

ABSTRAK

Kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp.*) diketahui mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan profil kromatografi lapis tipis (KLT) dan nilai Rf senyawa fenolik serta flavonoid pada fraksi metanol kulit buah jeruk sambal. Sampel kulit buah dikeringkan, dihaluskan, kemudian diekstraksi dengan etanol dan difraksinasi menggunakan metanol. Uji KLT dilakukan pada pelat silika gel G60 F254 dengan fase gerak metanol:etil asetat dalam berbagai perbandingan. Identifikasi bercak menggunakan pereaksi FeCl_3 10% untuk fenolik dan AlCl_3 5% untuk flavonoid, kemudian diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Hasil menunjukkan bahwa senyawa fenolik terdeteksi dengan nilai Rf standar 0,73 pada eluen Metanol:Etil Asetat = 8:2 dan 0,58 pada eluen Metanol:Etil Asetat = 10:0. Senyawa flavonoid memiliki nilai Rf standar 0,74 pada eluen Metanol:Etil Asetat = 0:10, 0,75 pada eluen Metanol:Etil Asetat = 2:8, 0,76 pada eluen Metanol:Etil Asetat = 7:3, dan 0,78 pada eluen Metanol:Etil Asetat = 10:0. Kesimpulan penelitian ini menyatakan bahwa fraksi metanol kulit buah jeruk sambal positif mengandung fenolik dan flavonoid dengan nilai Rf dalam rentang standar 0,2–0,8, sehingga berpotensi dikembangkan sebagai sumber bahan aktif alami.

Kata kunci: *Citrus spp.*, fenolik, flavonoid, KLT, nilai Rf

ABSTRACT

The peel of Citrus spp. is known to contain phenolic and flavonoid compounds with antioxidant potential. This study aimed to determine the thin layer chromatography (TLC) profile and Rf values of phenolic and flavonoid compounds in the methanol fraction of Citrus spp peel. The peel samples were dried, powdered, extracted with ethanol, and fractionated using methanol. TLC was performed on silica gel G60 F254 plates with methanol:ethyl acetate as the mobile phase in different ratios. Spots were identified using 10% FeCl₃ for phenolics and 5% AlCl₃ for flavonoids, observed under UV light at 254 nm and 366 nm. The results showed that phenolic compounds exhibited Rf values of 0.73 at eluent Methanol:Ethyl Acetate = 8:2 and 0.58 at Methanol:Ethyl Acetate = 10:0. Flavonoid compounds presented Rf values of 0.74 at Methanol:Ethyl Acetate = 0:10, 0.75 at Methanol:Ethyl Acetate = 2:8, 0.76 at Methanol:Ethyl Acetate = 7:3, and 0.78 at Methanol:Ethyl Acetate = 10:0. The study concludes that the methanol fraction of Citrus spp. peel contains phenolic and flavonoid compounds with Rf values within the standard range of 0.2–0.8, indicating its potential as a natural source of bioactive compounds for pharmaceutical or cosmetic applications.

Keywords: Citrus spp. flavonoid, phenolic, Rf value, TLC

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia adalah negara dengan hutan tropis paling besar ketiga di dunia (setelah Brazil dan Zaire). Jumlah tumbuhan yang berkhasiat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan (Fauzi *et al.*, 2021). Salah satunya adalah tanaman jeruk sambal (*Citrus spp.*). Jeruk ini mengandung asam sitrat yang diketahui mampu mencerahkan warna pada resin komposit karena mengandung gugus OH yang berpotensi menjadi oksidator yang kuat. Menurut Cheong tahun 2013, jeruk sambal (*Citrus spp.*) mengandung asam sitrat dan kandungannya banyak ditemukan pada jeruk yang matang. Kulit buah jeruk sambal memiliki kandungan diantaranya flavonoid dan polifenol. Ekstrak dari etanol kulit jeruk sambal 0,5% dapat memberikan aktivitas antioksidan dengan % inhibisi sebesar 89% menggunakan metode DPPH Setelah dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit buah jeruk sambal dengan metode DPPH menghasilkan nilai EC₅₀ sebesar 94,01 mg/L (antioksidan kategori kuat) (Widyasari & Handayani, 2020). Kulit jeruk sambal (*Citrus spp.*) juga mengandung vitamin C, vitamin A, flavonoid, minyak esensial, kumarin, dan turunan asam rosmarinik (Pedana *et al.*, 2017).

