

ABSTRAK

Kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Ochse) diketahui mengandung senyawa bioaktif seperti fenolik dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil kromatografi lapis tipis (KLT) fraksi metanol kulit jeruk sambal serta menghitung nilai R_f senyawa fenolik dan flavonoid. Metode penelitian meliputi pembuatan simplisia, ekstraksi maserasi, fraksinasi metanol, dan uji KLT menggunakan fase diam silika GF 254 dengan eluen campuran metanol:kloroform berbagai perbandingan. Identifikasi bercak dilakukan dengan pereaksi FeCl_3 10% untuk fenolik dan AlCl_3 5% untuk flavonoid, diamati di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Hasil menunjukkan seluruh variasi eluen positif mengandung senyawa fenolik dengan warna noda biru kehitaman dan nilai R_f berkisar 0,12–0,93. Untuk senyawa flavonoid, warna merah pekat muncul pada sebagian besar eluen dengan nilai R_f 0,12–0,96. Hasil ini membuktikan kulit jeruk sambal mengandung senyawa fenolik dan flavonoid.

Kata kunci: *Citrus amblycarpa*, flavonoid, KLT, kulit jeruk sambal, senyawa fenolik

ABSTRACT

Sambal orange peel (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Ochse) is known to contain bioactive compounds such as phenolics and flavonoids that have potential as antioxidants. This study aims to determine the thin layer chromatography (TLC) profile of the methanol fraction of chili orange peel and calculate the R_f value of phenolic and flavonoid compounds. The research method includes making simplisia, maceration extraction, methanol fractionation, and KLT test using silica stationary phase GF 254 with eluent mixture of methanol: chloroform various comparisons. Spot identification was carried out with FeCl₃ 10% reagent for phenolics and AlCl₃ 5% for flavonoids, observed under UV light 254 nm and 366 nm. The results showed that all eluent variations were positive for phenolic compounds with blue-black stain color and R_f values ranging from 0.12-0.93. For flavonoid compounds, intense red color appeared on most eluents with R_f values of 0.12-0.96. These results prove that chili orange peel contains phenolic and flavonoid compounds.

Keywords: *Citrus amblycarpa*, flavonoids, TLC, chili orange peel, phenolic compounds.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara yang mempunyai keanekaragaman hayati yang sangat tinggi. Menurut laporan, terdapat sekitar 38.000 jenis tanaman, dan 55% diantaranya merupakan tanaman endemik Indonesia. Masyarakat Indonesia sudah lama memanfaatkan tumbuhan sebagai obat tradisional karena mudah didapat dan dapat dibudidayakan. Salah satu tanaman yang digunakan adalah jeruk sambal. Jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche) merupakan tumbuhan dari famili Rutaceae dan genus Citrus yang merupakan tanaman asli Indonesia. Sejak dahulu kala, masyarakat di berbagai belahan dunia telah memanfaatkan tanaman dari genus Jeruk untuk mengobati berbagai penyakit. Tanaman dari genus Jeruk menunjukkan aktivitas antioksidan, hepatoprotektif, kardiovaskular, antibakteri, antiinflamasi, antitumor, dan antivirus menurut berbagai penelitian (Putra et al., 2018).

Jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*), merupakan salah satu tanaman unggulan di Kalimantan Barat, dengan jumlah yang melimpah di kalangan masyarakat. Berdasarkan informasi dari Kementerian Pertanian, produksi jeruk di Indonesia antara tahun 1980 hingga 2015 menunjukkan kenaikan signifikan, dengan rata-rata peningkatan 9,94% per tahun. Hal ini terlihat pada produksi jeruk yang tercatat 311.014 ton pada tahun 1980, dan meningkat menjadi 1,86 juta ton pada tahun 2015 (Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, 2015). Menurut data Dinas Pertanian tahun 2018 tentang tanaman biofarmaka, meskipun Kalimantan Barat merupakan pusat produksi jeruk, tanaman ini belum dimanfaatkan sebagai bahan biofarmaka dan masih digunakan untuk konsumsi sehari-hari. Jeruk mengandung metabolit

sekunder yang memiliki potensi untuk mengobati berbagai jenis penyakit. (Fahrurrozi & Riza, 2020).

Kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche) diketahui mengandung berbagai senyawa penting seperti vitamin C, vitamin A, flavonoid, minyak esensial, kumarin, dan turunan asam rosmarinik. Kandungan senyawa alami seperti vitamin A, vitamin C, dan flavonoid diduga memberikan aktivitas antioksidan pada kulit jeruk sambal (Pedana et al., n.d.). Penelitian oleh Wulandari et al. (2013) menunjukkan bahwa ekstrak kulit jeruk sambal yang diperoleh menggunakan pelarut etil asetat dan metanol mengandung senyawa fenolik, polifenol, dan alkaloid. Aktivitas antioksidan kulit jeruk sambal cukup tinggi, dengan aktivitas antioksidan yang lebih kuat ditemukan pada ekstrak metanol. Hal ini disebabkan oleh tingginya kandungan flavonoid dan polifenol pada ekstrak tersebut. Penelitian lain (Fahrurroji & Riza, 2020) juga mendukung hal ini, menunjukkan bahwa keberadaan senyawa fenolik ditandai dengan warna biru kehitaman, sementara senyawa flavonoid menghasilkan warna merah pekat pada uji KLT.

Penelitian sebelumnya telah menetapkan kadar flavonoid total dalam ekstrak metanol kulit buah jeruk sambal, dengan hasil sebesar 0,3324 mg/g. (Pedana et al., 2016) juga telah melakukan karakterisasi minyak kulit buah jeruk sambal menggunakan metode KLT dengan fase gerak n-heksan:etil asetat (9:1), yang menunjukkan hasil positif mengandung senyawa flavonoid dengan nilai RF sebesar 0,94. Selanjutnya, skrining senyawa fenolik dan flavonoid pada sampel kulit, buah, dan biji jeruk sambal menggunakan metode KLT dengan fase gerak etil asetat:toluena:asam formiat:air (6 : 3 : 1,5 : 0,5) untuk fenolik, serta asam asetat

glasial:asam formiat:air:etil asetat (11 : 11 : 27 : 100) untuk flavonoid, juga menunjukkan hasil positif (Fahrurrozi & Riza, 2020) Berdasarkan penelusuran literatur, hingga saat ini belum ada penelitian yang menggunakan metode KLT secara spesifik untuk menentukan fase gerak atau eluen yang akan digunakan pada teknik pemisahan senyawa fenolik dan flavonoid pada sampel kulit buah jeruk sambal.

Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder, terutama senyawa fenolik dan flavonoid, yang memiliki potensi sebagai antioksidan (usman & muin,2023) Metode KLT memiliki keunggulan dalam memisahkan campuran analit melalui proses elusi menggunakan lempeng kromatografi, dengan teknik identifikasi komponen berdasarkan reaksi warna fluoresensi dan radiasi sinar *ultraviolet* (Ellyn Dasrinal, 2022). Selain itu, metode KLT dapat digunakan sebagai data awal untuk menentukan kondisi optimal pada kromatografi kolom serta mengevaluasi efektivitas proses pemurnian senyawa (Yuspita Sari et al., 2018).

Dalam penelitian ini, akan dilakukan uji kualitatif dan penghitungan nilai R_f senyawa fenolik dan flavonoid dari fraksi metanol kulit buah jeruk sambal menggunakan metode KLT. Fase diam yang digunakan adalah Silica GF 254, dengan penampak bercak FeCl_3 10% untuk senyawa fenolik dan AlCl_3 5% untuk senyawa flavonoid (Ramadhan et al., 2021) .

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 Dwiyantoro et al., 2018) pada sinar UV 254 dan 366nm dengan nilai R_f 0,76 (asam galat sebagai senyawa fenolik) (Suputri et al., 2021). Sementara itu senyawa flavonoid akan menghasilkan warna kuning, biru,

atau hijau yang berfluoresensi pada sinar UV dengan Panjang gelombang 366nm setelah disemprotkan FeCl_3 10% (Fahrurroji & Riza, 2020), (Usman & Muin, 2023) dengan nilai R_f 0,2 - 0,75 (Nitami et al., 2020).

