelebihan dari metode KLT adalah sanggup memisahkan campuran analit dengan mengelusi analit menggunakan lempeng kromatografi menggunakan teknik identifikasi komponen melalui reaksi warna fluoresensi serta dengan radiasi menggunakan sinar *ultraviolet* (Dasrinal, 2022) Selain itu, metode KLT dapat digunakan sebagai data awal untuk menentukan kondisi kromatografi kolom yang tepat dan efektivitas pemurnian senyawa. (Yuspita Sari et al., 2018). Selain itu, kemampuannya memisahkan campuran senyawa berdasarkan afinitas terhadap fase gerak dan fase diam, metode ini juga hemat biaya, mudah dioperasikan dan cocok untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder dalam jumlah kecil. Teknik ini mengandalkan reaksi warna serta fluoresensi dibawah sinar UV untuk melihat apakah adanya senyawa tertentu pada plat KLT (Dasrinal, 2022). KLT juga sering digunakan sebagai dasar penentuan sistem untuk pemurnian senyawa lebih lanjut menggunakan kromatografi kolom.

Pada penelitian ini akan dilakukan uji kualitatif dan perhitungan nilai R_f senyawa fenolik dan flavonoid dari fraksi etanol kulit buah jeruk sambal menggunakan metode KLT dengan fase diam *silica gel* 60 F₂₅₄ menggunakan penampak bercak FeCl_3 10% untuk senyawa fenolik dan AlCl_3 5% untuk senyawa flavonoid.

1.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimana profil kromatografi lapis tipis pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus spp*)?
2. Berapa nilai rf pada fenolik dan flavonoid pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus spp*)?
3. Konsentrasi eluen berapakah yang paling baik dalam menarik senyawa flavonoid dan fenolik pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus spp*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui bagaimana profil kromatografi lapis tipis pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus spp*).
2. Untuk mengetahui berapa nilai rf pada fenolik dan flavonoid pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus spp*).
3. Untuk mengetahui konsentrasi eluen berapakah yang paling baik dalam menarik senyawa fenolik dan flavonoid pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus spp*).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Untuk menambah pengetahuan penulis terhadap profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan kandungan dari fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus spp*)

2. Bagi Penelitian

Penulis berharap penelitian ini dapat di kembangkan pemanfaatannya, terkhususnya untuk tanaman lokal seperti jeruk sambal.

3. Bagi Kesehatan

Memberikan informasi tentang senyawa metabolit sekunder yang terkandung didalam fraksi metanol kulit jeruk sambal, sehingga dapat bermanfaat sebagai pengobatan tradisional yang bisa digunakan di masyarakat luas.

4. Bagi Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat menambah pengetahuan dalam pemanfaatan kulit jeruk sambal selain sebagai pengobatan tradisional.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Deskripsi Tanaman Jeruk Sambal (*Citrus spp*)

2.1.1 Morfologi Jeruk Sambal



Gambar 1. Pohon Jeruk Sambal dan Buah Jeruk Sambal
(Dokumentasi Pribadi, 2025)

Jeruk merupakan tanaman asli Asia Tenggara yang telah menyebar ke seluruh dunia. Terdapat 160 variasi dari buah jeruk yang dibudidayakan di seluruh Indonesia dan jeruk sambal (*Citrus spp*) merupakan salah satu variasi yang digemari karena bernilai tinggi dan memiliki sifat sensoris yang menyenangkan (Sarwono & Made Sukawidia, 1986)

Jeruk sambal adalah jenis perdu yang memiliki arah tumbuh tegak lurus. Tingginya berkisar antara 140-160 sentimeter dan diameternya berkisar antara 80-90 sentimeter. Tipe percabangannya monopodial, dengan arah tumbuh tunas yang paling dominan ke atas daripada ke samping. Duri jeruk sambal berukuran 2-5 mm dan tajam, runcing, berwarna coklat kehijauan, muncul di bawah tangkai daun pada hampir setiap nodus percabangan.

Dibandingkan dengan generatif, tunas vegetatif memiliki duri yang jauh lebih besar. Namun, meskipun ukurannya hampir sama, duri yang muncul pada tunas muda lebih kecil dan lebih lunak daripada yang muncul pada tunas yang tumbuh lebih awal. Duri biasanya berfungsi sebagai perlindungan untuk herbivor (Budiarto et al., 2017)

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Jeruk Sambal

Klasifikasi jeruk sambal (*Citrus spp*) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Tracheophyta</i>
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus spp.</i>
Nama Umum	: Jeruk sambal

2.1.3 Kandungan Kimia Kulit Jeruk Sambal

Kulit Buah Jeruk Sambal mengandung banyak minyak atsiri dengan senyawa terpenoid yang lebih dominan, yang terdiri dari (limonen, β mirsen, β -pinen, α -pinen, β -felandren, dan sabinen) dan seskuiterpen (elemen, farnesen dan isomer gernasren) dengan kandungan limonen yang sangat tinggi yaitu lebih dari 94% (Kusmaningrum, 2015).

2.1.4 Manfaat Kulit Jeruk Sambal

Menurut (Kusmaningrum, 2015), limonen, α -pinen, sitronelol, sitronelal, kapor dan timol yang terkandung didalam kulit jeruk sambal merupakan senyawa golongan terpenoid dalam minyak atsiri yang memiliki aktivitas sebagai repelan terhadap kelas *insecta* seperti nyamuk

2.2 Simplisia

2.2.1 Definisi Simplisia

Simplisia merupakan bahan alami yang belum mengalami proses pengolahan dan digunakan untuk terapi. Menurut Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, simplisia adalah bahan alami yang digunakan dalam pengobatan dan tidak mengalami perubahan dalam proses pengolahan. Umumnya, simplisia ditemukan dalam bentuk kering (Sapitri et al., 2022).

2.2.2 Pengelolaan Simplisia

Pada umumnya pembuatan simplisia melalui tahapan seperti berikut :

Pengumpulan simplisia, sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan, sortasi kering, pengepakan dan penyimpanan (Depkes, 1985).