Menurut penelitian (Wulandari *et al.*, 2013) ekstrak kulit jeruk sambal mengandung senyawa fitokimia yaitu fenolik, polifenol, alkaloid. Serta menurut penelitian (Fahrurroji & Riza, 2020) positif mengandung senyawa fenolik dan flavonoid pada uji tabung dan KLT. KLT dapat digunakan untuk mengidentifikasi

senyawa yang terdapat dalam campuran secara kualitatif, yaitu dengan membandingkan Rf baku pembanding dengan Rf sampel (Kamar *et al.*, 2021)

Sebelumnya telah dilakukan penelitian penetapan kadar flavonoid total ekstrak metanol kulit buah jeruk sambal yang memberikan hasil kadar sebesar 0,3324mg/g (Widyasari & Handayani, 2020). Selain itu telah dilakukan pemeriksaan karakteristik minyak kulit buah jeruk sambal dengan metode KLT menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (9:1) yang menunjukkan hasil positif mengandung senyawa flavonoid dengan nilai ($R_f = 0,94$) (Pedana *et al.*, 2017). Selanjutnya, hasil skrining senyawa fenolik dan flavonoid pada sample 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) juga menunjukan hasil positif untuk flavonoid (Fahrurroji & Riza, 2020)

Berdasarkan penelusuran literatur yang telah saya baca, belum ada penelitian tentang profil kromatografi dan penentuan nilai RF senyawa fenolik dan flavonoid pada sampel kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp.*) menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Oleh karena itu, penelitian mengenai "Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada Fraksi Metanol Kulit Jeruk Sambal (*Citrus spp.*) penting dilakukan untuk mengisi kesenjangan pengetahuan tersebut dan memberikan informasi baru mengenai karakteristik senyawa bioaktif yang terkandung dalam kulit jeruk sambal, yang nantinya dapat menjadi dasar pengembangan penelitian tentang kulit jeruk sambal secara lebih optimal.

1.2 Rumusan Masalah

Adapun yang menjadi permasalahan penelitian ini adalah bagaimanakah profil KLT dan berapakah nilai Rf senyawa fenolik dan flavonoid pada FMCS fraksi metanol kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp.*)?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun yang menjadi tujuan penelitian ini adalah menentukan profil KLT dan berapakah nilai Rf senyawa fenolik dan flavonoid pada FMCS fraksi metanol kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp.*).

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Dapat menambah wawasan bagi peneliti tentang nilai Rf yang terkandung dalam senyawa fenolik dan flavonoid pada FMCS fraksi metanol kulit buah Jeruk sambal (*Citrus spp.*).

2. Bagi Masyarakat

Memberikan informasi kepada masyarakat mengenai kandungan senyawa fenolik dan flavonoid pada FMCS fraksi metanol kulit buah Jeruk sambal (*Citrus spp.*).

3. Bagi Institusi

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan referensi secara ilmiah untuk penelitian selanjutnya dan pengembangan ilmu pengetahuan kefarmasian khususnya dibidang kimia dan farmakognosi tentang nilai Rf senyawa fenolik dan flavonoid pada FMCS fraksi metanol kulit buah Jeruk sambal (*Citrus spp.*).

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Morfologi Tanaman Jeruk Sambal



(a)



(b)

Gambar 1. (a) Pohon Jeruk Sambal, (b) Buah Jeruk sambal

(Dokumentasi pribadi, 2025)

Jeruk sambal (*Citrus spp.*) merupakan salah satu tanaman endemik Indonesia yang memiliki potensi besar sebagai obat, tanaman ini mudah ditemukan karena sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari sebagai penambah bumbu masakan. Salah satu senyawa kimia yang telah diketahui memiliki efek analgesik adalah senyawa flavonoid (Maharani *et al.*, 2020). Morfologi bunga dari jeruk sambal berwarna putih dan mempunyai 5 buah kelopak yang berbentuk lonjong. Daunnya berwarna hijau tua dan berbentuk bulat atau lonjong dengan panjang antara 2,5–6,8 cm dan tebal 2–3 cm. Buah dari jeruk sambal berwarna kuning bila matang, bentuknya hampir bulat, diameter 2-3,5 cm, bersel 6-7, dan berkulit tipis (Yanti, R. S. A, *et al.*, 2021).

2.2 Klasifikasi Tanaman Jeruk Sambal

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> (UNTAN, 2024).

2.3 Kandungan Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus spp.*)

Kulit buah jeruk sambal memiliki kandungan diantaranya flavonoid dan polifenol. Ekstrak dari etanol kulit jeruk sambal 0,5% dapat memberikan aktivitas antioksidan dengan % inhibisi sebesar 89% menggunakan metode DPPH. Setelah dilakukan uji aktivitas antioksidan ekstrak metanol kulit buah jeruk sambal dengan metode DPPH menghasilkan nilai EC_{50} sebesar 94,01 mg/L (antioksidan kategori kuat) (Widyasari & Handayani, 2020).

