



**PENGARUH PELARUT ETANOL, ETIL ASETAT, DAN N-HEKSAN
TERHADAP KADAR FLAVONOID EKSTRAK KULIT JERUK
LIMAU (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle)**

SKRIPSI

**Oleh:
Niken Kanti Putri Nastiti
NIM. 201704006**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKes MITRA KELUARGA
BEKASI
2021**



**PENGARUH PELARUT ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSAN
TERHADAP KADAR FLAVONOID EKSTRAK KULIT JERUK
LIMAU (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle)**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana
Farmasi (S.Farm)**

Oleh:

**Niken Kanti Putri Nastiti
NIM. 201704006**

**PROGRAM STUDI S1 FARMASI
STIKes MITRA KELUARGA
BEKASI
2021**

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi dengan judul “ **PENGARUH PELARUT ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSAN TERHADAP KADAR FLAVONOID EKSTRAK KULIT JERUK LIMAU (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle)** “ adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar. Tidak terdapat karya yang pernah diajukan atau ditulis oleh orang lain kecuali yang saya kutip dan rujuk yang saya sebutkan dalam daftar pustaka.

Nama : Niken Kanti Putri Nastiti

NIM : 201704006

Tempat : Bekasi

Tanggal : 30 Mei 2021

Tanda tangan :



HALAMAN PERSETUJUAN

Skripsi dengan judul “**PENGARUH PELARUT ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSAN TERHADAP KADAR FLAVONOID EKSTRAK KULIT JERUK LIMAU (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle)**” yang disusun oleh Niken Kanti Putri Nastiti (NIM.201704006), telah diujikan dan dinyatakan **LULUS** dalam Ujian Sidang dihadapan Tim Penguji.

Pembimbing



(Intan Kurnia Putri, S.Si., M.Sc.)

NIDN. 0604119201

Mengetahui,

Koordinator Program Studi S1 Farmasi
STIKes Mitra Keluarga



(apt. Melania Perwitasari, M.Sc.)

NIDN. 0314058702

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi dengan judul “**PENGARUH PELARUT ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSAN TERHADAP KADAR FLAVONOID EKSTRAK KULIT JERUK LIMAU (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle)** “ Telah berhasil dipertahankan dihadapan Tim Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Mitra Keluarga pada tanggal, 22 Juni 2021.

Ketua Penguji



(Reza Anindita, S.Si., M.Si)
NIDN. 0311078501

Penguji I



(apt. Melania Perwitasari, M.Sc.)
NIDN. 0314058702

Penguji II



(Intan Kurnia Putri, S.Si., M.Sc.)
NIDN. 0604119201

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT karena hanya dengan limpahan rahmat serta karunia-Nya penulis mampu menyelesaikan Skripsi yang berjudul “**PENGARUH PELARUT ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSAN TERHADAP KADAR FLAVONOID EKSTRAK KULIT JERUK LIMAU (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle)**” dengan baik. Dengan terselesaikannya Skripsi ini, penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Ibu Dr. Susi Hartati, S.Kp., M. Kep., Sp. Kep. An selaku Ketua STIKes Mitra Keluarga
2. Ibu apt. Melania Perwitasari, M.Sc. selaku koordinator program studi S1 Farmasi STIKes Mitra Keluarga
3. Ibu apt. Dede Dwi Nathalia, M.Farm selaku dosen pembimbing akademik, atas bimbingan dan pengarahan yang diberikan selama ini.
4. Ibu Intan Kurnia Putri, S.Si, M.Si selaku dosen pembimbing atas bimbingan dan pengarahan yang telah diberikan selama penelitian dan penyusunan tugas akhir.
5. Bapak Reza Anindita, S.Si, M.Si selaku dosen penguji I yang telah memberikan masukan dan arahan selama ujian skripsi.
6. Ibu apt. Melania Perwitasari, M.Sc. selaku dosen penguji II yang telah memberikan masukan dan arahan selama ujian skripsi.
7. Ibu serta saudara yang senantiasa memberikan bimbingan dan doa dalam menyelesaikan Skripsi ini
8. Teman-teman angkatan 2017 dan semua pihak yang telah membantu terselesaikannya Skripsi ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.
9. Pihak-pihak yang terkait dengan penelitian, yang bersedia dan telah mengizinkan saya melakukan penelitian untuk Skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa penulisan Tugas Akhir ini jauh dari sempurna, oleh karena itu, penulis membuka diri untuk kritik dan saran yang bersifat membangun. Semoga tugas akhir ini bisa bermanfaat bagi semua.

PENGARUH PELARUT ETANOL, ETIL ASETAT DAN N-HEKSAN TERHADAP KADAR FLAVONOID EKSTRAK KULIT JERUK LIMAU (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle)

Oleh :
Niken Kanti Putri Nastiti
NIM.201704006

ABSTRAK

Tanaman jeruk Limau merupakan salah satu tanaman endemik Indonesia, yang sudah banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Diketahui bahwa kandungan metabolit sekunder yang dimiliki tanaman jeruk limau salah satunya adalah flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui adanya pengaruh pelarut etanol, etil asetat dan n-heksan terhadap kadar flavonoid pada ekstrak kulit jeruk limau (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle). Ekstraksi kulit jeruk limau (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle) menggunakan metode maserasi dengan variasi pelarut yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksan. Ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan kulit jeruk limau ditetapkan kadar flavonoid dengan menggunakan metode kolorimetri $AlCl_3$ dengan baku pembanding kuersetin pada panjang gelombang maksimum 430 nm dengan *operating time* 50 menit. Data dianalisis dengan uji *One Way ANOVA*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pengaruh pelarut etanol, etil asetat dan n-heksan mampu berpengaruh secara nyata terhadap rata-rata kadar flavonoid ($0.00 < 0.05$). Adapun rata-rata kadar flavonoid total pada ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksan kulit jeruk limau secara berturut-turut adalah 0.203% (b/b), 0.640% (b/b), dan 0.236% (b/b).

kata kunci: Citrus x aurantiifolia (Christm.) Swingle, Maserasi, Kadar Flavonoid

ABSTRACT

The Lime plant is one of Indonesia's endemic plants, which has been widely used as a medicinal plant. It is known that the content of secondary metabolites owned by lime plants of them is flavonoids. The purpose of this study was to determine the influence of solvents ethanol, ethyl acetate, and n-hexane on flavonoid levels in lime peel extract (*Citrus x aurantiifolia* (Swingle)). Extraction of lime peel (*Citrus x aurantiifolia* (Swingle))) using maceration method with variations of solvents namely ethanol, ethyl acetate, and n-hexane. Extracts of ethanol, ethyl acetate, and n-hexane lime peel are determined flavonoid levels by using $AlCl_3$ Colorimetric Method with quercetin as a comparators at a maximum wavelength of 430 nm with an operating time of 50 minutes. The data was analyzed with one way ANOVA test.the results of this study showed that the influence of solvents ethanol, ethyl acetate and n-hexane is able to have a real effect on the average flavonoid content ($0.00 < 0.05$). The average total flavonoid levels in ethanol extract, ethyl acetate and n-hexane lime peel in sequence were -0.203% (w/w), 0.640% (w/w), and -0.236% (w/w.)