1. Pengumpulan Simplisia

Proses pembuatan simplisia dimulai dengan pengambilan bahan, yang merupakan tahap pertama dan sangat penting. Simplisia sendiri didefinisikan sebagai bahan obat yang berasal langsung dari tumbuhan, hewan, atau mineral, baik dalam bentuk tanaman utuh, bagian tanaman, atau eksudat hewan, atau zat

yang diperoleh dengan cara tertentu dari tumbuhan atau hewan. Ini bukan zat murni atau sediaan farmasi.

2. Sortasi Basah

Bahan-bahan dipisahkan dari kotoran-kotoran atau bahan-bahan asing lainnya sebelum dilakukan pencucian dengan cara membuang dan membersihkan bagian-bagian yang tidak dibutuhkan sebelum dilakukan pengeringan. Tahap ini dilakukan secara manual (Susanty & Bachmid, 2016).

3. Pencucian

Bahan dicuci menggunakan air bersih dari mata air, sumur, atau pun air dari PDAM. Hal ini dilakukan untuk menghilangkan kotoran yang masih menempel dan sulit dihilangkan tanpa air. Pencucian harus diselesaikan secepat mungkin agar kandungan yang ada didalam bahan yang mudah larut dalam air tidak hilang (Ridwan, 2023)

4. Perajangan

Proses perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan dan penggilingan. Tanaman yang baru diambil jangan langsung dirajang tetapi dijemur terlebih dahulu selama satu hari kemudian dilanjutkan dengan memotongnya dengan pisau hingga diperoleh irisan tipis (Depkes, 1985).

5. Pengeringan

Pengeringan dilakukan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lebih lama. Dengan

mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia. Air yang masih tersisa dalam simplisia pada kadar tertentu dapat merupakan media pertumbuhan kapang dan jasad renik lainnya (Depkes, 1985).

6. Sortasi kering

Sortasi kering dilakukan sebagai tahap terakhir dari proses pembuatan simplisia setelah pengeringan. Sortasi kering memisahkan bahan asing dari simplisia kering. Ini termasuk bagian tanaman yang tidak diinginkan dan kontaminan lainnya (Ridwan, 2023).

7. Pengepakan dan penyimpanan

Selama proses penyimpanan, simplisia dapat mengalami kerusakan. Oleh karena itu, penting untuk memilih wadah yang tidak beracun dan tidak bereaksi dengan isi di dalamnya, agar tidak menyebabkan reaksi yang dapat mengubah warna, bau, rasa, dan karakteristik lainnya dari simplisia. Untuk simplisia yang sensitif terhadap panas, diperlukan wadah yang dapat melindunginya dari cahaya, seperti aluminium foil, plastik, botol berwarna gelap, atau kaleng. Penyimpanan simplisia kering umumnya dilakukan pada suhu kamar, yaitu antara 15°C hingga 30°C (Wahyuni & Rivai, 2014).

2.3 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang sesuai kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian rupa hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes, 1995).

Ekstrak adalah sediaan yang didapatkan dari pemisahan senyawa aktif dari jaringan tanaman obat dengan menggunakan pelarut terpilih melalui prosedur standar. Metode ekstraksi yang sering digunakan untuk menarik kandungan kimia yang tergantung dalam tanaman adalah dengan cara dingin yaitu maserasi (Mulyati, 2015).

2.4 Ekstraksi

Salah satu metode pemisahan yang dikenal sebagai ekstraksi melibatkan pemisahan atau menarik satu atau lebih bagian atau senyawa-senyawa (analit) dari suatu sampel dengan menggunakan pelarut tertentu yang sesuai. Proses difusi analit dari sampel padat ke dalam pelarutnya dikenal sebagai ekstraksi padat-cair. Jika analit yang diinginkan dapat larut dalam pelarut pengestraksi, maka ekstraksi dari sampel padatan dapat dilakukan. Dalam ekstraksi ini, prinsip pemisahan didasarkan pada kemampuan atau daya larut analit dalam pelarut tertentu, yang berarti pelarut yang digunakan harus dapat menarik komponen analit dari sampel sebanyak mungkin (Dasrinal, 2022).

Ekstraksi yang akan digunakan adalah ekstraksi dingin, Tujuan dari langkah ini adalah untuk menghindari pemanasan senyawa yang dimaksud pada saat proses ekstraksi untuk mencegah kerusakan pada senyawa (Sudarwati & Fernanda, 2019).

2.4.1 Maserasi

Maserasi adalah metode yang paling sederhana dan paling banyak digunakan. Proses ini cocok untuk skala kecil dan industri. Metode ini

memerlukan pencampuran bubuk tanaman dengan pelarut yang sesuai dalam wadah inert tertutup pada suhu kamar. Proses ekstraksi berakhir ketika konsentrasi di dalam sel tumbuhan mencapai keseimbangan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan waktu. Banyak pelarut yang digunakan dan beberapa bahan kimia mungkin hilang. Selain itu, beberapa zat mungkin sulit dihilangkan pada suhu kamar serta teknik maserasi dapat mencegah oksidasi bahan kimia yang tidak tahan panas (Ridwan, 2023).

2.4.2 Fraksinasi

Setelah proses ekstraksi, langkah selanjutnya adalah fraksinasi. Salah satu teknik yang dapat digunakan untuk fraksinasi adalah kromatografi. Kromatografi dengan metode partisi diterapkan ketika ekstrak mengandung banyak komponen, yaitu puluhan senyawa. Prinsip pemisahan dengan metode partisi didasarkan pada perbedaan kelarutan dalam dua pelarut yang tidak saling bercampur. Contoh pelarut yang tidak bercampur adalah n-heksan – metanol, kloroform – air, dan etil asetat – air. Ketika ekstrak metanol pekat dicampurkan dengan kloroform dan etil asetat, fraksi sisa metanol yang banyak akan mengandung air, yang dapat dihilangkan melalui proses penguapan pada tekanan rendah (Silfiana, 2022).