Menurut (Husni *et al.*, 2020) ekstrak kulit buah jeruk sambal memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E. coli* dan *S. aureus* pada konsentrasi 15% dan 20% dengan diameter daya hambat masing-masing sebesar 0,36 mm dan 0,72 mm. Penelitian lainnya menunjukkan aktivitas antibakteri ekstrak kulit buah jeruk sambal terhadap *E. coli* dan *S. aureus* pada konsentrasi 40% dengan daya hambat masing-masing sebesar 10 mm dan 7,2 mm (Amiliah *et al.*, 2021).

2.4 Manfaat Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus spp.*)

Salah satu tanaman dari sekian banyak tanaman yang mempunyai khasiat adalah kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp.*). Tanaman ini berpotensi sebagai

penghasil minyak atsiri. Kulit jeruk sambal mengandung sabinena dan limonena yang berguna untuk kosmetik. (Pedana *et al.*, 2017).

Kulit jeruk sambal (*Citrus spp.*) ialah komponen tanaman yang mempunyai sifat antibakteri karena adanya metabolit sekunder sebagaimana minyak atsiri, alkaloid, tanin, terpenoid, saponin, flavonoid dan steroid yang dapat dimanfaatkan menjadi antibakteri (Oktaviani *et al.*, 2024).

2.5 Simplisia

Simplisia merujuk pada bahan alami yang dapat digunakan sebagai obat tanpa mengalami pengolahan apapun atau hanya telah menjalani proses setengah jadi, seperti pengeringan. Simplisia dapat berasal dari tumbuhan (simplisia nabati), ini adalah simplisia yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, baik berupa akar, daun, bunga, buah, biji, maupun kulit kayu hewan. Simplisia nabati harus melalui proses pengeringan yang tepat untuk mencegah pertumbuhan jamur dan mempertahankan kandungan zat aktifnya. (simplisia hewani), Berasal dari hewan atau bagian-bagian hewan. Perlu penanganan khusus dalam penyimpanannya karena lebih mudah rusak dibanding simplisia nabati atau bahan mineral. (simplisia pelican / Mineral), Berasal dari bahan mineral atau tambang. Umumnya lebih stabil dalam penyimpanan dibanding simplisia nabati dan hewani (Arsyad *et al.*, 2023).

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa kimia yang dapat larut dari suatu bahan, sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Hasil dari ekstraksi adalah ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan cara mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau sebagian pelarut

diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Saputra Arfi Fyulian M, 2021).

Tujuan dari proses ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat ke dalam pelarut, yaitu perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Saputra Arfi Fyulian M, 2021).

2.7 Fraksinasi

Ekstrak awal adalah campuran dari berbagai senyawa yang sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, diperlukan pemisahan ekstrak awal menjadi fraksi-fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang serupa. Proses fraksinasi dapat dilakukan dengan menggunakan berbagai metode, termasuk Ekstraksi cair-cair, Ekstraksi cair-cair merupakan metode pemisahan yang memanfaatkan dua pelarut tidak saling campur dimana distribusi zat terlarut akan terbagi di antara kedua pelarut sesuai dengan koefisien distribusinya dan biasanya menggunakan corong pisah sebagai alat utama pemisahan. Kromatografi Cair Vakum (KCV), Kromatografi Cair Vakum menggunakan sistem pemisahan dengan bantuan pompa vakum untuk mempercepat proses elusi menggunakan fasa diam berupa silika gel atau alumina dan fasa gerak berupa pelarut organik dengan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Kromatografi Kolom (KK), Kromatografi Kolom adalah teknik pemisahan berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen campuran melalui kolom kromatografi yang berisi fasa diam dimana pemisahan terjadi karena perbedaan afinitas komponen terhadap fasa diam dan fasa gerak. *Size-exclusion chromatography* (SEC), *Size-Exclusion Chromatography* merupakan teknik

pemisahan berdasarkan ukuran molekul menggunakan matriks berpori sebagai fasa diam dimana molekul yang berukuran lebih besar akan terelusi lebih cepat karena tidak dapat masuk ke dalam pori-pori matriks. dan *Solid-Phase Extraction* (SPE), *Solid-Phase Extraction* adalah metode preparasi sampel menggunakan kartrid berisi adsorben yang dapat mengikat analit spesifik melalui tahapan conditioning loading washing dan elution sehingga dapat memisahkan analit dari matriks kompleks secara selektif (Sari *et al.*, 2018).

2.8 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

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 (Forestryana & Arnida, 2020).

Teknik kromatografi yang umum digunakan antara lain kromatografi kolom, kromatografi lapis tipis, kromatografi kertas, dan kromatografi gas. Selain kertas, adsorben berpori seperti aluminium oksida, silika 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).

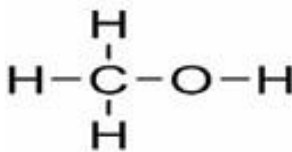
Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah jenis kromatografi planar bersama dengan kromatografi kertas dan elektroforesis. KLT adalah metode untuk

memisahkan campuran analit. Analit dielus 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 diisikan 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 (Dasrinal, 2022).