Metanol dan kloroform adalah dua pelarut yang sering digunakan dalam Kromatografi Lapis Tipis (KLT) karena sifat kepolarannya yang berbeda, memungkinkan pemisahan senyawa berdasarkan polaritasnya. Metanol, sebagai pelarut polar, efektif dalam melarutkan senyawa-senyawa polar seperti alkaloid dan flavonoid. Penggunaannya dalam KLT bertujuan untuk meningkatkan mobilitas senyawa polar pada fase diam dan menyesuaikan kepolaran eluen. Namun, penggunaan metanol secara tunggal dapat menyebabkan efek *streaking* pada plat KLT, sehingga sering dikombinasikan dengan pelarut lain untuk mencapai pemisahan yang optimal. Sebagai contoh, penelitian oleh (Ningrum et al., 2017) menggunakan eluen campuran kloroform dan metanol dengan perbandingan 9:1 untuk pemisahan senyawa pada KLT.

Di sisi lain, kloroform adalah pelarut non-polar hingga semi-polar yang cocok untuk melarutkan senyawa non-polar seperti terpenoid dan lipid. Dalam KLT, kloroform digunakan untuk memisahkan senyawa non-polar dan sering berperan sebagai pelarut utama dalam eluen. Namun, karena sifatnya yang kurang polar, kloroform sering dicampur dengan pelarut lain untuk meningkatkan efektivitas pemisahan. Misalnya, penelitian oleh (Sumardi et al., 2023) menggunakan eluen campuran kloroform dan metanol dengan perbandingan 2:1 untuk analisis senyawa pada ekstrak kulit batang nyirih.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana profil kromatografi lapis tipis pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) (Ochse)?
2. Berapa nilai Rf senyawa fenolik dan flavonoid pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) (Ochse)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui profil kromatografi lapis tipis pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) (Ochse)
2. Untuk mengetahui nilai Rf pada fenolik dan flavonoid pada fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) (Ochse)

1.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti
Menambah pengetahuan peneliti tentang profil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) (Ochse)
2. Bagi Penelitian
Penulis berharap penelitian ini dapat di kembangkan pemanfaatannya, terkhusus nya 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 amblycarpa* (Hassk.) (Ochse)

Jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*) 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. Buah dari jeruk sambal berwarna kuning bila matang, bentuknya hampir bulat, diameter 2-3,5 cm, bersel 6-7, dan berkulit tipis (Nurul Yanti & Evelyn Chandra, 2021).

2.1.1. Klasifikasi

Klasifikasi jeruk limau (*Citrus Amblycarpa* Hassk. Ochse) adalah sebagai berikut (Khoirunnisaa, 2022) :

Kingdom	: <i>plantae</i>
Divisi	: <i>magnoliophyta (spermatophyta)</i>
Sub divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Magnoliatae (dicotyledoneae)</i>
Bangsa	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus L.</i>

Spesies : *Citrus amblycarpa* Hassk. Ochse (LIPI,2021)

Nama umum : jeruk limau, jeruk sambal.



Gambar 1. Tanaman Jeruk Sambal

(Dokumentasi Pribadi)

2.1.2. Kandungan kimia kulit jeruk sambal

Kulit buah jeruk sambal mengandung minyak atsiri yang didominasi oleh senyawa dari golongan terpenoid, meliputi monoterpen seperti limonen, β -mirsen, β -pinen, α -pinen, β -felandren, dan sabinen, serta seskuiterpen seperti elemen, farnesen, dan isomer gernasren. Kandungan limonen di dalamnya sangat tinggi, mencapai lebih dari 94%. (Kusumaningrum Afria, 2015) Selain itu, kulit, biji, dan air perasan jeruk sambal mengandung senyawa flavonoid, saponin, alkaloid, dan fenolik (Fahrurozi & Riza, 2020).

2.1.3. Manfaat jeruk sambal

Salah satu tanaman yang diyakini memiliki khasiat obat adalah kulit buah jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*). Tanaman ini berpotensi menghasilkan minyak atsiri, dengan kandungan senyawa sabinen dan limonen yang bermanfaat untuk produk kosmetik, aromaterapi, sampo, serta pengobatan sakit kepala dan nyeri lambung. Selain itu, daunnya sering dimanfaatkan sebagai bumbu untuk memberikan aroma khas pada masakan (Pedana et al., 2016).