2.5 Metode Pemisahan dan Pemurnian

Metode yang umum digunakan untuk memisahkan komponen suatu senyawa adalah metode kromatografi. Secara definisi, kromatografi adalah pemisahan campuran senyawa dalam suatu sampel berdasarkan perbedaan interaksinya dengan fase diam dan fase gerak. Fasa diam dapat berupa padat atau cair yang terletak pada permukaan penyangga. Fase gerak dapat berbentuk

gas atau cair, dan berbagai teknik kromatografi telah dikembangkan. Jenis interaksi yang terjadi selama proses kromatografi bergantung pada kombinasi fase diam dan fase gerak.

Teknik kromatografi yang umum digunakan antara lain kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis, kromatografi kertas, dan kromatografi gas. Selain kertas, adsorben berpori seperti aluminium oksida, *silica gel*, dan selulosa juga digunakan sebagai adsorben. Kromatografi kertas dan kromatografi lapis tipis umumnya digunakan untuk identifikasi. Hal ini dikarenakan metode ini khas dan mudah dilakukan untuk senyawa volatil serta identifikasi dan analisisnya. Kromatografi kolom, sebaliknya, digunakan untuk memisahkan senyawa dalam jumlah besar (Dasrinal, 2022).

2.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah jenis kromatografi planar bersama dengan kromatografi kertas dan elektroforesis. KLT adalah metode untuk memisahkan campuran analit. Analit dielusikan melalui pelat kromatografi dan komponen atau analit yang dipisahkan diamati dengan penyemprotan atau penyikatan. Dalam bentuknya yang paling sederhana, pelat KLT disiapkan di laboratorium, ditempatkan dalam wadah berukuran sesuai, dan kromatogram yang dihasilkan dapat dipindai secara visual. Bentuk yang lebih canggih mencakup berbagai jenis pelat KLT, teknik aplikasi sampel (termasuk alat aplikasi sampel otomatis), lapisan yang dikembangkan, alat deteksi, dan adsorben (fase diam), dengan berbagai jenis yang tersedia secara luas di pasaran. Berbeda dengan kromatografi kolom yang fase diamnya diisi atau dikemas di dalamnya, pada kromatografi lapis tipis, fase diamnya berupa

lapisan yang seragam (*uniform*) pada permukaan bidang datar yang didukung oleh lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Meskipun demikian, kromatografi planar ini dapat dikatakan sebagai bentuk kedua dari kromatografi kolom.

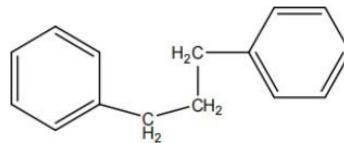
Fase gerak, yang disebut pelarut pengembang, bergerak sepanjang fase diam baik karena efek kapiler jika terjadi pemuatan ke atas atau karena pengaruh gravitasi jika terjadi pemuatan ke bawah. KLT lebih mudah dan murah untuk dilakukan dibandingkan kromatografi kolom. Hal yang sama berlaku untuk peralatan yang digunakan. KLT adalah instrumen sederhana yang dapat dilakukan secara konsisten dan akurat di hampir semua laboratorium. Salah satu keunggulan KLT adalah kemampuannya untuk mengidentifikasi komponen yang terpisah menggunakan reagen kromogenik, fluoresensi, atau radiasi ultraviolet (Dasrinal, 2022).

2.7 Nilai Rf

Nilai Rf (*Retention Factor*) dapat didefinisikan sebagai perbandingan jarak yang ditempuh oleh senyawa pada permukaan fase diam dibagi dengan jarak yang ditempuh pelarut atau fase gerak. Nilai rf berjangka antara 0,00 dan 1,00 nilai rf hanya dapat ditentukan dua desimal, dengan maksimum Rf adalah 1 dan minimum Rf 0, hal ini yang diamati jika noda tertahan pada posisi titik awal di permukaan fase diam (Darmawansyah et al., 2023). Nilai Rf berkarakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Jika nilai rf yang diidentifikasi sama, maka hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki karakteristik yang serupa, namun apabila terdapat perbedaan dalam

nilai R_f, hal ini menandakan bahwa senyawa tersebut memiliki sifat yang berbeda (Putri et al., 2024).

2.8 Flavonoid



Gambar 1. Struktur Dasar Flavonoid.

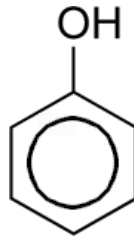
(Noer et al., 2018)

Flavonoid adalah senyawa metabolit sekunder yang termasuk kedalam kelompok senyawa fenol dengan struktur benzena yang tersubstitusi dengan gugus -OH. Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang paling umum ditemukan di alam dan biasanya ditemukan di akar, kayu, kulit, daun, batang, buah maupun bunga. Umumnya, senyawa flavonoid dapat ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi. Peran dari flavonoid adalah memberikan warna, rasa pada biji, bunga, buah dan aroma, selain itu flavonoid juga bersifat mudah teroksidasi pada suhu tinggi dan tidak tahan pada panas (Susila Ningsih et al., 2023).

Flavonoid dapat dihasilkan dari tanaman melalui berbagai proses isolasi. Setelah itu, senyawa tersebut diidentifikasi untuk memastikan bahwa ia termasuk dalam senyawa metabolit sekunder flavonoid (Muldianah et al., 2021). Senyawa flavonoid akan menghasilkan warna kuning, biru, atau hijau yang berfluoresensi pada sinar UV dengan Panjang gelombang 366nm setelah

disemprotkan AlCl_3 5% (Fahrurroji & Riza, 2020), (Usman & Muin, 2023) dengan nilai RF 0,2 - 0,75 (Nitami et al., 2020)

2.9 Fenolik



Gambar 2. Struktur Dasar Fenolik

(Mukhriani et al., 2019)