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. TLC adalah instrumen sederhana yang dapat dilakukan secara konsisten dan akurat di hampir semua laboratorium. Salah satu keunggulan TLC adalah kemampuannya untuk mengidentifikasi komponen yang terpisah menggunakan reagen kromogenik, fluoresensi, atau radiasi ultraviolet (Forestryana & Arnida, 2020).

2.9 Uraian Bahan

1. Metanol

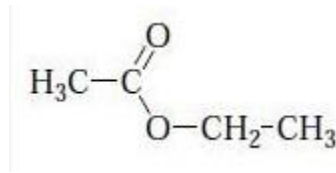


Gambar 2. Struktur Kimia Metanol

(Sumber Iswara, Rubiyanto, & Julianto, 2016)

Metanol (CH₃OH) merupakan senyawa kimia yang juga dikenal dengan nama metil alkohol, karbinol, alkohol kayu, atau spiritus kayu dengan nomor CASR 67-56-1. Secara fisik, metanol berbentuk cairan bening, tidak berwarna, dan memiliki bau yang khas. Senyawa ini memiliki karakteristik titik leleh -97,6°C, titik didih 64,7°C, berat jenis 0,7915, dan titik nyala 12°C. Metanol bersifat mudah terbakar dan mudah menguap (volatile). Secara kimia, metanol memiliki kemampuan menyerap air dari udara dengan cepat dan dapat bercampur dengan sebagian besar cairan organik. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal dengan indeks polaritas 5,1 (Rizalina *et al.*, 2018). Sehingga memiliki kemampuan untuk menarik berbagai senyawa baik yang bersifat polar maupun non polar. Pelarut ini mampu mengekstrak berbagai senyawa metabolit sekunder dari tanaman seperti flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Dalam penelitian ini, metanol dipilih sebagai pelarut ekstraksi karena kemampuannya dalam menarik senyawa-senyawa kandungan kimia yang terdapat dalam kulit buah jeruk sambal (Adisti *et al.*, 2023)

2. Etil Asetat

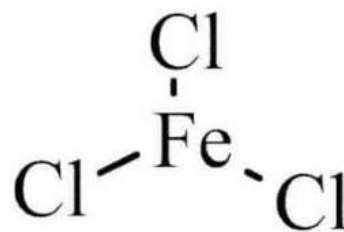


Gambar 3. Struktur Kimia Etil Asetat

(Sumber Kadarohman et al., 2022)

Etil asetat ($C_4H_8O_2$) merupakan senyawa kimia berbentuk cairan jernih, tidak berwarna, dan memiliki bau yang khas yang digunakan sebagai pelarut tinta, perekat dan resin (Sari *et al.*, 2015). Etil asetat merupakan pelarut yang aman dengan titik didih rendah, yang membuatnya mudah diuapkan setelah proses ekstraksi selesai, dan tidak bersifat higroskopis (Putri *et al.*, 2018). Sebagai pelarut dengan sifat semipolar, etil asetat memiliki kemampuan unik dalam proses ekstraksi karena dapat berikatan dengan cincin aromatik dari flavonoid yang bersifat non polar. Selain itu, sebagai pelarut yang bersifat polar moderat, etil asetat juga dapat membentuk ikatan dengan gugus polar dari flavonoid yaitu rantai hidroksi (Sylviningrum *et al.*, 2024)

3. $FeCl_3$



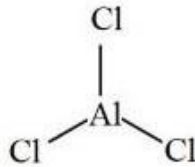
Gambar 4. Struktur Kimia $FeCl_3$

(Sumber *National Center for Biotechnology Information.*, 2021).

$FeCl_3$ adalah senyawa kimia yang di buat dari beberapa unsur kimia yang disatukan. $FeCl_3$ adalah serbuk hablur, hitam kehijauan, bebas warna jingga dari garam hidrat yang telah berpengaruh oleh kelembapan. $FeCl_3$ larut dalam air.

Larutan berpotensi berwarna jingga. FeCl_3 juga merupakan senyawa kimia yang terdapat di pasaran yang digunakan sebagai larutan untuk mengkilis permukaan logam (Nengsih, 2021).