Keywords: Citrus x aurantiifolia (Christm.) Swingle, *level of Flavonoids, maseration.*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPEL DEPAN (COVER)	1
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
HALAMAN PERSETUJUAN	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	4
C. Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian	4
E. Keaslian Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	10
A. Jeruk Limau.....	10
B. Flavonoid	12
C. Ekstraksi	14
D. Spektrofotometer UV-Vis	15
E. Pelarut	18
BAB III KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS	
PENELITIAN	22
A. Kerangka Teori.....	22
B. Kerangka Konsep	24
C. Hipotesis.....	25
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	26
A. Desain Penelitian.....	26
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	26
C. Populasi dan Sampel	27
D. Variabel Penelitian	27
E. Definisi Operasional.....	28
F. Alat dan Bahan	28
G. Alur penelitian.....	29
F. Pengolahan dan Analisa Data.....	34
BAB V HASIL	35
A. Uji Determinasi	35
B. Ekstraksi Kulit Jeruk Limau.....	35
C. Penetapan kadar Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk Limau.....	36

D. Uji Hipotesis dengan <i>One Way</i> ANOVA.....	38
BAB VI PEMBAHASAN.....	40
A. Ekstraksi Kulit Jeruk Limau.....	40
B. Penetapan Kadar Flavonoid menggunakan metode kolorimetri	42
C. Uji Hipotesis <i>One Way</i> Anova	47
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN	48
A. KESIMPULAN	49
B. SARAN	49
DAFTAR PUSTAKA	50

DAFTAR TABEL

Tabel 1. 1. Keaslian Penelitian.....	6
Tabel 4. 1. Definisi Operasional	28
Tabel 5.1. Bobot Sampel, % Kadar Air, Ekstrak Kental dan % Rendeman Ekstrak	36
Tabel 5. 2. Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n-Heksan Kulit Jeruk Limau.....	38
Tabel 5. 3. Hasil Uji Hipotesis One Way ANOVA	38
Tabel 5. 4. Hasil Uji Tukey HSD.....	39

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1. Struktur Flavonoid.....	12
Gambar 2. 2. Struktur Kuersetin	14
Gambar 2. 3. Struktur Etanol	19
Gambar 2. 4. Struktur Kimia Etil Asetat.....	19
Gambar 2. 5. Struktur Kimia n-Heksana.....	21
Gambar 3. 1. Kerangka Teori.....	22
Gambar 3. 2. Kerangka Konsep	24
Gambar 4. 1. Pengolahan dan Analisis Data.....	34
Gambar 5. 1. Panjang Gelombang Maksimum	36
Gambar 5. 2. Kurva Baku Kuersetin.....	37
Gambar 6. 1. Pembentukan senyawa kompleks kuersetin- AlCl_3	44

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan.....	55
Lampiran 2. Tabel dan kurva Operating Time.....	60
Lampiran 3. Tabel kurva baku kuersetin.....	61
Lampiran 4. Tabel Kadar Flavonoid pada Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n- Heksan Kulit Jeruk Limau	62
Lampiran 5. Tabel hasil uji Hipotesis	63
Lampiran 6. Hasil Uji Determinasi Tanaman Jeruk Limau	65
Lampiran 7. <i>Cerfiticate of Analysis Quercetin</i>	66
Lampiran 8. <i>Certificate of Analysis Potassium Acetate</i>	67
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian.....	68

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Stress oksidatif merupakan kondisi dimana antioksidan yang ada di dalam tubuh tidak mampu menetralkan peningkatan konsentrasi radikal bebas yang melebihi kondisi normal. Menurut hasil riset kesehatan dasar oleh Badan Litbangkes (RKD) tahun 2007, stres oksidatif menjadi penyebab kematian utama penyakit degeneratif antara lain stroke sebesar 15,4%, tuberkulosis, hipertensi sebesar 6,5-7,5%, diabetes mellitus dan tumor masing-masing sebesar 5,7%, sehingga dapat diketahui bahwa stres oksidatif berdampak pada terjadinya berbagai penyakit degeneratif (Werdhasari, 2014).

Salah satu senyawa yang dapat menangkal radikal bebas adalah antioksidan. Menurut Erguder *et al.*, 2007 sumber antioksidan yang terdapat pada makanan antara lain flavonoid, vitamin C, vitamin E, dan karoten. Namun, pemenuhan kebutuhan antioksidan tubuh seringkali diperoleh dengan mengonsumsi antioksidan sintetis, salah satu contohnya adalah 4-Hexylresorcinol. Salah satu penelitian mengungkapkan bahwa penggunaan antioksidan sintetis dapat memberikan dampak buruk bagi kesehatan (Da Silva, 2015).

Mengingat konsumsi antioksidan sintetis menimbulkan efek samping bagi tubuh, maka perlu dilakukan penemuan bahan herbal dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan. Salah satu senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan adalah flavonoid (Hakim,2020). Adapun konsumsi flavonoid yang diperlukan tubuh secara optimal sebesar 50mg/hari (Masruhen, 2010). Senyawa flavonoid tersebar pada semua bagian tumbuhan seperti akar, daun, bunga buah ataupun biji. Keberadaan senyawa flavonoid pada berbagai bagian tumbuhan dapat diekstraksi menggunakan pelarut yang sesuai. Adapun pelarut yang dapat digunakan untuk mengekstraksi flavonoid sesuai dengan tingkat polaritas yang berbeda adalah etanol, etil asetat, dan n-heksan (Fitriansyah, 2017).

Penelitian mengenai metode mendapatkan flavonoid menggunakan berbagai jenis pelarut ditunjukkan pada penelitian Puspitasari (2019) yang melaporkan bahwa penggunaan Etanol, Etil Asetat dan *n*-Heksan pada Daun Petai menghasilkan kadar flavonoid yang berbeda. Hasil kadar flavonoid ekstrak daun Petai menggunakan etil asetat sebesar 23,068 mg/gram, Etanol sebesar 13,705 mg/gram dan *n*-Heksan sebesar 5,209mg/gram. Hal ini membuktikan bahwa penggunaan etil asetat mampu menghasilkan kadar flavonoid paling tinggi.

Penelitian lain yang dilakukan Ngo *et al.*(2017) yang melaporkan penggunaan campuran 50% (v/v) air dengan aseton dan etanol pada akar *S.*

chinensis menghasilkan kadar flavonoid masing masing sebesar 100 dan 89 mg CE/g DW sedangkan penggunaan 50 % metanol menghasilkan kadar flavonoid sebesar 85mg CE/g DW. Adapun persentase kadar flavonoid pada ekstrak akar *S. chinensis* dengan pelarut lain seperti metanol absolut, etanol absolut, air masing masing dari tinggi ke rendah sebesar 50 %, 30 % dan 20 %. Hasil penelitian tersebut dapat diketahui bahwa pemberian variasi pelarut berpengaruh secara signifikan pada kadar flavonoid akar *S. chinensis*.

Selanjutnya dengan menggunakan simplisia lain berupa kulit jeruk Limau, Nasucha *et al.* (2019) membuktikan bahwa penggunaan pelarut akuades pada kulit jeruk Limau menghasilkan nilai IC50 sebesar 39,041 ppm dengan kategori sangat kuat. Putra (2018) ; Sidana *et al.* (2013) menambahkan dalam penelitiannya bahwa penggunaan Etanol 70% pada daun jeruk limau menunjukkan adanya kandungan flavonoid yang meliputi nobiletin, hesperidin, naringin dan hesperitin.

Berdasarkan penelitian Nasucha (2019), Putra (2018) dan Sidana *et al.* (2013) tidak dilakukan penetapan kadar flavonoid, sehingga peneliti tertarik untuk melakukan uji variasi pelarut terhadap kadar flavonoid kulit jeruk limau menggunakan metode maserasi. Adapun variasi pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah Etanol, Etil Asetat dan *n*-Heksan. Penetapan kadar flavonoid dilakukan dengan metode kolorimetri

menggunakan pereaksi diagnostik $AlCl_3$ dan instrumen Spektrofotometri UV-Vis.

B. Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh pelarut etanol, etil asetat dan N-heksan terhadap kadar flavonoid ekstrak kulit jeruk limau (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle).

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan rata-rata kadar flavonoid yang terkandung dalam ekstrak kulit Jeruk Limau (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle) antara pelarut Etanol 96%, Etil Asetat dan *n*-Heksan.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat Bagi Peneliti

Hasil penelitian ini dapat menambah wawasan dan pengalaman peneliti agar lebih terampil dalam menguji kadar flavonoid total yang terkandung didalam kulit jeruk limau.

2. Manfaat Bagi Institusi

Hasil penelitian ini dapat bermanfaat sebagai sumber data, informasi dan pengembangan ilmu pengetahuan mengenai pengaruh pelarut etanol, etil asetat dan *n*-heksan terhadap kadar flavonoid ekstrak kulit jeruk limau.