Senyawa fenolik merupakan hasil dari metabolit sekunder tanaman dengan kombinasi antara mono dan polisakarida yang berkaitan dengan satu atau lebih gugus fenolik, atau turunan ester ataupun metil ester. Senyawa fenolik larut dalam air, biasanya berkaitan dengan gula sebagai glikosida dan berada dalam vakuola sel. Senyawa fenolik merupakan senyawa aromatik yang strukturnya diturunkan dari benzene hingga memiliki cincin aromatik dengan adanya satu atau lebih gugus hidroksil (OH) (Mahardani & Yuanita, 2021). Gugus hidroksi yang terikat pada cincin aromatis memudahkan oksidasi dengan menyumbangkan atom hidrogen pada radikal bebas, kemampuannya untuk membentuk radikal fenoksi yang stabil pada reaksi oksidasi menyebabkan senyawa fenolik sangat potensial sebagai antioksidan (Dhurhania & Novianto, 2018). Senyawa fenolik akan menghasilkan warna biru kehitaman atau hijau kehitaman setelah disemprotkan FeCl_3 10% dan menunjukkan noda berwarna hitam (Ramadhan et al., 2021) (Reno Dwiyanoro et al., 2018) pada sinar UV

254 nm dan 366 nm dengan nilai RF 0,76 (asam galat sebagai senyawa fenolik) (Suputri et al., 2021).

2.10 Antioksidan

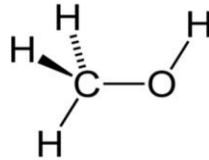
Antioksidan merupakan senyawa yang mampu menyumbangkan elektron untuk menetralkan radikal bebas. Dengan cara ini, antioksidan dapat mengurangi atau mencegah dampak negatif yang ditimbulkan oleh radikal bebas dengan mengikat dan mengubahnya menjadi bentuk yang lebih stabil dan tidak berbahaya bagi tubuh (Wulandari et al., 2013).

Antioksidan berperan penting dalam menjaga kesehatan tubuh manusia, di antaranya sebagai agen antiaterosklerosis, antiinflamasi, antitumor, antitrombotik, hingga antiosteoporosis. Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi dua jenis, yaitu alami dan sintetis. Antioksidan alami dapat diproduksi secara internal oleh tubuh, seperti enzim katalase dan glutathione peroksidase, yang berfungsi sebagai bagian dari sistem pertahanan tubuh. Selain itu, ada pula antioksidan alami yang berasal dari luar tubuh, seperti vitamin E (alfa tokoferol) dan vitamin C (asam askorbat). Sementara itu, antioksidan sintetis adalah senyawa yang dibuat melalui proses kimia, misalnya *butyl hydroxytoluene* (BHT), *butyl hydroxyanisole* (BHA), dan *propyl gallate* yang banyak digunakan dalam industri pangan dan farmasi.

Mekanisme kerja antioksidan meliputi beberapa cara, seperti menangkap radikal bebas, menghambat rantai reaksi radikal, mencegah pembentukan peroksida, menghentikan reaksi berantai, mengikat ion logam transisi, serta bertindak sebagai agen pereduksi (Kamoda et al., 2021).

2.11 Uraian bahan

1. Metanol

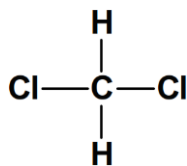


Gambar 3. Struktur Dasar Metanol

(Sendilvelan & Bhaskar, 2017)

Metanol (CH₃OH) juga dikenal sebagai spiritus kayu (CASR 67-56-1), metil alkohol, karbinol, alkohol kayu, atau spiritus kayu, adalah senyawa kimia berbentuk cairan bening dan tidak berwarna dengan aroma unik. Metanol secara fisik memiliki titik leleh -97,6°C, titik didih 64,7°C, massa jenis 0,7914 g/cm³. Menjadikan senyawa ini mudah terbakar dan menjadi volatil atau mudah menguap. Metanol dapat bertindak secara kimiawi dengan cepat menyerap air dari udara dan bercampur dengan sebagian besar cairan organik dengan hasil indeks polaritas 5,1 (Rizalina et al., 2018). Metanol juga dikenal sebagai pelarut universal yang mampu mengekstraksi berbagai senyawa polar ataupun non-polar. Pelarut ini mampu mengekstraksi metabolit sekunder tumbuhan, seperti flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Dalam penelitian ini, Metanol digunakan sebagai pelarut atau pengekstraksi senyawa kimia dari jeruk sambal (Adisti et al., 2023)

2. Diklorometana

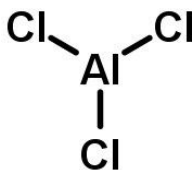


Gambar 4. Struktur Dasar Diklorometana

(WHO, 1999)

Diklorometana (DCM) atau metilena klorida (*methylene chloride*) adalah senyawa organik dengan rumus kimia CH_2Cl_2 . Senyawa ini merupakan senyawa tak berwarna dan beraroma manis yang banyak digunakan sebagai pelarut. Diklorometana tidak larut sempurna dengan air, akan tetapi dapat larut dengan pelarut organik lainnya (Nafis, 2016). Pelarut diklorometana dipilih karena memiliki nilai konstanta dielektrik yang lebih tinggi dibandingkan pelarut lain yaitu 8,93 sehingga diklorometana memiliki sifat lebih polar dibandingkan pelarut lain (Nugraheni et al., 2017). Diklorometana merupakan pelarut polar aprotik yang sangat mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak reaktif, tidak higroskopis, beracun dan berbahaya jika terhirup. Diklorometana memiliki titik didih yang relatif rendah yaitu $39,8^\circ\text{C}$ sehingga baik digunakan sebagai pelarut senyawa pada deposisi lapis tipis.

3. AlCl_3

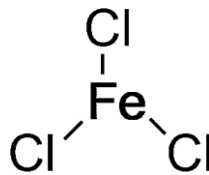


Gambar 5. Struktur Dasar AlCl_3

(WHO, 1999)

AlCl_3 atau Aluminium klorida tidak mengandung air, berwarna putih keabu-abuan dengan aroma yang menyengat, berbentuk kristal heksagon atau serbuk, sensitif pada udara yang lembab. Mudah teroksidasi apabila terkena kontak dengan udara. Bersifat korosif dan beracun apabila dikonsumsi. Memiliki titik didih pada suhu $182,7^\circ\text{C}$ dan meleleh pada suhu $192,6^\circ\text{C}$. Larut pada larutan polar, contohnya seperti metanol (National Center for Biotechnology Information, 2025).