4. AlCl_3



Gambar 5. Struktur Kimia AlCl_3

(Sumber *National Center for Biotechnology Information*, 2025)

Aluminum Chloride (AlCl_3) adalah bahan kimia anhydrous dengan rumus AlCl_3 yang termasuk dalam keluarga kimia garam. Bahan ini juga dikenal sebagai Aluminum trichloride dengan nomor CAS 7446-70-0 dan EC 231-208-1. Secara fisik, AlCl_3 berwarna kuning hingga abu-abu, tersedia dalam bentuk bubuk, granul, pelet, target sputtering atau bagian kustom, dan memiliki bau yang menyengat. Bahan ini memiliki kelarutan dalam air sebesar 46.6 g/100 ml pada suhu 30°C , dengan titik didih 120°C dan titik leleh 190°C . AlCl_3 memiliki densitas 2.44 g/cc dan berat molekul 133.34 g/mol. Dari segi reaktivitas, AlCl_3 stabil dalam kondisi penyimpanan yang direkomendasikan namun bereaksi dengan air dan basa, serta tidak kompatibel dengan cahaya. Ketika terdekomposisi, bahan ini menghasilkan asap oksida logam dan hidrogen klorida (HCl) (MSDS, 2018).

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut : bejana maserasi, batang pengaduk, *chamber*, corong gelas, corong pisah, erlenmeyer, lampu UV penampak bercak 254 nm dan 366 nm, neraca analitik, oven, penangas air, penggaris, pipa kapiler, pipet tetes, pisau, plat kromatografi lapis tipis (KLT), plat silika gel G₆₀ F₂₅₄, *rotary evaporator*, seperangkat alat gelas, tabung reaksi, timbangan, pipet volum, pinset, kain hitam, kertas saring.

3.2 Bahan Penelitian

Kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp.*), Air mengalir, Metanol, etil asetat, Silica gel G₆₀ F₂₅₄, FeCl₃ 10%, AlCl₃ 5%, n-heksan.

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian

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

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Determinasi Kulit Buah Jeruk Sambal

Determinasi dilakukan di laboratorium Fakultas MIPA BIOLOGI Universitas Tanjungpura, Pontianak.

3.4.2 Pengambilan Sampel kulit buah jeruk sambal

Bahan baku sampel yang digunakan adalah kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp.*) yang di ambil di kebun jeruk sambal Pak Herman. Sungai Rengas, Kec.Sungai Kakap, Kab.Kubu Raya, Kalimantan Barat.

3.4.3 Pengelolaan Simplisia kulit buah jeruk

Sampel kulit buah Jeruk Sambal (*Citrus spp.*) ini didapatkan di kebun buah jeruk Pak Herman. Sungai Rengas, Kec.Sungai Kakap, Kab.Kubu Raya, Kalimantan Barat. Bagian yang digunakan adalah kulit yang masih segar. Langkah pertama yaitu disortasi basah sebanyak 24 kg buah jeruk sambal yang sudah dikumpulkan dipisahkan dari bagian yang rusak kemudian buah jeruk sambal dipisahkan dari kulitnya menggunakan pisau, kemudian kulit buah jeruk sambal dicuci sampai bersih dengan air mengalir. Kulit jeruk sambal yang telah dibersihkan kemudian dirajang menjadi ukuran yang lebih kecil untuk selanjutnya dikeringkan. Kulit jeruk sambal yang sudah kering selanjutnya dibuat serbuk dengan cara diblender hingga menjadi serbuk simplisia (Sari *et al.*,2022)

$$\text{Rendemen simplisia} = \frac{\text{bobot simplisia (akhir)}}{\text{bobot bahan baku (awal)}} \times 100\%$$

3.4.4 Pembuatan Ekstrak dan Fraksinasi

Serbuk Kulit buah Jeruk Sambal (*Citrus spp.*) yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam bejana maserasi. Dituang secara perlahan pelarut etanol ke dalam bejana maserasi yang berisi serbuk simplisia hingga terendam sempurna, ditutup. Setelah itu dibiarkan cairan penyari merendam seluruh serbuk simplisia selama 3 x 24 jam sambil sesekali diaduk untuk memaksimalkan penarikan senyawa aktif dan proses pendiaman yang bertujuan untuk memudahkan proses penyarian. Maserat dipisahkan dengan cara disaring, kemudian filtrat hasil maserasi pertama (filtrat 1) disimpan dan ampasnya dilakukan remaserasi dengan pelarut etanol. Lakukan hal yang sama hingga diperoleh filtrat 2, dan filtrat 3. Kemudian seluruh filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan dikentalkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kasar yang pekat.

Hasil ekstrak etanol yang sudah pekat kemudian di fraksinasi menggunakan methanol dan n-heksan (dengan perbandingan 1: 1). Kemudian fraksi metanol yang di peroleh di evaporasi menggunakan *rotary 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. Rendemen ekstrak kental metanol kulit buah Jeruk Sambal (*Citrus spp.*) yang diperoleh dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Wulandari *et al.*, 2013).