3. Manfaat Bagi Masyarakat

Hasil penelitian ini bermanfaat untuk memperluas pengetahuan mengenai pemanfaatan bahan alam sebagai antioksidan dengan menggunakan kulit jeruk limau yang telah diuji dilaboratorium.

E. Keaslian Penelitian

Tabel 1. 1. Keaslian Penelitian

No	Penelitian Sebelumnya			Desain	Hasil	Keterangan
	Nama	Tahun	Judul			
1	Anita Dwi puspitasari;Feristasari Fatmawati Anwar; Nouvia Gusty Auliyatul Faizah	2019	Aktivitas Antioksidan, Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Etanol, Etil Asetat, dan n-Heksan Daun Petai (<i>Parkia speciosa Hassk.</i>)	Eksperimental	Hasil penentuan kandungan flavonoid total dari berbagai ekstrak yaitu ekstrak etil asetat memiliki kandungan flavonoid total lebih besar dari pada ekstrak etanol 96 % dan ekstrak n- heksan. Kandungan flavonoid total pada ekstrak etil asetat paling besar menjelaskan bahwa karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak daun petai mempunyai kepolaran yang sama dengan etil asetat	Kandungan flavonoid total dari berbagai ekstrak, yang memiliki kandungan flavonoid total tertinggi ada pada ekstrak etil asetat, setelahnya pada ekstrak etanol 96%, dan terakhir pada ekstrak n-heksan. Hal ini diduga berkaitan dengan sifat etil asetat yang semi polar sehingga banyak komponen bioaktif yang larut didalamnya.

2	Bela Ghonim 2019 Nashucha; Rakhmadhan Niah; Lutfi Anggraini; Winola Exliscia	2019	Potensi Ekstrak kulit Limau Banjar (<i>Citrus reticulata</i>) Dengan metode DPPH Sebagai Antioksidan	Eksperimental	Ekstrak kulit limau banjar yang diekstraksi dengan pelarut aquadest memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan nilai nilai IC50 sebesar 39,041 ppm. Hal tersebut menunjukkan ekstrak aquadest kulit limau banjar memiliki aktivitas antioksidan yang sama-sama termasuk kategori sangat kuat	Berdasarkan hasil yang didapatkan pada jurnal penelitian tersebut, kulit jeruk limau mengandung antioksidan tinggi. Hal ini membuktikan bahwa kulit jeruk limau mengandung senyawa antioksidan seperti flavonoid.
3	G.M.D. Putra; D.A. Satriawati; N.K.W. Astuti, dan A.A.G.R. Yadnya-Putra	2018	Standarisasi dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun Jeruk Limau (<i>Citrus amblycarpa</i> (<i>Hassk.</i>) <i>Osche</i>)	Eksperimental	Skrining fitokimia membuktikan ekstrak etanol 70% daun C. amblycarpa mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tanin, glikosida serta minyak atsiri	Penelitian pada jurnal ini menyatakan bahwa ekstrak etanol 70% daun jeruk limau memiliki kandungan flavonoid didalamnya.

4	Thanh Van Ngo, Christopher James Scarlett, Michael Christian Bowyer, Phuong Duc Ngo, Quan Van Vuong	2017	Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of <i>Salacia chinensis</i> L	Eksperimental	Penggunaan campuran 50% (v/v) air dengan aseton dan etanol pada akar S. chinensis menghasilkan kadar flavonoid masing masing sebesar 100 dan 89 mg CE/g DW sedangkan penggunaan 50 % metanol menghasilkan kadar flavonoid sebesar 85mg CE/g DW. Adapun persentase kadar flavonoid pada ekstrak akar S. chinensis dengan pelarut lain seperti metanol absolut, etanol absolut, air masing masing dari tinggi ke rendah sebesar 50 %, 30 % dan 20 %.	Hasil penelitian tersebut dapat diketahui bahwa pemberian variasi pelarut berpengaruh secara signifikan pada kadar flavonoid akar S. chinensis
---	--	------	--	---------------	---	---

Pada jurnal penelitian Puspitasari (2019)) hasil yang didapatkan pada masing-masing penelitian mengenai pengaruh variasi pelarut terhadap kadar flavonoid total pada ekstrak daun petai (*Parkia speciosa Hassk.*) ekstrak dengan pelarut etil asetat yang memiliki kadar flavonoid tertinggi. Selanjutnya pada penelitian Ngo et al. (2017) diketahui penggunaan campuran 50% (v/v) air dengan aseton dan etanol pada akar *S. chinensis* menghasilkan kadar flavonoid masing masing sebesar 100 dan 89 mg CE/g DW sedangkan penggunaan 50 % metanol menghasilkan kadar flavonoid sebesar 85mg CE/g DW. Penelitian yang akan dilakukan oleh penulis menggunakan metode dan variasi pelarut yang sama pada penelitian Puspitasari(2019), hanya saja sampelnya berbeda. Sampel yang akan digunakan pada penelitian ini adalah jeruk limau dan diambil bagian kulitnya.

Pada jurnal penelitian Nashuca (2019) mengenai potensi ekstrak kulit limau sebagai antioksidan dengan metode DPPH menjelaskan bahwa menurut hasil penelitian yang didapat, antioksidan yang terkandung didalam kulit jeruk limau Banjar termasuk antioksidan tinggi. Salah satu senyawa antioksidan adalah flavonoid. Pada penelitian ini, penulis menerapkan metode ekstraksi yang sama, yaitu menggunakan maserasi dan untuk mendapatkan ekstrak kentalnya menggunakan *rotary evaporator* dan diuapkan hingga menjadi ekstrak kental dengan di uapkan diatas *waterbath*. .

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Jeruk Limau

1. Klasifikasi Tanaman

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Superdivisi	: <i>Spermatophyta</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Sub Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Kelas	: <i>Magnolipsida</i>
Bangsa	: <i>Sapindales</i>
Suku	: <i>Rutaceae</i>
Marga	: <i>Citrus</i>
Jenis	: <i>Citrus x aurantiifolia</i> (Christm.) Swingle

(Plantamor,2020)

2. Morfologi Tanaman

Jeruk limau banyak terdapat didaerah dataran rendah hingga daerah dengan ketinggian 300 mdpl. Tempat tumbuh tanaman jeruk limau ini adalah tempat yang banyak terkena sinar matahari, dan merupakan tanaman perdu yang rendah. Tanaman jeruk limau memiliki ketinggian 3-10 m, ranting berduri, duri pendek berbentuk paku, dengan panjang

tangkai daun 0,5 sampai 3,5cm dan helaian daun tanaman ini bulat telur, ellipitis atau memanjang, dengan ujung tumpul atau meruncing tumpul, kerap kali melekuk ke dalam, memiliki tepi yang beringgit melekuk ke dalam, dengan panjang 2-15cm. Buah bentuk bola atau bentuk bola bertekanan, diameter 4-7,5cm kuning kotor atau oranye hijau dengan kuning. Tebal kulit 0,3-0,5cm, daging buah berwarna kuning muda, dengan gelembung yang bersatu-satu dengan yang lain (Sarwono, 1993).

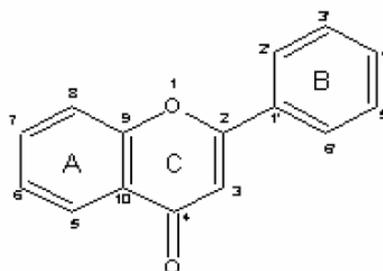
3. Kandungan kimia

Jeruk limau merupakan salah satu sumber vitamin C dan antioksidan yang berkhasiat bagi kesehatan manusia, selain itu ekstrak buah dan minyak atsiri yang terdapat pada kulitnya digunakan untuk bahan pemberi warna, pewangi, dan rasa pada makanan dan minuman. Kulit jeruk limau mengandung senyawa seperti limonena, terpinena, linalil asetat dimana senyawa ini digunakan sebagai bahan pewangi ataupun penyedap (Lota *et al.*, no date).