2.2. Simplisia

2.2.1. Definisi simplisia

Simplisia merupakan bahan alami yang belum mengalami proses pengolahan dan digunakan untuk terapi. Ini adalah bahan alami yang berfungsi sebagai obat, tetapi hanya melalui proses pengeringan tanpa pengolahan lebih lanjut. 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

Pembuatan serbuk simplisia kering adalah tahap awal dalam proses ekstraksi (penyerbukan). Dengan menggunakan peralatan khusus untuk perekatan dan simplisia, serbuk simplisia dihasilkan dan dimurnikan hingga mencapai kualitas tertentu. Keberhasilan dan efisiensi proses ekstraksi dipengaruhi oleh berbagai faktor, salah satunya adalah tingkat kehalusan serbuk simplisia (A. D. Ridwan, 2023). langkah-langkah berikut yang sering dilakukan dalam pengelolaan simplisia sebagai bahan baku :

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

Sortasi basah adalah salah satu tahap pascapanen yang sangat krusial dalam menentukan kualitas simplisia, baik dari segi kemurnian maupun kandungan zat aktifnya. Proses ini dilakukan setelah panen dan sebelum pencucian, bertujuan untuk memisahkan bahan utama dari kotoran seperti tanah, gulma, atau bagian tanaman yang tidak diperlukan (Anugrahandy et al., 2013).

3. Pencucian

Pencucian simplisia merupakan tahap penting dalam pengolahan pasca panen tanaman obat. Tujuan utamanya adalah menghilangkan kotoran seperti tanah, kerikil, rumput liar, dan bahan asing lain yang menempel pada bahan tanaman. Proses ini juga membantu mengurangi kontaminasi mikroba, menjaga kemurnian bahan, dan memastikan kualitas simplisia tetap terjaga. Pencucian biasanya dilakukan dengan air bersih yang mengalir untuk memastikan semua kotoran terlepas dan tidak menempel kembali. Selain itu, pencucian yang tepat dapat mencegah hilangnya senyawa berkhasiat yang mungkin larut dalam air jika prosesnya terlalu lama (Widodo & Subositi, 2021).

4. Perajangan

Untuk melaksanakan prosedur pengeringan, pengemasan, dan penggilingan, beberapa jenis bahan simplisia membutuhkan proses perajangan. Penguapan air akan terjadi lebih cepat jika bahan yang dikeringkan dipotong lebih tipis, sehingga mempercepat waktu pengeringan. (depkes,2000).

5. Pengeringan

Untuk memungkinkan penyimpanan jangka panjang, penting untuk memperoleh simplisia yang tahan terhadap kerusakan. Penurunan kualitas atau kerusakan

simplisia dapat dicegah dengan mengurangi kadar air dan menghentikan proses enzimatik. Pada kadar air tertentu, air yang masih ada dalam simplisia dapat menjadi media bagi perkembangan jamur dan mikroba lainnya. Ketika kadar air turun di bawah 10%, proses pengeringan dapat menghentikan aktivitas enzimatik dalam sel. Faktor-faktor seperti suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan, dan luas permukaan material perlu diperhatikan. (depkes,2000).

6. Sortasi Kering

Proses ini bertujuan untuk memisahkan benda-benda asing, seperti bagian tanaman yang tidak diinginkan dan kontaminan lainnya yang masih tertinggal pada simplisia kering. Proses pemisahan ini dilakukan secara manual.(Wahyuni & Rivai, 2014) .

7. Penyimpanan

Selama penyimpanan, simplisia dapat mengalami kerusakan. Oleh karena itu, penting untuk memilih wadah yang tidak beracun dan tidak bereaksi dengan isinya, sehingga tidak menyebabkan perubahan warna, bau, rasa, atau reaksi lainnya pada simplisia. Untuk simplisia yang tidak tahan panas, diperlukan wadah yang melindunginya dari paparan cahaya, seperti aluminium foil, plastik, botol berwarna gelap, kaleng, dan sebagainya. Penyimpanan simplisia kering umumnya dilakukan pada suhu kamar (15°C hingga 30°C).(Wahyuni & Rivai, 2014).