4. FeCl_3

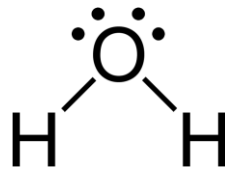


Gambar 6. Struktur Dasar FeCl_3

(WHO, 1999)

Ferric Chloride atau juga dikenal sebagai senyawa besi (III) klorida berwarna orange sedikir coklat kehitaman pekat. FeCl_3 sangat mudah larut dalam air dan metanol dan tidak mudah terbakar. Kelarutan dalam air dingin pada $74,4\text{g}/100\text{cc}$ pada 0°C , pada air panas $535,7\text{g}/100\text{cc}$ pada 100°C , didalam aseton $63\text{g}/100\text{cc}$ pada 18°C . Ketika basah, bersifat korosif pada aluminium dan berbagai macam logam. Memiliki titik didih pada 316°C , titik leleh pada 304°C (National Center for Biotechnology Information., 2021).

5. Air

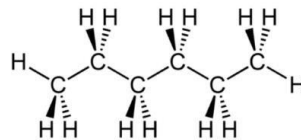


Gambar 7. Struktur Dasar Air

(WHO, 1999)

Air atau H_2O adalah cairan jernih, tak berwarna, tak berbau, tak mempunyai rasa. Bersifat polar dan merupakan pelarut universal yang mampu melarutkan banyak zat. Titik didihnya berada pada $99.974^{\circ}C$ (Depkes, 1979).

6. N-Heksana



Gambar 8. Struktur Dasar N-Heksana

(Depkes, 1979)

N-Heksana atau C_6H_{14} tidak berwarna, tidak berbau, tampak mengkilap, rasa membakar dan manis kemudian agak pahit. Larut dalam 1,5 bagian air, dalam 12,5 ml etanol (95%) dan lebih kurang 10 bagian kloroform. Disimpan dalam wadah tertutup baik. Bersifat non-polar. Memiliki massa jenis $0,6606 \text{ g/cm}^3$.

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah bejana maserasi, batang pengaduk, *chamber*, corong gelas (Herma), corong pisah (Iwaki), *Erlenmeyer* (Iwaki), lampu UV penampak bercak 254 nm dan 366 nm, neraca analitik (New tech), oven (Gemmyco), penangas air, penggaris, pipa kapiler, pipet tetes, pisau, plat *silica gel* 60 F₂₅₄, *rotary vacuum evaporator* (Lab tech), seperangkat alat gelas.

3.2 Bahan Penelitian

Sample fraksi etanol kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp*), Metanol, Diklorometana, FeCl₃ 10%, AlCl₃ 5%, Aquadest

3.3 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian dilaksanakan dari November 2024 – Mei 2025 di Laboratorium Mikrobiologi dan Teknologi Farmasi Akfar Yarsi Pontianak

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Determinasi Tanaman

Pemeriksaan atau determinasi tanaman dilakukan di Fakultas MIPA Universitas Tanjung Pura Pontianak, Kalimantan Barat.

3.4.2 Pengumpulan Sampel

Sampel kulit buah Jeruk Sambal (*Citrus spp*) ini didapatkan di Kecamatan Sungai Kakap, Kabupaten Kubu Raya.

3.4.3 Pengelolaan Simplisia

Buah jeruk sambal (*Citrus spp*) segar dikumpulkan. Setelah itu, buah-buah tersebut disortir secara basah untuk menghilangkan kotoran yang ada. Proses pencucian dilakukan dengan menggunakan air bersih yang mengalir untuk memastikan semua kotoran yang masih menempel hilang. Selanjutnya, kulit jeruk sambal dipisahkan dengan menggunakan pisau dan dipotong-potong agar lebih mudah dalam proses pengeringan dan penghalusan. Potongan kulit jeruk yang telah dipersiapkan kemudian dijemur di bawah sinar matahari selama beberapa hari hingga kering. Setelah proses pengeringan, dilakukan sortasi kering untuk memastikan tidak ada kotoran yang tertinggal. Kulit jeruk yang sudah kering kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus. Serbuk tersebut ditimbang dan disimpan dalam wadah tertutup yang terlindung dari sinar matahari langsung (Sari et al., 2023).

3.4.4 Pembuatan Ekstrak dan Fraksinasi

Serbuk kulit jeruk yang didapat kemudian ditimbang dan dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 3×24 jam. Maserasi dilakukan menggunakan bejana. Bejana diisi dengan dengan simplisia yang kemudian dituangkan pelarut etanol dengan perbandingan (1:5) hingga terendam keseluruhannya, ditutup kemudian didiamkan, bejana disimpan ditempat yang terhindar dari sinar matahari, dalam proses maserasi dapat diaduk beberapa kali. Setelah proses maserasi, campuran tersebut disaring. Filtrat yang diperoleh dari maserasi pada hari pertama, kedua, dan ketiga digabungkan dan kemudian dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga menghasilkan ekstrak kasar yang pekat (Wulandari et al., 2013).

Hasil ekstrak etanol yang sudah pekat kemudian di fraksinasi menggunakan methanol dan n-heksan (1:1) dengan volume 100ml menggunakan corong pisah. Kemudian fraksi metanol yang di peroleh di evaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* hingga diperoleh fraksi metanol yang pekat.

Peneliti memilih etanol sebagai pelarut dikarenakan etanol adalah pelarut universal yang dapat mengikat semua jenis komponen kimia yang ada dalam bahan tumbuhan, baik yang bersifat non-polar, semi-polar, maupun polar. Etanol adalah cairan yang mudah meresap kedalam sel melalui dinding sel bahan, sehingga metabolit sekunder yang terdapat dalam sitoplasma dapat terlarut dalam pelarut ini, memungkinkan ekstraksi senyawa yang optimal (Lenny, 2006).