Kandungan senyawa lain yang menyebabkan rasa pahit yaitu flavonoid dengan komponen utamanya adalah naringin dan limonin (Setyabudi, 2011). Senyawa naringin hanya terdapat pada beberapa jenis jeruk, sedangkan limonin terdapat pada hampir semua jenis jeruk. Naringin merupakan senyawa turunan naringenin yang bersifat larut dalam air, dan terkandung didalam flavedo, albedo, dan membran segmen, dan *jus sacs* pada buah jeruk.

B. Flavonoid

Flavonoid merupakan sekelompok besar senyawa polifenol yang ada pada tanaman. Flavonoid tersebar luas dalam berbagai bahan makanan dan dalam berbagai konsentrasi. Kandungan senyawa flavonoid dalam tanaman sangat rendah, sekitar 0,25%. Komponen tersebut pada umumnya terdapat dalam keadaan terikat atau terkonjugasi dengan senyawa gula (Winarsi, 2007). Berikut merupakan struktur Flavonoid pada **Gambar 2.1**.



Gambar 2. 1. Struktur Flavonoid

(sumber: Google *Picture*)

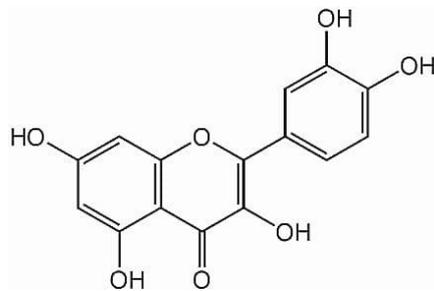
Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ yang artinya kerangka karbonnya terdiri dari dua gugus C₆ (cincin benzene tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik 3 karbon. Dalam tumbuhan flavonoid terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid yang mungkin terdapat dalam satu tumbuhan dalam bentuk kombinasi glikosida (Harborne, 1987). Aglikon flavonoid (yaitu flavonoid tanpa gula terikat) terdapat dalam berbagai bentuk struktur (Markham, 1988).

Flavonoid memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa ini berperan sebagai penangkap radikal bebas karena mengandung gugus hidroksil. Karena bersifat sebagai reduktor, flavonoid dapat bertindak sebagai donor hidrogen terhadap radikal bebas. Senyawa flavonoid seperti quersetin, morin, mirisetin, kaemferol, asam tanat, dan asam elagat merupakan antioksidan kuat yang dapat melindungi makanan dari kerusakan oksidatif (Silalahi, 2006).

Sebagai antioksidan, flavonoid dapat menghambat penggumpalan keping-keping sel darah, merangsang pembentukan nitrit oksida yang dapat melebarkan (relaksasi) pembuluh darah, dan juga menghambat sel kanker. Selain berfungsi sebagai antioksidan dan penangkap radikal bebas, flavonoid juga memiliki sifat sebagai hepatoprotektif, antitrombotik, antiinflamasi, dan antivirus (Winarsi, 2007). Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional.

Kuersetin adalah suatu senyawa flavonoid dalam sayuran atau buah-buahan yang juga berpotensi sebagai antioksidan. Potensi tersebut ditunjukkan oleh posisi gugus hidroksilnya yang mampu langsung menangkap radikal bebas. Kuersetin memiliki sifat antiradikal paling kuat terhadap radikal hidroksil, peroksil, dan anion superoksida (Winarsi, 2007). Kuersetin memiliki aktivitas antioksidan yang kuat karena memiliki

tiga ciri pada strukturnya, yaitu 3',4'-dihidroksi pada cincin B; 2,3 ikatan rangkap pada cincin C dan sebuah gugus 5-hidroksil pada cincin A. Ketiga ciri ini secara umum ditunjukkan pada gambar. 2



Gambar 2. 2. Struktur Kuersetin

(sumber: Google *Picture*)

Dilihat dari struktur kimianya, kuersetin memiliki aktivitas kuat sebagai pemberi hidrogen (*hydrogen-donating*) karena kandungan hidroksilasi yang cukup, yakni 5 gugs OH dan lokasi gugus hidroksilnya terdapat pada sisi aktif (C5, C7, C3' dan C4') (Silalahi, 2006).

C. Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu proses pemisahan substansi dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pada ekstraksi bahan aktif dari simplisia, pelarut harus berdifusi dan senyawa aktif harus cukup larut dalam pelarut, sehingga akan tercapai kesetimbangan antara zat yang terlarut atau solute dan pelarut (Depkes RI, 2000). 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 dari massa atau serbuk yang tersisa

diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Ditjen POM, 1995).

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria berikut ini (Ditjen POM, 1986):

- a. Murah dan mudah diperoleh
- b. Stabil secara fisika dan kimia
- c. Bereaksi netral
- d. Tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar
- e. Selektif yaitu hanya menarik zat berkhasiat yang dikehendaki
- f. Tidak mempengaruhi zat berkhasiat
- g. Diperbolehkan oleh peraturan

Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air-etanol, atau pelarut lain. Bila cairan penyari digunakan air maka untuk mencegah timbulnya kapang, dapat ditambahkan bahan pengawet, yang diberikan pada awal penyarian.

D. Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar ultraviolet dan cahaya tampak yang diabsorpsi oleh sampel. Sinar ultraviolet dan cahaya tampak memiliki energi yang cukup untuk

mempromosikan elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi (eksitasi elektron). Spektroskopi UV-Vis biasanya digunakan untuk molekul dan ion anorganik atau kompleks di dalam larutan. Spektrum UV-Vis mempunyai bentuk yang lebar dan hanya sedikit informasi tentang struktur yang bisa didapatkan dari spektrum ini. Tetapi spektrum ini sangat berguna untuk pengukuran secara kuantitatif. Konsentrasi dari analit di dalam larutan bisa ditentukan dengan mengukur absorban pada panjang gelombang tertentu dengan menggunakan hukum Lambert-Beer. Ketika suatu atom atau molekul menyerap cahaya maka energi tersebut akan menyebabkan tereksitasinya elektron pada kulit terluar ke tingkat energi yang lebih tinggi. Tipe eksitasi tergantung pada panjang gelombang cahaya yang diserap. Sinar ultraviolet dan sinar tampak akan menyebabkan elektron tereksitasi ke orbital yang lebih tinggi. Sistem yang bertanggung jawab terhadap absorpsi cahaya disebut dengan kromofor (Dachriyanus, 2004).

Prinsip kerja Spektrofotometer UV-Vis yaitu apabila cahaya monokromatik melalui suatu media (larutan), maka sebagian cahaya tersebut diserap, sebagian dipantulkan, dan sebagian lagi dipancarkan. Aplikasi rumus tersebut dalam pengukuran kuantitatif dilaksanakan dengan cara komparatif menggunakan kurva kalibrasi dari hubungan antara sederet konsentrasi larutan dengan absorbansi untuk analisa suatu unsur tertentu pada panjang gelombang tertentu (Yanlinastuti. *et al.*, 2011).

Dalam spektroskopi, terdapat istilah-istilah yang sering digunakan, diantaranya (Sastrohamidjojo, 2001):

- a. Kromofor, adalah gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah UV-Vis.
- b. Auksokrom, adalah gugus jenuh yang bila terikat pada kromofor mengubah panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum.
- c. Pergeseran batokromik, adalah pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih panjang disebabkan substitusi atau pengaruh pelarut (pergeseran merah).
- d. Pergeseran hipsokromik, adalah pergeseran serapan ke arah panjang gelombang yang lebih pendek disebabkan substitusi atau pengaruh pelarut (pergeseran biru).
- e. Efek hiperkromik, adalah kenaikan dalam intensitas serapan.
- f. Efek hipokromik, adalah penurunan dalam intensitas serapan.

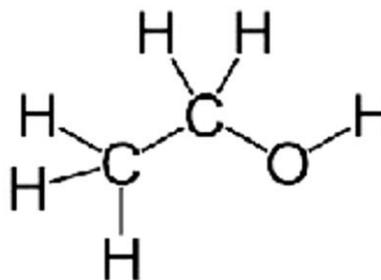
Spektroskopi UV-Vis dapat digunakan untuk membantu mengidentifikasi jenis flavonoid dan menentukan pola oksigenasi. Di samping itu, kedudukan gugus hidroksil fenol bebas pada inti flavonoid dapat ditentukan dengan menambahkan pereaksi diagnostik ke dalam larutan cuplikan dan mengamati pergeseran puncak serapan yang terjadi. Dengan demikian, secara tidak langsung cara ini berguna untuk menentukan kedudukan gula atau metal yang terikat pada salah satu gugus hidroksi fenol (Markham, 1988).