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak (g)}}{\text{berat serbuk (g)}} \times 100\%$$

3.5 Uji Kualitatif Dan Penentuan Nilai Rf Ekstrak Methanol 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 G₆₀ F₂₅₄. Pengamatan bercak dilakukan menggunakan penampak bercak FeCl₃ 10% (senyawa fenolik) dan AlCl₃ 5% (senyawa flavonoid). Pengamatan bercak dilakukan pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm (Fahrurroji & Riza, 2020).

Berikut tabel pembuatan elluen yang akan di buat dalam 10 ml untuk setiap perbandingan yang akan digunakan dalam penelitian

Tabel 1. Elluen yang akan diuji (%v/v) dibuat dalam 10 ml

Perbandingan Elluen % (v/v)	
Metanol (%)	Etil asetat (%)
0	10
1	9
2	8
3	7
4	6
5	5
6	4
7	3
8	2
9	1
10	0

3.5.1 Penjenuhan Chamber

Cairan pengelusi (eluen) yang digunakan adalah methanol : Etil asetat dengan perbandingan 0 – 10. 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).

3.5.2 Proses Elusi Ekstrak Pada KLT

Disiapkan plat KLT dengan ukuran 8x2cm (jarak elusi 6,5 cm) kemudian diaktifkan didalam oven pada suhu 100°C selama 15 menit (Ridwan , 2023). Larutan sampel ekstrak methanol kulit buah jeruk sambal ditotolkan pada plat menggunakan pipa kapiler. Plat KLT kemudian dimasukan kedalam *chamber* yang telah

dijenuhkan dan berisi eluen 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, diketahui bahwa sampel yang positif mengandung senyawa fenolik ditunjukkan dengan perubahan warna sampel dari hijau menjadi biru kehitaman. Sedangkan sampel yang menunjukkan positif mengandung flavonoid ditandai dengan perubahan warna sampel menjadi merah pekat (Sari *et al.*,2022).

3.5.3 Identifikasi menggunakan lampu UV

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

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

3.6 Analisis Data

Analisa data akan dilakukan dengan cara mengamati warna noda dengan menggunakan penampak noda dan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 254 dan 366 mm dan menghitung nilai Rf nya. Data kemudian di sajikan dalam tabel dan di deskripsikan.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa fraksi metanol kulit buah jeruk sambal (*Citrus spp.*) terbukti mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang teridentifikasi melalui perubahan warna setelah penyemprotan dengan pereaksi spesifik serta pengamatan di bawah sinar UV. Profil kromatografi lapis tipis (KLT) yang dihasilkan menunjukkan adanya bercak dengan nilai Rf yang berada dalam rentang standar 0,2–0,8. Untuk senyawa fenolik, nilai Rf yang sesuai standar diperoleh pada eluen metanol:etil asetat 8:2 sebesar 0,73 dan pada eluen 10:0 sebesar 0,58. Sedangkan pada senyawa flavonoid, nilai Rf standar diperoleh pada eluen metanol:etil asetat 0:10 sebesar 0,74, eluen 2:8 sebesar 0,75, eluen 7:3 sebesar 0,76, dan eluen 10:0 sebesar 0,78. Hasil ini menunjukkan bahwa tujuan penelitian untuk mengetahui profil KLT serta menentukan nilai Rf senyawa fenolik dan flavonoid pada fraksi metanol kulit buah jeruk sambal telah tercapai, sekaligus memberikan bukti ilmiah mengenai potensi bioaktif kulit jeruk sambal sebagai sumber senyawa alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bidang farmasi maupun kosmetik.

5.2 Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk uji bioaktivitas lanjutan seperti uji antimikroba, antiinflamasi, dan sitotoksitas terhadap ekstrak dan fraksi aktif sangat direkomendasikan untuk mengeksplorasi potensi terapeutik kulit jeruk sambal. Selain itu, perlu dilakukan uji stabilitas senyawa bioaktif dalam berbagai

kondisi penyimpanan dan formulasi untuk mendukung pengembangan produk nutraceutical atau farmasi berbasis kulit jeruk sambal sebagai bahan aktif alami.