3.5 Uji kualitatif dan penentuan nilai Rf fraksi metanol kulit buah jeruk sambal dengan metode KLT

Pada pengujian menggunakan KLT dilakukan beberapa orientasi pada pemilihan pelarut sebagai fase gerak, fase diam yang digunakan adalah *silica gel* 60 F₂₅₄ berukuran 8×2,4cm pengamatan bercak dilakukan menggunakan penampak bercak FeCl₃ 10% (senyawa fenolik) dan AlCl₃ 5% (senyawa flavonoid). Disiapkan plat KLT dengan ukuran 8x2,4cm (jarak elusi 5,6cm) kemudian diaktifkan didalam oven pada suhu 100°C selama 15 menit (Ridwan, 2023). Pengamatan bercak dilakukan pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Fahrurroji & Riza, 2020).

3.5.1 Penjenuhan Chamber

Tabel 1. Eluen yang akan diuji

%Metanol	%Diklorometana
0	100
10	90
20	80
30	70
40	60
50	50
60	40
70	30
80	20
90	10
100	0

Cairan pengelusi (eluen) atau fase gerak yang digunakan adalah methanol : diklorometana dengan variasi eluen 0 – 100. Eluen yang telah dibuat kemudian dimasukan kedalam *chamber*. Kertas saring yang telah dipotong kemudian dimasukkan kedalam *chamber* lalu *chamber* ditutup. Chamber dikatakan jenuh apabila eluen sudah mencapai ujung kertas saring (Usman & Muin, 2023). Metanol merupakan pelarut yang umum digunakan untuk mengekstraksi senyawa metabolit sekunder seperti fenolik dan flavonoid. Kemampuannya menarik senyawa berasal dari polaritasnya yang tinggi dan mempunyai kemampuan menembus dinding sel, sifatnya mampu menstabilkan senyawa fenolik dari degradasi oksidatif selama proses ekstraksi (Mohamed et al., 2016). Diklorometana memang termasuk pelarut yang kurang polar dibandingkan metanol atau etanol, namun tetap mampu mengekstraksi senyawa flavonoid atau fenolik dengan baik (El Gamouz et al., 2022).

3.5.2 Proses elusi fraksi pada KLT

Larutan sampel fraksi metanol kulit buah jeruk sambal ditotolkan pada plat menggunakan pipa kapiler secukupnya ke plat KLT yang sudah diaktifkan. Plat KLT kemudian dimasukkan kedalam *chamber* yang telah dijenuhkan dan berisi eluen (sesuai dengan tabel 5) hingga selesai proses eluidasi. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan. Setelah itu plat disemprotkan masing masing FeCl_3 10% dan AlCl_3 5% lalu diamati secara visual. (Yuspita Sari et al., 2018)

3.5.3 Identifikasi menggunakan lampu UV

Plat KLT yang telah disemprotkan penampak bercak, kemudian diamati dibawah sinar UV pada Panjang gelombang 254nm dan 366nm. selanjutnya dilakukan perhitungan nilai Rf dengan rumus (Usman & Muin, 2023) :

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh senyawa dari titik asal}}{\text{jarak yang ditempuh pelarut dari titik asal}}$$

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Profil hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dari fraksi metanol kulit jeruk sambal menunjukkan keberadaan senyawa metabolit sekunder berupa fenolik dan flavonoid pada beberapa variasi perbandingan eluen. Keberadaan senyawa fenolik dapat ditandai dengan munculnya bercak berwarna biru kehitaman setelah penyemprotan menggunakan FeCl_3 10%, sedangkan senyawa flavonoid teridentifikasi melalui bercak merah setelah disemprotkan AlCl_3 5%.
2. Nilai r_f senyawa fenolik bervariasi pada 0,61-0,95 dengan nilai paling rendah pada variasi (80:20) dan tertinggi pada variasi diklorometana 100%. Pada senyawa flavonoid, nilai r_f bervariasi pada 0,61–0,89 dengan nilai paling rendah pada variasi (90:10) dan tertinggi pada variasi diklorometana 100%.
3. Konsentrasi yang paling baik dalam menarik senyawa fenolik ada pada variasi eluen (30:70) dan (60:40). Sedangkan konsentrasi yang paling baik dalam menarik senyawa flavonoid ada pada variasi eluen diklorometana 100%, varian eluen 2 (10:90), varian eluen 7 (60:40), varian eluen 8 (70:30), dan varian eluen 9 (80:20)

5.2 Saran

Untuk peneliti selanjutnya, disarankan agar dilakukan uji pendahuluan eluen sebelum tahap kromatografi kolom atau isolasi menggunakan KLT

preparatif, guna memastikan sistem pelarut yang digunakan mampu memisahkan senyawa target secara optimal.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisti, J. P., Suwirman, S., & Idris, M. (2023). *Pengaruh Ekstrak Pegagan (Centella asiatica (L.) Urb.) dengan Beberapa Jenis Pelarut sebagai Biostimulan terhadap Pertumbuhan Sawi Pagoda (Brassica rapa var. narinosa L.)*. Jurnal Biologi UNAND, 11(1), 54. <https://doi.org/10.25077/jbioua.11.1.54-61.2023>
- Budiarto, R., Poerwanto, R., Santosa, E., & Efendi, D. (2017). *The Potentials of Limau (Citrus amblycarpa Hassk. Ochse) as A Functional Food and Ornamental Mini Tree Based on Metabolomic and Morphological Approaches*. Journal of Tropical Crop Science, 4(2), 49–57. <https://doi.org/10.29244/jtcs.4.2.49-57>
- Darmawansyah, A., Nurlansi, & Haeruddin. (2023). *Pemisahan Senyawa Terpenoid Ekstrak n-Heksan Daun Kaembu-Embu (Blumea balsamifera) Menggunakan Kromatografi Kolom Gravitasi*. Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia, 12. <http://sains.uho.ac.id/index.php/journal>
- Dasrinal, E. (2022). *Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Sungkai (Peronema Canescens Jack) Dan Uji Aktivitas Imunomodulator*. Universitas Jambi.
- Depkes. (1979). *Farmakope Indonesia Edisi Ketiga*.
- Depkes. (1985). *Cara Pembuatan Simplisia*.
- Depkes. (1995). *Farmakope Indonesia*.
- Depkes RI. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*.
- Dhurhanian, E. C., & Novianto, A. (2018). *Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (Myrmecodia pendens)*. Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, 5(2), 62.
- El Gamouz, S., Bouzekri, O., Elidrissi, M., Amechrouq, A., & Choukrad, M. (2022). *A Comparative Study of Phytochemical Profile of Different Solvents' Effects on Total Phenolic Content and Antioxidant Activities of Various Parts of Halimium halimifolium*. Journal of Chemistry, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/3847716>
- Fahrurroji, A., & Riza, H. (2020). *Karakterisasi Ekstrak Etanol Buah Citrus amblycarpa (L.), Citrus aurantifolia (S.), dan Citrus sinensis (O.)*.
- Fatah, M. I., Muldiyana, T., & Kusnadi. (2024). *Pengaruh Konsentrasi Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Sediaan Serum Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (Hylocereus Polyrhizus)* (Vol. 7, Issue 2). Online.