E. Pelarut

1. Etanol

Etanol disebut juga etil alkohol, alkohol murni, alkohol absolut, atau alkohol saja adalah sejenis cairan yang mudah menguap, mudah terbakar, tak berwarna, dan merupakan alkohol yang paling sering digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Etanol termasuk ke dalam alkohol rantai tunggal, dengan rumus kimia C_2H_5OH dan rumus empiris C_2H_6O , mempunyai berat molekul 46. Berat jenis etanol 0,7856/ml pada suhu $15^{\circ}C$ dan 0,8055 pada suhu $20^{\circ}C$, titik didihnya $78^{\circ}C$. Organoleptis etanol adalah tidak berwarna, jernih, mudah menguap dan mudah bergerak, bau khas, rasa panas mudah larut dalam air, eter, dan kloroform. Metode penetapan kadar dengan metode destilasi, prinsipnya adalah memisahkan atau memurnikan. Suatu larutan atau cairan berdasarkan perbedaan titik didih. Kemudian hasil destilasi digunakan untuk menetapkan berat jenis larutan pada suhu $20^{\circ}C$ (Ditjen POM, 1995).

Sifat polar yang dimiliki oleh etanol, membuat zat kimia ini sering digunakan sebagai pelarut obat, pengawet dalam dunia medis, desinfektan serta biasanya digunakan sebagai antidotum (senyawa yang mengurangi atau menghilangkan toksisitas) keracunan metanol dan etilen glikol (Arora, T., 2014). Berikut merupakan struktur kimia senyawa Etanol pada gambar **2.3**.

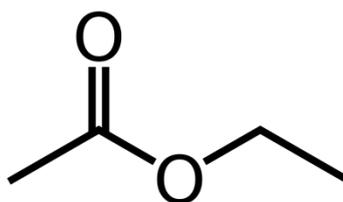


Gambar 2. 3. Struktur Etanol

(sumber: Google *Picture*)

2. Etil Asetat

Etil asetat adalah senyawa organik dengan rumus empiris $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$. Senyawa ini merupakan ester dari ethanol dan asam asetat. Senyawa ini berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat adalah pelarut polar menengah yang volatil (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat dibuat melalui reaksi esterifikasi Fischer dari asam asetat dan etanol. Reaksi esterifikasi Fischer adalah reaksi pembentukan ester dengan cara merefluks asam karboksilat bersama etanol dengan katalis asam. Asam yang dapat digunakan sebagai katalis adalah asam sulfat, asam klorida, dan asam fosfat (Mc Ketta, J.J. and Cunningham, 1977). Struktur kimia etil asetat dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2. 4. Struktur Kimia Etil Asetat

(sumber: Google *Picture*)

Etil asetat berwujud cairan tak berwarna, memiliki aroma khas. Etil asetat adalah pelarut semi polar yang volatile (mudah menguap), tidak beracun, dan tidak higroskopis. Etil asetat dibuat melalui reaksi esterifikasi Fischer dari asam asetat dan etanol. Reaksi esterifikasi Fischer adalah reaksi pembentukan ester dengan cara merefluks asam karboksilat bersama etanol dengan katalis asam. Reaksi esterifikasi merupakan reaksi reversible yang sangat lambat, tetapi bila menggunakan katalis, kesetimbangan reaksi akan tercapai lebih cepat. Asam yang dapat digunakan sebagai katalis adalah asam sulfat, asam klorida, dan asam fosfat (Mc Ketta *et. al* , 1977).

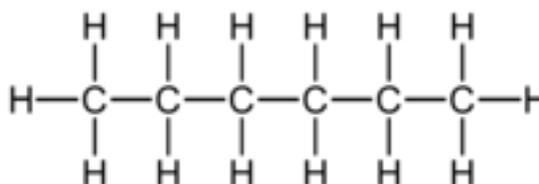
Beberapa kegunaan etil asetat :

1. Sebagai bahan pelarut cat dan bahan baku pembuatan plastik
2. Untuk kebutuhan industri farmasi
3. Sebagai bahan baku bagi industri tinta cetak
4. Sebagai bahan baku bagi pabrik parfum, flavor, kosmetik, dan minyak atsiri.

3. *n*-Heksana

n-Heksana adalah hidrokarbon alkana rantai lurus yang memiliki 6 atom karbon dengan rumus molekul C_6H_{14} . Isomer *n*-heksana tidak reaktif dan digunakan secara luas sebagai pelarut inert dalam reaksi

organik karena n-heksana bersifat non polar. n-Heksana didapatkan dari hasil penyulingan minyak mentah dimana untuk produk industrinya ialah fraksi yang mendidih pada suhu 65-70 °C. n-heksana biasa digunakan untuk mengekstrak minyak dan lemak yang memiliki kepolaran yang sama (Azis,T. 2009). n-Heksana merupakan salah satu pelarut yang baik untuk mengekstraksi senyawa-senyawa yang bersifat non polar. Dalam keadaan standar senyawa ini merupakan cairan tak berwarna yang tidak larut dalam air (Munawaroh, 2010). Struktur kimia *n*-heksan dapat dilihat pada gambar 2.5.



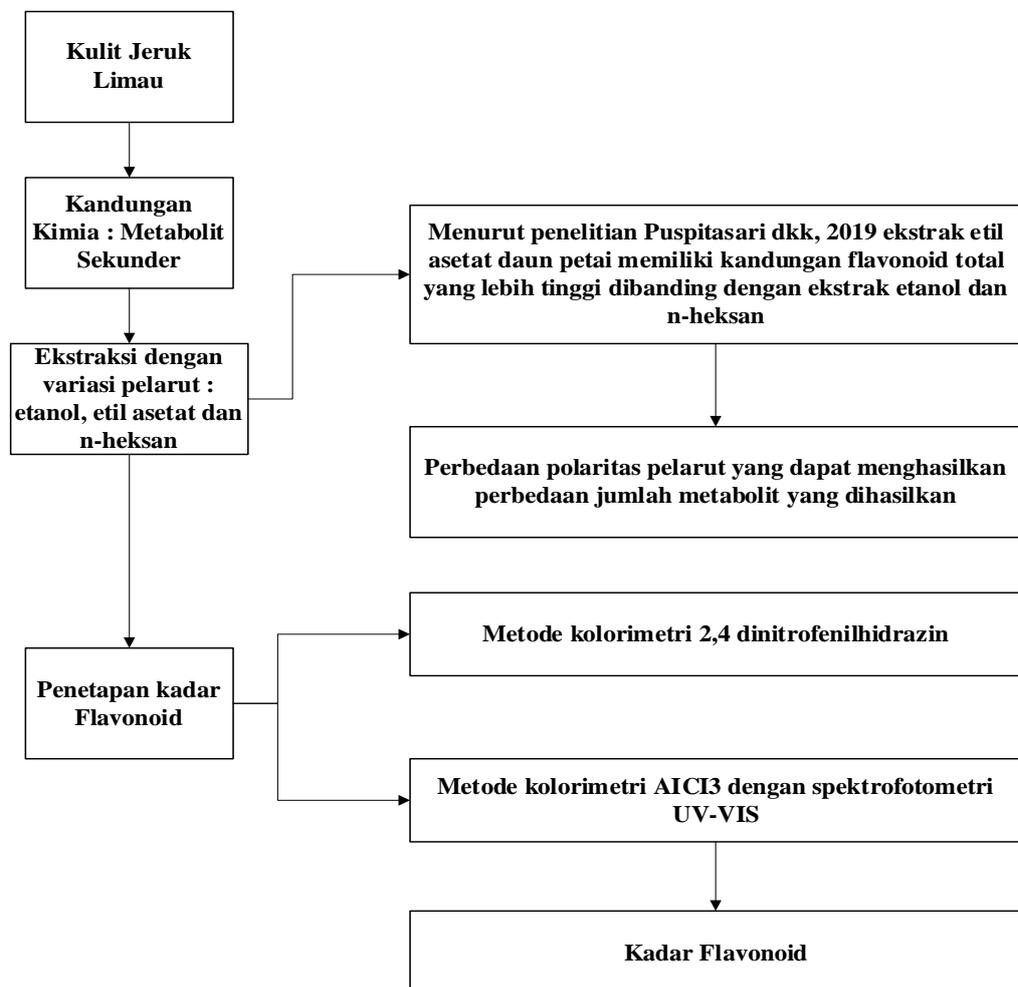
Gambar 2. 5. Struktur Kimia n-Heksana

(sumber: Google *Picture*)