DAFTAR PUSTAKA

- Adisti, J. P., Suwirmen, S., & Idris, M. (2023). The Effect of Centella (*Centella asiatica* (L.) Urb.) Extract with Several Types of Solvents as a Biostimulant on the Growth of Pagoda Mustard (*Brassica rapa* var. *narinosa* L.). *Jurnal Biologi UNAND*, 11(1), 54. <https://doi.org/10.25077/jbioua.11.1.54-61.2023>
- Amiliah, A., Nurhamidah, N., & Handayani, D. (2021). Aktivitas Antibakteri Kulit Buah Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella Microcarpa*) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Alotrop*, 5(1), 92–105. <https://doi.org/10.33369/atp.v5i1.16493>
- Arsyad, R., Amin, A., & Waris, R. (2023). Teknik Pembuatan Dan Nilai Rendamen Simplisia Dan Ekstrak Etanol Biji Bagore (*Caesalpinia Crista* L.) Asal Polewali Mandar. *Makassar Natural Product Journal*, 1(3), 2023–2138. Retrieved from <https://journal.farmasi.umi.ac.id/index.php/mnpj>
- Ayu, S. I., Pratiwi, L., & Nurbaeti, S. N. (2019). Uji Kualitatif Senyawa Fenol dan Flavonoid Dalam Ekstrak N-Heksan Daun Senggani (*Melastoma malabathricum* L.) Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Mahasiswa Farmasi Fakultas Kedokteran UNTAN*, 4(1), 1–6.
- Candra, L. M. M., Andayani, Y., & Wirasisya, D. G. (2021). Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kandungan Fenolik Total dan Flavonoid Total Pada Ekstrak Etanol Buncis (*Phaseolus vulgaris* L.). *Jurnal Pijar Mipa*, 16(3), 397–405. <https://doi.org/10.29303/jpm.v16i3.2308>
- Dasrinal, E. (2022). *Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Metanol Daun Sungkai (Peronema canescens Jack) dan Uji Aktivitas Imunomodulator. Skripsi.*
- Dina Yuspita Sari, Sanitasari, R. W. (2022). Aktivitas Mukolitik Ekstrak Etanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Ochse) Secara In Vitro Dina. *Jurnal Komunitas Farmasi Nasional*, 10(1), 1–52. <https://doi.org/10.21608/pshj.2022.250026>
- Dwi Ariqoh Ridwan JASMINE, K. (2014). *Skrining Fitokimia Dan Analisis Kualitatif Kromatografi Lapis Tipis (Klt) Ekstrak Daun Tobo-Tobo (Ficus Septica Burm. F) Dengan Berbagai Pelarut. Penambahan Natrium Benzoat Dan Kalium Sorbat (Antiinversi) Dan Kecepatan Pengadukan Sebagai Upaya Penghambatan Reaksi Inversi Pada Nira Tebu.*
- Fahrurroji, A., & Riza, H. (2020). Karakterisasi Ekstrak Etanol Buah *Citrus amblycarpa* (L), *Citrus aurantifolia* (S.), dan *Citrus sinensis* (O.) Andhi. *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 7(2), 100–113.
- Forestryana, D., & Arnida, A. (2020). Skrining Fitokimia Dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Etanol Daun Jeruju (*Hydrolea Spinosa* L.). *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(2), 113. <https://doi.org/10.52434/jfb.v11i2.859>

- Hakim, Z. R., Isnaini, P. K., & Genatrika, E. (2020). Formulasi, Evaluasi Sifat Fisik, dan Uji Efektivitas Tabir Surya Losion Ekstrak Buah Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels). *PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia (Pharmaceutical Journal of Indonesia)*, 17(1), 225. <https://doi.org/10.30595/pharmacy.v17i1.9011>
- Husni, E., Ismed, F., & Afriyandi, D. (2020). Standardization study of simplicia and extract of calamondin (*citrus microcarpa bunge*) peel, quantification of hesperidin and antibacterial assay. *Pharmacognosy Journal*, 12(4), 777–783. <https://doi.org/10.5530/pj.2020.12.111>
- Iswara, F. P., Rubiyanto, D., & Julianto, T. S. (2016). Analisis Senyawa Berbahaya Dalam Parfum Dengan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa Berdasarkan Material Safety Data Sheet (Msds). *Chemical*, 1(2), 18–27. <https://doi.org/10.20885/ijcr.vol1.iss2.art3>
- Kadarohman, A., Salima, G., Salim, A. H., Safitri, A., Gustiawan, K. H., Sardjono, R. E., ... Khumaisah, L. (2022). Sintesis Fruktan Dari Etanol Dan Asam Asetat. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 11(3), 251–258. Retrieved from <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/ijcs>
- Kamar, I., Zahara, F., & Yuniarni, D. (2021). Identifikasi Parasetamol dalam Jamu Pegal Linu Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *QUIMICA: Jurnal Kimia Sains Dan Terapan*, 3(1), 24–29. <https://doi.org/10.33059/jq.v3i1.3973>
- Maharani, R. A. I. K., Cahyaningsih, N. K., Abimanyu, M. D., & Astuti, K. W. (2020). Kulit Buah Jeruk Limau (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche) Sebagai Analgesik. *Jurnal Kimia*, 14(1), 24. <https://doi.org/10.24843/jchem.2020.v14.i01.p05>
- Maqbool, Z., Khalid, W., Atiq, H. T., Koraqi, H., Javaid, Z., Alhag, S. K., ... AL-Farga, A. (2023). Citrus Waste as Source of Bioactive Compounds: Extraction and Utilization in Health and Food Industry. *Molecules*, 28(4). <https://doi.org/10.3390/molecules28041636>
- MSDS. (2018). LTS Research Laboratories, Inc. Safety Data Sheet Aluminum Chloride. *Group*, 7(iii), 15–18.
- Muhammad Nur Fauzi Joko Santoso, & Aldi Budi Riyanta. (2021). Uji Kualitatif dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Buah Maja (*Aegle Marmelos* (L.)Correa) dengan Metode DPPH. *Jurnal Riset Farmasi*, 1(1), 1–8. <https://doi.org/10.29313/jrf.v1i1.25>
- Nengsih, S. (2021). Perbandingan Kedalaman Pengikisan Logam Dalam Larutan Feri Klorida. *CIRCUIT: Jurnal Ilmiah Pendidikan Teknik Elektro*, 5(1), 75. <https://doi.org/10.22373/crc.v5i1.8472>
- Oktaviani, K. N. E. D., Wardoyo, E. R. P., & Khotimah, S. (2024). Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) terhadap Pertumbuhan *Propionibacterium acnes* dan *Pseudomonas aeruginosa* Antibacterial Activity of Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) Peel