2.3. Ekstrak

2.3.1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah pemisahan zat target dan zat yang tidak berguna dimana teknik pemisahan berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut antara dua pelarut

atau lebih yang saling bercampur. pada umumnya zat terlarut yang diekstrak bersifat tidak larut atau sedikit larut dalam suatu pelarut tetapi mudah larut dengan pelarut lain.

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. Maserasi adalah contoh proses ekstraksi dingin. Berikut penjelasan singkat mengenai metode ekstraksi dingin (Sudarwati & Fernanda, 2019).

1). Cara Dingin

a. 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. Namun, teknik maserasi dapat mencegah oksidasi bahan kimia yang tidak tahan panas (A. D. Ridwan, 2023). berikut cara perhitungan rendemen ekstrak :

$$\% \text{ rendemen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat simplisia kering}} \times 100 \%$$

2.4. 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, kromatografi cair vakum (KCV), kromatografi kolom (KK), *Size-Exclusion Chromatography* (SEC), dan *Solid-Phase Extraction* (SPE) (Sari et al., 2018).

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. (Sudarwati Lestari & Ferry Fernanda, 2019).

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 .

2.4.1. 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 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.

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*. (Ellyn Dasrinal, 2022).

2.4.2. Nilai R_f

Nilai R_f (Retention Factor) adalah perbandingan antara jarak yang ditempuh oleh senyawa dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut pada permukaan fase diam

dalam kromatografi. Nilai Rf berkisar antara 0 hingga 1, di mana nilai 0 berarti senyawa tidak bergerak sama sekali dari titik awal, sedangkan nilai 1 berarti senyawa bergerak sejauh pelarut. Besarnya nilai Rf dipengaruhi oleh jenis pelarut (eluen) yang digunakan serta sifat senyawa yang sedang dipisahkan. Pemisahan senyawa terjadi karena adanya perbedaan afinitas atau kecenderungan senyawa untuk berada di fase diam atau fase gerak. Nilai Rf ini juga bisa digunakan sebagai acuan untuk mengidentifikasi senyawa—jika dua senyawa memiliki nilai Rf yang sama dalam kondisi yang sama, maka kemungkinan besar mereka memiliki sifat atau karakteristik yang serupa. Secara umum, nilai Rf yang baik berada di kisaran 0,2 hingga 0,8 (Darmawansyah et al., 2023)

Tabel 1. Nilai Rf Standar

No	Nilai Rf	Nilai Standar	Sumber
1.	Flavonoid	0,2-0,75	(Rahayu et al,2015)
2.	Fenolik	0,75	(Suputri et al., 2021)

2.6. Uraian Bahan

1. Methanol

Metanol (CH_3OH), yang juga dikenal sebagai metil alkohol, karbinol, alkohol kayu, atau spiritus kayu (CASR 67-56-1), adalah senyawa kimia berbentuk cairan bening dan tidak berwarna dengan aroma khas. Secara fisik, metanol memiliki titik leleh $-97,6^\circ\text{C}$, titik didih $64,7^\circ\text{C}$, berat jenis 0,7915, dan titik nyala 12°C . Senyawa ini mudah terbakar dan mudah menguap (volatile). Secara kimiawi, metanol dapat dengan cepat menyerap air dari udara serta bercampur dengan sebagian besar cairan organik. Dengan indeks polaritas 5,1 (Rizalina et al., 2018). Metanol dikenal sebagai pelarut universal yang mampu melarutkan senyawa polar

maupun non-polar. Pelarut ini efektif dalam mengekstraksi berbagai senyawa metabolit sekunder dari tumbuhan, seperti flavonoid, saponin, tanin, dan terpenoid. Dalam penelitian ini, metanol digunakan sebagai pelarut ekstraksi karena kemampuannya untuk menarik senyawa-senyawa kimia dari jeruk sambal (Adisti et al., 2023).