BAB III

KERANGKA TEORI, KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

A. Kerangka Teori

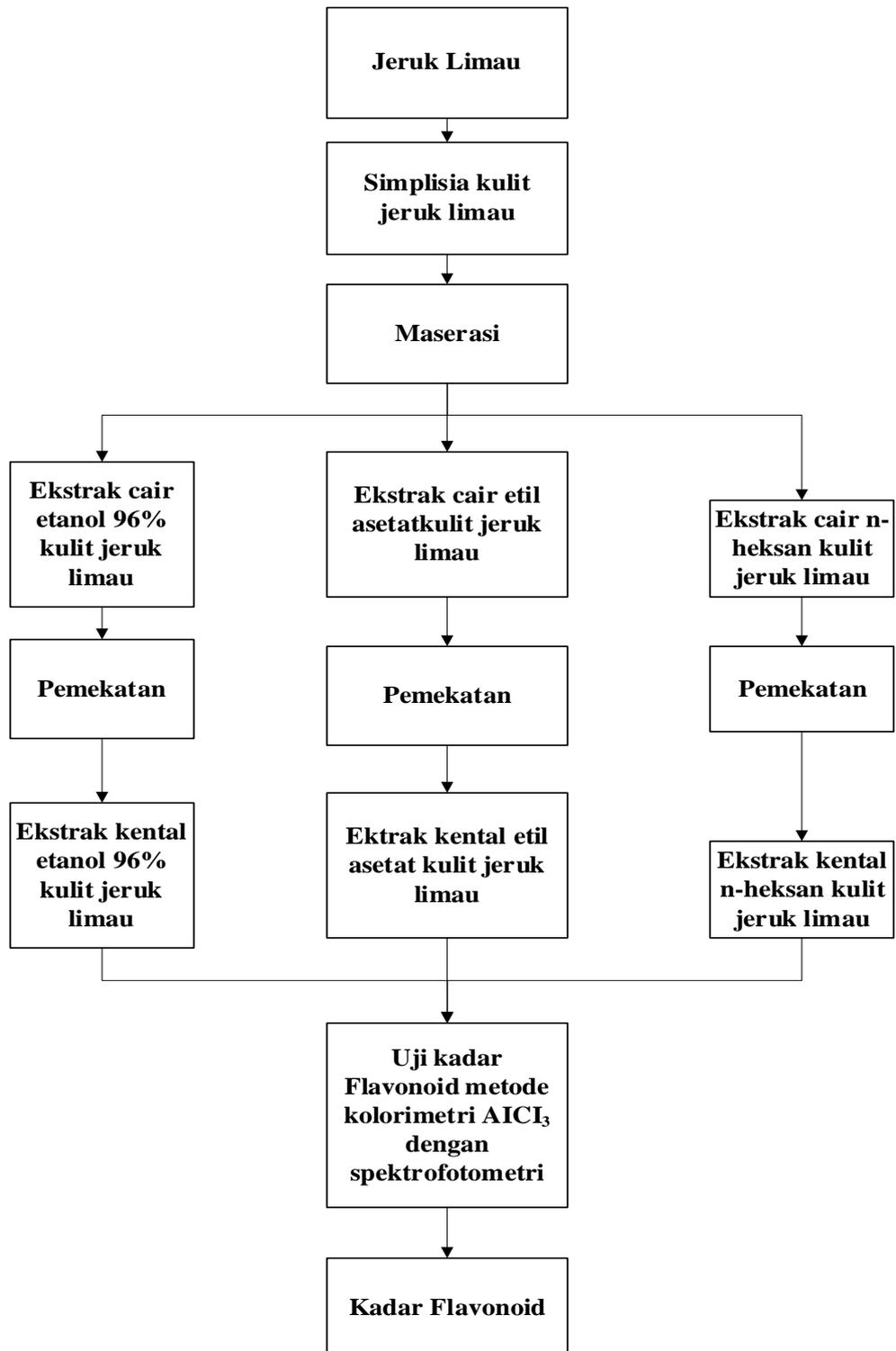


Gambar 3. 1. Kerangka Teori

Berdasarkan kerangka teori diatas, ekstraksi metabolit sekunder dipengaruhi oleh larutan penyarinya. Pada penelitian ini, sampel yang digunakan kulit jeruk limau yang akan di ekstrak dengan variasi pelarut

yaitu etanol, etil asetat, dan n-heksan. Metabolit sekunder yang dicari pada penelitian ini adalah flavonoid. Beberapa penelitian menyatakan bahwa pada tanaman jeruk limau terkandung flavonoid didalamnya. Penulis menggunakan kulit jeruk limau yang berdasarkan beberapa penelitian yang pernah dilakukan, bahwa didalam kulit jeruk limau terdapat flavonoid dan metabolit sekunder lainnya setelah diuji antioksidan (Puspitasari, 2019).

Larutan pengestraksi yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang diinginkan. Menurut prinsip like dissolves like suatu pelarut akan cenderung melarutkan senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang sama. Pelarut polar akan melarutkan senyawa polar, begitupun sebaliknya. Flavonoid yang merupakan senyawa golongan polifenol yang terdistribusi luas pada tumbuhan dalam bentuk glikosida yang berikatan dengan suatu gula, karena itu flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar. flavonoid dapat diekstraksi dengan menggunakan pelarut yang berbeda polaritasnya seperti etanol, etil asetat dan n-heksan (Fitriansyah, 2017).

B. Kerangka Konsep**Gambar 3. 2. Kerangka Konsep**

Berdasarkan kerangka konsep diatas, kulit buah jeruk limau akan dipisahkan lalu dibuat menjadi simplisia. Setelah itu akan di ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Ekstrasi dilakukan dengan menggunakan 3 variasi pelarut yaitu etanol, etil asetat dan *n*-heksan dengan waktu ekstraksi selama 3x24jam dan harus diaduk setiap 6jam. Hal ini digunakan agar pelarut dapat secara merata mengekstraksi setiap simplisia (Nasucha *et al.*, 2019).

Setelah di peroleh ketiga ekstrak cair dari kulit limau, dilakukan pemekatan menggunakan alat *Rotary evaporator*. Setelah pekat akan dilakukan penentuan kadar flavonoid. Penentuan kadar flavonoid ini dilakukan dengan menggunakan instrumen spektrofotometri dengan reagen alumunium klorida ($AlCl_3$) dan kuersetin sebagai baku pembanding. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang dengan *range* 400-500nm. Setelah itu hasil dianalisis menggunakan persamaan linier dan dilakukan uji statistik (Puspitasari,2019).

C. Hipotesis

Ho: Tidak ada perbedaan rata-rata kadar flavonoid antara ekstrak etanol 96%, Etil Asetat, dan *n*-Heksan Kulit Jeruk Limau.

H₁: Terdapat perbedaan rata-rata kadar flavonoid antara ekstrak etanol 96%, Etil Asetat, dan *n*-Heksan Kulit Jeruk Limau.

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini termasuk kedalam penelitian kuantitatif dengan desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental. Desain eksperimental pada penelitian ini dirancang untuk membuktikan adanya pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat. Adapun variabel bebas dalam penelitian ini adalah etanol etil asetat dan n-heksan, sedangkan variabel terikatnya adalah kadar flavonoid.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium STIKes Mitra Keluarga Kota Bekasi Provinsi Jawa Barat.