Extract againsts Growth Propionibac. *Lentera Bio*, 13(1), 65–72.

- Pedana, F., Fadhlillah, M., & Lestari, W. (2017). Antioxidant Activities Three Orange Oil (*Citrus amblycarpa*) Area in the West Java Using the Carotenoid Bleaching Method. *Farmako Bahari*, 8(1), 34–40. Retrieved from www.journal.uniga.ac.id
- Riskaldila Zahra Rahadyana, Kusumaningtyas Siwi Artini, & Tatiana Siska Wardani. (2024). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Biji Bunga Matahari (*Helianthus Annuus L*) Dengan Menggunakan Metode Dpph (1,1-Diphenyl-2-Picryl Hydrazil). *Jurnal Kesehatan Tambusai*, 5(3), 8049–8056.
- Rizalina, H., Cahyono, E., Mursiti, S., & Nurcahyo, B. (2018). Optimasi Penentuan Kadar Metanol dalam Darah Menggunakan Gas Chromatography. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3), 254–261.
- Saputra Arfi Fyulian M. (2021). *Literature Review : Analisis Fitokimia Dan Manfaat Ekstrak Daun Kelor Skripsi Diajukan Oleh : Alwi Saputra NIM. 150704063 Mahasiswa Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry.*
- Sari Liza Azura Nst, Reni Sutri, & Iriany. (2015). Pembuatan Etil Asetat Dari Hasil Hidrolisis, Fermentasi Dan Esterifikasi Kulit Pisang Raja (*Musa paradisiaca L.*). *Jurnal Teknik Kimia USU*, 4(1), 1–6. <https://doi.org/10.32734/jtk.v4i1.1439>
- Subaryanti, S., Sulistyaningsih, Y. C., Iswantini, D., & Triadiati, T. (2020). Pertumbuhan dan Produksi Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga L.*) pada Ketinggian Tempat yang Berbeda. *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25(2), 167–177. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.2.167>
- Sylviningrum, T., Rianto, B. D., Agamonanza, F., & Ardinas, S. P. (2024). Potensi Pelarut Etil Asetat Pada Ekstraksi Flavanoid Dari Tanaman Ciplukan (*Physalis angulata L.*). *Medical and Health Journal*, 3(2), 232. <https://doi.org/10.20884/1.mhj.2024.3.2.11407>
- Tiyas Sawiji, R., & Wayoi, M. D. (2023). Formulasi Dan Uji Mutu Fisik Sediaan Sabun Cair Ekstrak Fuli Pala (*Myristica fragrans Houtt*). *JIM: Jurnal Ilmiah Mahaganisha*, 2(Juni), 42–48.
- Usman, Y., & Muin, R. (2023). Uji kualitatif dan perhitingan nilai Rf senyawa flavonoid dari ekstrak daun gulma siam. *Journal of Pharmaceutical Science and Herbal Technology*, 1(1), 12.
- Widyasari, R., & Handayani, S. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Metanol Kulit Jeruk Sambal Secara Spektrofotometri Uv-Visibel. *Medical Sains : Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(2), 111–118. <https://doi.org/10.37874/ms.v4i2.129>
- Wulandari, M., Idiawati, N., & Gusrizal. (2013). Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksana, Etil Asetat Dan Metanol Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) Mulyani. *Jkk*, 2(2), 90–94.

Yanti, R. S. A, S. N., Chandra, V. E., & -, V.-. (2021). Kajian Metabolit Sekunder dalam Air Perasan Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa Bunge*) yang Berasal dari Desa Kalimas, Kalimantan Barat. *Journal of Pharmaceutical And Sciences*, 4(2), 105–110. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v4i2.66>