2. Kloroform

Senyawa kloroform, yang juga dikenal sebagai triklorometan atau metil triklorometan, memiliki rumus kimia CHCl_3 . Dalam kondisi tekanan dan suhu normal, kloroform berupa cairan bening dengan bau khas (Sandy, 2021). Senyawa ini memiliki karakteristik fisik berupa titik didih $61,2^\circ\text{C}$ dan titik leleh $-63,5^\circ\text{C}$. Kloroform hanya sedikit larut dalam air, tetapi mudah larut dalam etanol, eter, serta pelarut organik lainnya. Kloroform sering digunakan sebagai pelarut dalam melarutkan senyawa organik atau untuk proses ekstraksi karena sifatnya yang inert, kemampuannya melarutkan senyawa organik dengan baik, serta titik didihnya yang rendah sehingga mempermudah proses pemisahan kembali (Novita & Aritonang, 2017).

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian berikut adalah bejana maserasi, batang pengaduk, chamber, corong gelas (Herma), corong pisah (Iwaki), Erlenmeyer (Iwaki), lampu UV penampak bercak 254nm dan 366nm, neraca analitik (New tech), oven (Gemmyco), pengangas air, penggaris(Joyko), pipa kapiler, pipet tetes, pisau, plat silika G₆₀ F₂₅₄, *rotary evaporator* (Lab tech), seperangkat alat gelas, timbangan (New tech).

3.2 Bahan penelitian.

Sampel fraksi methanol kulit buah jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche), methanol, kloroform, FeCl₃ 10%, AlCl₃ 5%.

3.3 Tempat dan waktu 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 tanaman

Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Tanjungpura (UNTAN) Pontianak.

3.4.2 Pengumpulan sampel

Sampel berupa jeruk sambal yang masih segar diambil di Kecamatan Sungai Kakap, Kabupaten Kubu Raya.

3.4.3 Pengolahan Simplisia

Sampel segar yaitu buah jeruk sambal (*Citrus amblycarpa*) sebanyak 24 Kg. Buah jeruk sambal yang telah dikumpulkan kemudian disortasi basah untuk menghilangkan pengotor yang ada. Selanjutnya proses pencucian yang dimana menggunakan air bersih mengalir bertujuan untuk menghilangkan pengotor yang masih menempel. Selanjutnya buah jeruk sambal dipisahkan dari kulitnya menggunakan pisau kemudian dipotong-potong untuk mempermudah proses pengeringan dan penghalusan. Kulit buah yang telah dipotong-potong dikeringkan selama beberapa hari dengan sinar matahari. Setelah kering dilakukan sortasi kering dengan tujuan menghilangkan pengotor jika masih ada yang tertinggal. Kemudian, kulit buah dihaluskan dengan menggunakan blender hingga menjadi serbuk halus. Serbuk halus ditimbang dan disimpan dalam wadah yang tertutup yang terhindar dari cahaya matahari langsung (Sari et al., 2023).

3.4.4 Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 1 kg serbuk kulit jeruk ditimbang dan kemudian dimaserasi dengan metanol sebagai pelarut selama 3 hari berturut-turut. Setelah proses maserasi, campuran tersebut disaring. Filtrat dari hari pertama, kedua, dan ketiga kemudian digabungkan dan diuapkan menggunakan *rotary evaporator* untuk mendapatkan ekstrak kasar yang pekat. (Wulandari et al., 2013).

Hasil ekstrak etanol yang sudah pekat kemudian di fraksinasi menggunakan methanol dan n-heksan (dengan perbandingan 1:1). Kemudian fraksi methanol yang diperoleh di evaporasi menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh fraksi methanol yang pekat. Pemilihan 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 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 60 F₂₅₄. Selanjutnya pengamatan bercak dilakukan menggunakan penampak bercak FeCl₃ (senyawa fenolik) dan AlCl₃ (senyawa flavonoid). Pengamatan bercak dilakukan pada Panjang gelombang 254 dan 366 mm (Fahrurroji & Riza, 2020).

Berikut tabel pembuatan elluen yang akan dibuat dalam 10 ml untuk setiap perbandingan yang akan digunakan dalam penelitian.