2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Maret hingga bulan April 2021.

C. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi pada penelitian ini adalah buah jeruk limau (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle) yang diperoleh di Pasar Baru Kota Bekasi Provinsi Jawa Barat.

2. Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah kulit buah jeruk limau (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle) yang sudah dibersihkan dan diperas sari buahnya yang diperoleh dari pedagang di Pasar Baru Kota Bekasi.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pelarut yang digunakan yaitu etanol, etil asetat dan *n*-heksan.

2. Variabel terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar flavonoid pada ekstrak kulit jeruk limau.

E. Definisi Operasional

Tabel 4. 1. Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi	Alat Ukur	Skala Ukur	Hasil Ukur
1	Etanol	Jenis pelarut polar yang di gunakan pada ekstraksi kulit jeruk limau	Gelas ukur, mikropipet	Rasio	mL
2	Etil Asetat	Jenis pelarut semi polar yang digunakan pada ekstraksi kulit jeruk limau	Gelas ukur, mikropipet	Rasio	mL
3	<i>n</i> -Heksan	Jenis pelarut non polar yang digunakan pada ekstraksi kulit jeruk limau.	Gelas ukur, mikropipet	Rasio	mL
4	ekstrak kulit jeruk limau	Hasil ekstraksi kulit jeruk limau dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol, etil asetat dan <i>n</i> -heksan	-	Rasio	ppm
5	Kadar Flavonoid	Banyaknya flavonoid yang terbawa oleh masing-masing larutan penyari	-	Rasio	ppm

F. Alat dan Bahan

Alat yang akan digunakan antara lain alat gelas (Iwaki, Pyrex, Herma), Neraca analitik (Ohaus), *Rotary Evaporator*, *Waterbath*, Spektrofotometer UV-VIS (Thermo Scientific Genesys 10S UV-Vis v4.006), Mikropipet.

Bahan yang digunakan antara lain buah jeruk limau (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle), etanol 96% teknis (Merck), etil asetat teknis (Merck),

n-heksan teknis (Merck), kuersetin (Carbosynth), pereaksi AlCl_3 10% (Merck), Etanol p.a. (Smart-Lab), CH_3COOK (Merck).

G. Alur penelitian

1. Uji Determinasi Tanaman

- a. Tanaman jeruk Limau di uji determinasi di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor untuk memastikan tanaman yang digunakan benar-benar tanaman Jeruk Limau yang dimaksud, serta dapat menghindari terjadinya kesalahan pengambilan dan pengumpulan sampel bahan penelitian (Puspitasari, 2019).

2. Pengolahan Simplisia Kulit Jeruk Limau

- a. 2 kilogram sampel limau yang masih segar dicuci dan diambil bagian kulitnya, lalu dipotong menjadi beberapa bagian.
- b. Keringkan menggunakan oven dengan suhu 40°C sampai kadar air pada simplisia $< 10\%$ (± 12 jam) dan haluskan sampel menggunakan blender, lalu serbuk diayak dengan menggunakan saringan (Puspitasari, 2019).

3. Ekstraksi Kulit Jeruk Limau

- a. Sebanyak 200 gram sampel dihaluskan dan diekstraksi dengan metode maserasi.
- b. Masukkan sampel kedalam masing-masing wadah, lalu tambahkan pada masing-masing sampel pelarut etanol 96% (wadah 1), etil asetat (wadah 2) dan n-heksan (wadah 3) untuk membasahi

simplisia sebanyak 250ml selama 3 hari dan selama perendaman ekstrak sesekali diaduk.

- c. Filtrat disaring dan residunya dimaserasi kembali dengan masing-masing pelarut, selama 3 hari.
- d. Filtrat hasil ekstraksi dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C
- e. Uapkan di *waterbath* pada suhu 50°C (Nasucha *et al.*, 2019).

4. Penetapan Kadar Flavonoid Total

a. Pembuatan larutan induk kuersetin (400ppm)

- 1) Sebanyak 10 mg dilarutkan dengan etanol p.a.
- 2) Masukkan kedalam labu takar 25mL
- 3) Tambahkan etanol p.a. hingga tanda batas (Puspitasari, 2019).

b. Pembuatan larutan induk AlCl₃ 10% dan AlCl₃ 1%

- 1) Sebanyak 500mg AlCl₃ dilarutkan dengan etanol p.a pada labu takar 5mL hingga batas tanda (Puspitasari, 2019) .
- 2) 1ml larutan induk AlCl₃ 10% dilarutkan dengan etanol p.a. pada labu takar 10ml hingga batas tanda.

c. Pembuatan larutan CH_3COOK 1M dan CH_3COOK 120mM

- 1) Sebanyak 500 mg Kalium asetat dilarutkan dalam 5 mL etanol p.a pada labu takar hingga tanda batas (Puspitasari, 2019).
- 2) 1.2ml kalium asetat 1M dilarutkan dalam 10ml etanol p.a pada labu takar hingga tanda batas.

d. Pembuatan larutan induk ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan kulit Limau

- 1) Ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan ditimbang sebanyak 15 mg, masukkan kedalam masing-masing kedalam labu takar 10 mL lalu tambahkan etanol p.a. hingga batas tanda sehingga diperoleh konsentrasi 1500ppm (Stankovic, 2014).
- 2) Ambil 1.67ml masing-masing larutan ekstrak kulit jeruk limau konsentrasi 1500ppm lalu dilarutkan pada labu takar 10 ml dengan etanol p.a hingga batas tanda dan didapatkan larutan uji masing-masing ekstrak kulit jeruk limau dengan konsentrasi 250ppm.

e. Pembuatan larutan seri konsentrasi kuersetin

- 1) Buat larutan seri konsentrasi dengan konsentrasi 6,7,8,9 dan 10 ppm dari larutan induk 400ppm

- 2) Ambil sejumlah larutan induk untuk membuat tiap konsentrasi larutan seri, larutkan dalam 10ml etanol p.a. (Puspitasari, 2019).

f. Penentuan panjang gelombang maksimum

- 1) Sebanyak 3ml dari larutan konsentrasi 10ppm ditambahkan AlCl_3 1% 500 μL dan 500 μL CH_3COOK 120mM.
- 2) Dibaca pada range 400-500 nm dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis (Puspitasari, 2019).

g. Penentuan *operating time*

- 1) Sebanyak 3ml dari larutan konsentrasi 10ppm ditambahkan AlCl_3 1% 500 μL dan 500 μL CH_3COOK 120mM.
- 2) Dibaca pada panjang gelombang maksimum 430nm dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis (Puspitasari,2019).

h. Penetapan kurva baku kuersetin

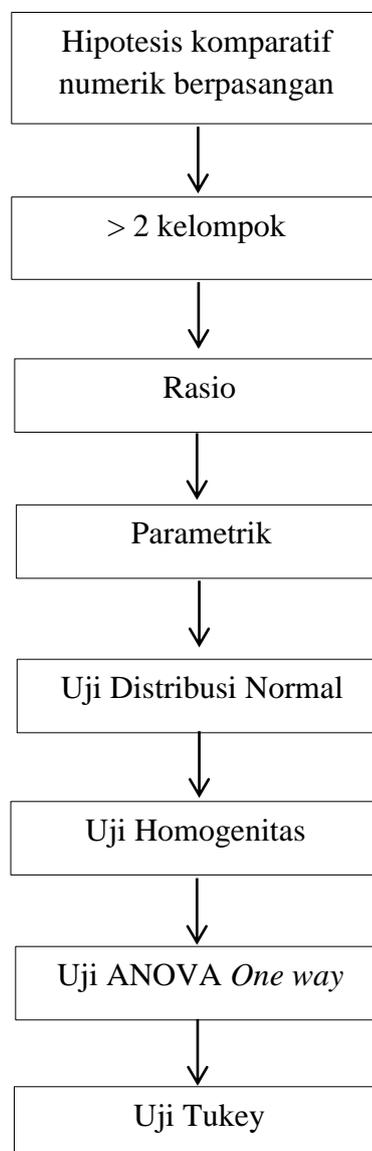
- 1) Sebanyak 3ml dari masing-masing larutan konsentrasi 6,7,8,9, dan 10ppm ditambahkan AlCl_3 1% 500 μL dan 500 μL CH_3COOK 120mM.
- 2) Dibaca pada panjang gelombang maksimum 430nm dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada *operating time* 50 menit (Puspitasari,2019).

i. Pembacaan absorbansi sampel ekstrak flavonoid total

- 1) Sebanyak 3ml dari sampel masing-masing ekstrak etanol 96%, etil asetat, dan n-heksan ditambahkan AlCl_3 1% 500 μL dan 500 μL CH_3COOK 120mM.
- 2) Dibaca pada panjang gelombang maksimum 430nm dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dengan pembanding kuersetin dan pada *operating time* 50 menit.
- 3) Lakukan replikasi sebanyak 3 kali (Puspitasari,2019).