<https://jurnal.uimedan.ac.id/index.php/JURNALFARMASI>
 omepage:<https://jurnal.uimedan.ac.id/index.php/JURNALFARMASI>

- Harborne, J. B. (2006). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Vol. 4). Penerbit ITB.
- Kamariyah Sani, S., Erna, B., Sri Ulandari Fakultas Kesehatan, A., Qamarul Huda Badaruddin Bagu, U., Tenggara Barat, N., & Korespondensi, P. (2023). *Identifikasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Jarak Kepyar (Ricinus communis) Dengan Analisis Fitokimia Dan Gc-Ms Sebagai Kandidat Senyawa Obat* (Vol. 8, Issue 1).
- Kamoda, A. P. M. D., Nindatu, M., Kusadhiani, I., Astuty, E., Rahawarin, H., & Asmin, E. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat Saragassum Sp. Dengan Metode 1,1-DIFENIL-2-PIKRIHIDRASIL (DPPH)* (Vol. 3, Issue 1). <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/pameri/index60>
- Kementerian Kesehatan. (2020). *Farmakope Indonesia Edisi VI*.
- Khoirunnisa, I., & Sumiwi, S. A. (2019). *Review Artikel: Peran Flavonoid Pada Berbagai Aktivitas Farmakologi*.
- Kusmaningrum, A. (2015). *Aktivitas Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Sambal (Citrus Microcarpa) Sebagai Repelan Terhadap Nyamuk Aedes Aegypti L Dengan Metode Whopes*.
- Kusumawati, I. G. A. W., Putra, I. M. W. A., & Yogeswara, I. B. A. (2021). *In Vitro ACE Inhibitory Activity and Bioactive Compounds of Aqueous Extract of Citrus amblycarpa*. *Majalah Obat Tradisional*, 26(2), 118–122. <https://doi.org/10.22146/mot.65028>
- Lenny, S. (2006). *Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida*.
- Mahardani, T. O., & Yuanita, L. (2021). *Efek Metode Pengelolaan dan Penyimpanan Terhadap Kadar Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan*.
- Mohamed, A. A., Ali, S. I., Sameeh, M. Y., & Abd El-Razik, T. M. (2016). *Effect of solvents extraction on HPLC profile of phenolic compounds, antioxidant and anticoagulant properties of organum vulgare*. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 9(11), 2009–2016. <https://doi.org/10.5958/0974-360X.2016.00410.8>
- Mukhriani, Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M., & Ikhlas Arsul, M. (2019). *Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (Vitis vinifera L)*. In *J.Pharm.Sci* (Vol. 2, Issue 2).
- Muldianah, D., Nurdimayanthi, D. A., Rahmawati, D. S., & Fadhilah, H. (2021). *Teknik Isolasi dan Identifikasi Senyawa Glikosida dari Berbagai*

- Tanaman*. PharmaCine : Journal of Pharmacy, Medical and Health Science, 2(1), 11–21. <https://doi.org/10.35706/pc.v2i1.5577>
- Mulyati, U. (2015). *Penetapan Parameter Standar Ekstrak Etanol Daun Gedi (Abelmoschus manihot L)*. Universitas Airlangga.
- Nafis, M. H. (2016). *Degradasi Diklorometana Dalam Air Dengan Metode Advance Oxidation Treatment (AOT)*. Universitas Airlangga.
- National Center for Biotechnology Information. (2021). *Ferric Chloride*.
- National Center for Biotechnology Information. (2025, February 24). *Aluminium Chloride*. PubChem Compound Summary for CID 24012.
- Nitami, S. F., Febriansah, R., & Fareza, M. S. (2020). *Uji Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Teh dan Kulit Jeruk Mandarin*. Acta Pharmaciae Indonesia : Acta Pharm Indo, 8(1), 1. <https://doi.org/10.20884/1.api.2020.8.1.2433>
- Noer, S., Pratiwi, R. D., Gresinta, E., Biologi, P., Teknik, F., & Mipa, D. (2018). *Eksakta: Jurnal Ilmu-ilmu MIPA Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (Ruta angustifolia L.)*.
- Nugraheni, F. T., Dewi, M., & Septiyana, R. (2017). *Perbandingan Rendemen Kristal Kafein pada Biji Kopi (Coffea arabica l.) dan Coklat (Theobroma cacao l.) dengan Menggunakan Metode Refluks*. www.jurnal.stikescendekiautamakudus.ac.id
- Pedana, F., Fadhlillah, M., & Lestari, W. (2017). *Antioxidant Activities Three Orange Oil (Citrus Amblycarpa) Area In The West Java Using The Carotenoid Bleaching Method*. www.journal.uniga.ac.id
- Pratikto, A. P., Yamlean, P. V. Y., & Siampa, J. P. (2024). *Formulasi dan Evaluasi Krim Ekstrak Kulit Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Sebagai Tabir Surya*. 13(1), 483. <https://doi.org/10.35799/pha.13.2024.49582>
- Putra, G. M. D., Satriawati, D. A., Astuti, N. K. W., & Yadnya-Putra, A. A. G. R. (2018). *Standarisasi Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Jeruk Limau (Citrus amblycarpa (Hassk.) Osche)*.
- Putri, A. O., Hati, M. C., Ishanti, N. P., & Ilham, H. S. (2024). *Identifikasi Senyawa Flavonoid Pada Beberapa Jenis Tanaman Dengan Kromatografi Lapis Tipis: Literature Review*. PHARMADEMICA : Jurnal Kefarmasian Dan Gizi, 3(2), 45–54. <https://doi.org/10.54445/pharmademica.v3i2.40>
- Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021). *Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi*