Tabel 2. Elluen yang akan diuji (%v/v) dibuat dalam 10 ml

No.	Perbandingan Elluen %(v/v)	
	Metanol (%)	Kloroform (%)
1.	0	100
2.	10	90
3.	20	80
4.	30	70
5.	40	60
6.	50	50
7.	60	40
8.	70	30
9.	80	20
10	90	10
11.	100	0

3.5.1. Penjenuhan Chamber

Cairan pengelusi (eluen) yang digunakan adalah methanol : kloroform dengan perbandingan 1-11 perbandingan pada tabel 2. 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 6,5cm) kemudian diaktifkan didalam oven pada suhu 100°C selama 15 menit (D. A. Ridwan, 2023) Larutan sampel fraksi methanol kulit buah jeruk sambal ditotolkan pada plat menggunakan pipa kapiler. Plat KLT kemudian dimasukan kedalam chamber yang telah dijenuhkan dan berisi eluen (yang sesuai dengan tabel 1) hingga selesai proses eluidasi. Kemudian plat diangkat dan dikeringkan. Setelah itu plat disemprotkan masing masing FeCl₃ 10% dan AlCl 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 254 dan 366 mm. selanjutnya dilakukan perhitungan nilai R_f dengan rumus :

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

BAB V

PENUTUP

5.1. Kesimpulan

1. Berdasarkan hasil uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT), fraksi metanol kulit jeruk sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Ochse) menunjukkan profil kromatogram yang positif terhadap senyawa fenolik dan flavonoid. Hal ini ditunjukkan oleh perubahan warna noda pada plat KLT setelah disemprot pereaksi spesifik, yaitu warna biru kehitaman dengan FeCl_3 untuk fenolik dan warna merah pekat dengan AlCl_3 untuk flavonoid.
2. Nilai R_f senyawa fenolik bervariasi pada kisaran 0,12–0,93, dengan nilai R_f terendah pada eluen kloroform murni (0:100) dan tertinggi pada rasio metanol:kloroform 30:70. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fenolik cenderung polar sehingga lebih terlarut pada fase gerak polar (metanol) dan bergerak lebih jauh. Sedangkan nilai R_f senyawa flavonoid berkisar antara 0,12–0,96. Nilai R_f terendah juga muncul pada eluen kloroform murni, sedangkan tertinggi pada rasio metanol:kloroform 20:80 dan 40:60.

5.2. Saran

Penelitian selanjutnya disarankan untuk melakukan identifikasi lebih lanjut menggunakan metode kromatografi lanjutan seperti Kromatografi Gas (GC) atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (HPLC) untuk memisahkan dan memurnikan senyawa fenolik dan flavonoid secara lebih detail.

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>
- Anugrahandy, A., Argo, dwi bambang, Susilo, & bambang. (2013). *PerancanganAlat Sortasi Otomatis Buah Apel Manalagi (Malus Sylvestris Milll) Menggunakan Mikrokontroler AVR ATmega 16*.
- 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), 138–147.
- Darmawansyah, A., Nurlansi, & Haerudin. (2023). S A I N S 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](http://Sains.Uho.Ac.Id/Index.Php/Journal)
- Ellyn Dasrinal. (2022). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Daun Sungkai (*Peronema canescens jack*) Dan Uji Aktivitas Imunomodulator.
- Fahrurozi, A., & Riza, hafrizal. (2020). karakterisasi ekstrak etanol buah Citrus amblycarpa(L), Citrus Aurantifolia(S), dan Citrus sinesis (O). *Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Vol 7*.
- Harborne, J. B. (2006). Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Cetakan ke-4).Bandung: Penerbit ITB.
- Kusumaningrum afria. (2015). Aktivitas Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa*) Sebagai Repelan Terhadap Nyamuk *Aedes Aegypti* L.
- 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*, 24. <https://doi.org/10.24843/jchem.2020.v14.i01.p05>
- Maulana, A. F. (2024). Karya Tulis Ilmiah Uji Nilai Kelembaban Formula Facial Cleansing Oil Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Jeruk Sambal (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche) .
- Mukhriani, Sugiarna, R., Farhan, N., Rusdi, M., & Ikhlas Arsul, M. (2019). Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Anggur (Vitis vinifera

- L) Total Phenolic and Flavonoid Content of Grapevine (*Vitis vinifera* L) Leaves Ethanol Extract. In *J.Pharm.Sci* (Vol. 2, Issue 2).
- National Center for Biotechnology Information. (2021). *Ferric Chloride*.
- National Center for Biotechnology Information. (2025, February 24). *Aluminium Chloride*. PubChem Compound Summary for CID 24012.
- Ningrum, D. W., Kusriani, D., & Fachriyah, E. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun Johar (*Senna siamea* Lamk). *Jurnal Kimia Sains Dan Aplikasi*, 20(3), 123–129.
- 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.)*.
- Novita, L., & Aritonang, B. (2017). Penetapan Kadar Kafein Pada Minuman Berenergi Sediaan Sachet Yang Beredar Di Sekitar Pasar Petisah Medan. In *Jurnal Kimia Saintek dan Pendidikan: Vol. I* (Issue 1).
- Nurul Yanti, S., & Evelyn Chandra, V. (2021). JOURNAL OF PHARMACEUTICAL AND SCIENCES (JPS) Study of Secondary Metabolites in Jeruk Sambal Juice (*Citrus microcarpa* Bunge) From Desa Kalimas, Kalimantan Barat Kajian Metabolit Sekunder dalam Air Perasan Jeruk Sambal (*Citrus microcarpa* Bunge) yang Berasal dari Desa Kalimas, Kalimantan Barat. *Journal of Pharmaceutical and Sciences*. <https://www.journal-jps.com>
- Pedana, F., Fadhlillah, M., & Lestari, W. (2016). Antioxidant Activities Three Orange Oil (*Citrus Amblycarpa*) Area In The West Java Using The Carotenoid Bleaching Method.
- 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. K., Susanto, L., Oktavy, D., Iswardjono, A., Rahayu, A., & Setyaningrum, L. (2024). Pengaruh Pelarut Metanol dan Etanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Kulit Pohon Waru (*Hibiscus tiliaceus* L.). In *Jurnal Ilmu Kefarmasian* (Vol. 5, Issue 2).
- Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021a). Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi

- (*Mangifera casturi* Kosterman). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), 58.
- Ramadhan, H., Rezky, D. P., & Susiani, E. F. (2021b). 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 Dwiyanoro, 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, D. (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>
- Sandy, R. A. (2021). Preparasi Elektrokimia Garam NaCl Sebagai Bahan Dasar Sintesis Kloroform.
- Sapitri, A., Asfianti, V., Diansari Marbun, E., Farmasi dan Ilmu Kesehatan, F., & Sari Mutiara Indonesia, U. (2022). Pengelolaan Tanaman Herbal Menjadi Simplisia Sebagai Obat Tradisional. In *Jurnal Abdimas Mutiara* (Vol. 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>
- Sudarwati Lestari, T. P., & Ferry Fernanda, M. A. H. (2019). Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (*Carica papaya*) Sebagai Biolarvasida Terhadap Larva *Aedes aegypti* (N. R. Hariyati, Ed.). graniti. www.penerbitgraniti.com
- Sumardi, S., Zebua, N. F., Mierza, V., Arafah, R. M., Qhairunnisa, Q., & Amalia, R. (2023). Profil Noda Ekstrak Kloroform : Metanol (2:1) dan Aktivitas Bslt Kulit Batang Nyirih (*Xylocarpus Granatum*). *Journal of Pharmaceutical and Health Research*, 4(2), 326–332. <https://doi.org/10.47065/jharma.v4i2.3678>
- 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).

- 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 Herbal Technology*, 1(1).
- Veronika, C. C., Siregar, E. G. A., Tama, G. C., Manik, I. W., Izwani, P. K., & Jahro, I. S. (2025). Analisis kelarutan senyawa kovalen polar dan non polar menggunakan air beras, minyak dan kertas litmus sebagai indikator. *HEMAT: Journal of Humanities Education Management Accounting and Transportation*, 2(1), 12–22.
- 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).
- Widodo, Harto, & Subositi, D. (2021). *Penanganan Dan Penerapan Teknologi Pascapanen Tanaman Obat*.
- 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 Isolation From Brazilwood (*Caesalpinia Sappan L.*) And Its Formulation For Lipstick.