- (*Mangifera casturi* Kosterman). Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia, 8(1), 58.
- Reno Dwiyantoro, A., Hairil Alimuddin, A., & Hadari Nawawi, J. H. (2018). *Karakterisasi Senyawa Fenolik Dari Fraksi Etil Asetat Kayu Batang Tumbuhan Ceria (Baccaurea Hookeri)*. 7(4), 31–36.
- Ridwan, D. A. (2023). *Skrining Fitokimia Dan Analisis Kualitatif Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Ekstrak Daun Tobo-Tobo*. Uin Alauddin Makassar.
- Rizalina, H., Cahyono, E., Mursiti, S., Nurcahyo, B., & Supartono. (2018). *Indonesian Journal of Chemical Science Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography*. In J. Chem. Sci (Vol. 7, Issue 3). <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Sapitri, A., Asfianti, V., Diansari Marbun, E., Farmasi dan Ilmu Kesehatan, F., & Sari Mutiara Indonesia, U. (n.d.). *Pengelolaan Tanaman Herbal Menjadi Simplisia Sebagai Obat Tradisional*. Jurnal Abdimas Mutiara, 3.
- Sari, D. Y., Lestari, G. W., Pulungan, H. F. F., Remiyati, I., & Widayarsi, R. (2023). *Moisturized and non-irritating hand gel based on sappan wood (Caesalpinia sappan L.) and limau citrus peel (Citrus amblycarpa (hassk.) ochse) extracts*. Journal of Public Health in Africa, 14(S1). <https://doi.org/10.4081/jphia.2023.2509>
- Sarwono, B., & Made Sukawidia. (1986). *Jeruk dan Kerabatnya* (1st ed., Vol. 1). Penebar Swadaya.
- Sendilvelan, S., & Bhaskar, K. (2017). *Chemical and experimental analysis of fumigation process to reduce emission without affecting the performance of an engine*. Rasayan Journal of Chemistry, 10(1), 111–116. <https://doi.org/10.7324/RJC.2017.1011564>
- Sendul, T. W., Y, Lita. A. D., Montolalu, & Dotulong, V. (2020). *Rendemen Ekstrak Air Rebusan Daun Tua Mangrove Sonneratia alba (The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove Sonneratia alba)*. 11. <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/JPKT/index>
- Silfiana, D. (2022). *Skripsi Uji Antioksidan Fraksi Hasil Kromatografi Cair Vakum (Kcv) Ekstrak Etanol Daun Manggis (Garcinia Mangostana L.) Dan Kuantifikasi Senyawa Aktif*. Stikes Bhakti Husada Mulia Madiun.
- Sogandi, G., Darma, W. S. T., & Jannah, R. (2019). *Potential of Antibacterial Compounds from Sweet Root Extract (Glycyrrhiza glabra L) on Bacillus cereus*. Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi, 22(4), 105–111. <https://doi.org/10.14710/jksa.22.4.105-111>

- Sudarwati, T. P. L., & Fernanda, H. F. (2019). *Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (Carica Papaya) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva Aedes Aegypti* (Vol. 1). Graniti. www.penerbitgraniti.com
- Suputri, Y. D., Dwi Ananto, A., & Andayani, Y. (2021). *Analisis Kualitatif Kandungan Fenolik dalam Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Metanol dari Ekstrak Kulit Jagung (Zea mays L.)*. Jurnal Ilmu Kefarmasian, 2(1).
- Susanty, & Bachmid, F. (2016). *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jagung (Zea mays L.)*. 1.
- Susila Ningsih, I., Chatri, M., Advinda, L., & Violita. (2023). *Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan* (Vol. 8, Issue 2).
- Syamsul, E. S., Mulyani, R. N., & Jubaidah, S. (2018). *Identifikasi Rhodamin B Pada Saus Tomat Yang Beredar Di Pasar Pagi Samarinda*. In Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (Vol. 3, Issue 1).
- Usman, Y., & Muin, R. (2023). *Uji Kualitatif Dan Perhitungan Nilai Rf Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Gulma Siam*. Journal of Pharmaceutical Science and HerbalTechnology, 1(1).
- Wahyuni, R., & Rivai, H. (2014). *Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin Dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto*. In Jurnal Farmasi Higea (Vol. 6, Issue 2).
- WHO. (1999). *IARC Monographs On The Evaluation Of Carcinogenic Risks To Humans*. <http://www.iarc.fr/>.
- Wulandari, M., Idiawati, N., Studi Kimia, P., Mipa, F., Tanjungpura, U., & HHadari Nawawi, J. (2013). *Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat Dan Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (Citrus Microcarpa Bunge)*. 2(2), 90–94.
- Yuspita Sari, D., Widiyantoro, A., Hairil Alimuddin, A., & Hadari Nawawi, J. H. (2018). *Isolasi Brazilin Dari Kayu Secang (Caesalpinia Sappan L.) Dan Formulasinya Untuk Lipstik Batang Brazilin*. <http://jurnal.untan.ac.id/index.php/jp>
- Zuhro, S. H., Tutik, & Marcellia, S. (2021). *Pengaruh Jenis Pelarut Ekstrak Kulit Bawang Merah (Allium cepa L) Terhadap Larva Aedes aegypti*.