F. Pengolahan dan Analisa Data

Hasil penelitian ini akan dianalisa statistik untuk melihat ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap rata-rata kadar flavonoid pada ekstrak kulit jeurk limau dengan menggunakan metode *One way* ANOVA (analisa varians satu arah) dengan menggunakan program *Statistical Product Services Solution* (SPSS) dengan taraf kepercayaan 95% atau $\alpha = 0,05$.



Gambar 4. 1. Pengolahan dan Analisis Data

BAB V

HASIL

A. Uji Determinasi

Uji determinasi tanaman pada kulit jeruk limau dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor. Hasil dari uji determinasi menunjukkan bahwa tanaman jenis *Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle memiliki sinonim *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochs suku Rutaceae, Jeruk Limau (Lampiran 4). Uji determinasi dengan tujuan memastikan bahwa sampel tanaman yang digunakan dalam penelitian ini merupakan *Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle sehingga menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan dan pengambilan sampel penelitian (Puspitasari, 2019).

B. Ekstraksi Kulit Jeruk Limau

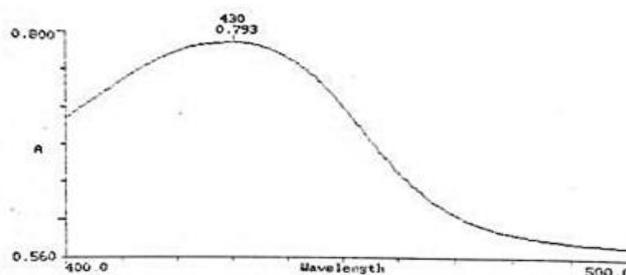
Pada penelitian ini kulit Jeruk Limau (*Citrus x aurantiifolia* (Christm.) Swingle) diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol, etil asetat dan n-heksan. Hasil % rendeman ekstrak kulit jeruk limau dengan persentase tertinggi terdapat pada pelarut etanol sebesar 11,26% sedangkan persentase rendeman ekstrak paling rendah terdapat pada pelarut n-heksan sebesar 0,92%. Adapun hasil bobot sampel, % kadar air, ekstrak kental, dan %rendeman ekstrak kulit jeruk limau ditunjukkan pada tabel 5.1.

Tabel 5.1. Bobot Sampel, % Kadar Air, Ekstrak Kental dan % Rendeman Ekstrak

Jenis Pelarut	Jumlah pelarut (mL)	Penimbangan sampel (gram)	Kadar air %MC	Ekstrak Kental (gram)	Rendeman Ekstrak (%)
Etanol 96%	650	200.01	7.14	22.52	11.26
Etil Asetat	650	200.01	7.34	2.62	1.31
<i>n</i> -Heksan	650	200.06	5.65	1.83	0.92

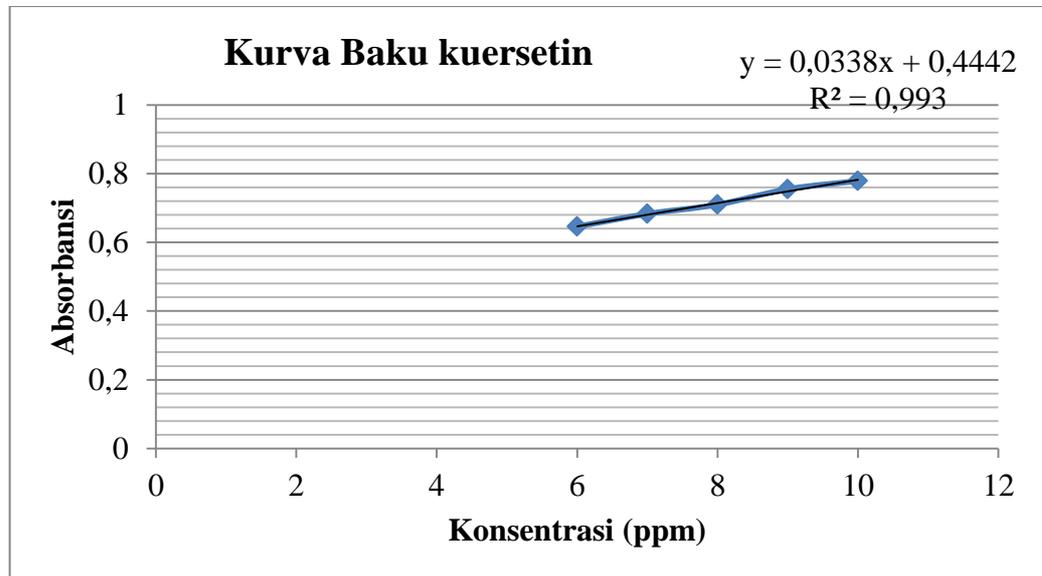
C. Penetapan kadar Flavonoid Ekstrak Kulit Jeruk Limau

Penetapan kadar flavonoid menggunakan baku standar kuersetin dengan konsentrasi 10ppm. Hasil panjang gelombang maksimum yang didapatkan pada penelitian ini sebesar 430 nm. Adapun penetapan panjang gelombang maksimum ditunjukkan pada gambar 5.1 dan *operating time* kuersetin dapat dilihat pada gambar 5.2.



Gambar 5. 1. Panjang Gelombang Maksimum

Pada penelitian ini penetapan kurva baku kuersetin dilakukan dengan seri konsentrasi 6,7,8,9 dan 10ppm. Hasil yang didapatkan berupa persamaan linier yaitu $y = 0,0338x + 0,4442$ dengan nilai R² sebesar 0,993. Adapun hasil kurva baku kuersetin dapat dilihat pada **gambar 5.2**.



Gambar 5. 2. Kurva Baku Kuersetin

Penentuan kadar flavonoid pada penelitian ini dilakukan dengan melihat nilai absorbansi menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil rata-rata kadar flavonoid tertinggi diperoleh pada pelarut etil asetat sebesar 0,64% sedangkan terendah pada pelarut etanol sebesar 0,203%. Adapun rata-rata kadar flavonoid yang terdapat pada pelarut etanol etil asetat dan n-heksan dapat dilihat pada **tabel 5.2**.

Tabel 5. 2. Kadar Flavonoid Pada Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n-Heksan Kulit Jeruk Limau

Replikasi	Ekstrak Etanol 96% (% b/b)	Ekstrak Etil Asetat (% b/b)	Ekstrak n-Heksan (% b/b)
1	-0,26	0,68	-0,27
2	-0,18	0,61	-0,21
3	-0,17	0,63	-0,16
Rata-rata	-0,203	0,64	-0,21

D. Uji Hipotesis dengan *One Way* ANOVA

Hasil uji *One Way* Anova memperlihatkan nilai P sebesar 0,000 ($P < 0,05$). Nilai $P < 0,05$ menunjukkan bahwa pemberian pelarut etanol, etil asetat dan n-heksan mampu berpengaruh terhadap rata-rata kadar flavonoid secara nyata. Hasil uji *One Way* ANOVA pada penelitian ini dapat dilihat **tabel 5.3**.

Tabel 5. 3. Hasil Uji Hipotesis *One Way* ANOVA

Uji <i>One Way</i> ANOVA	Nilai
Rata-rata	0,36
Standar Deviasi	0,215
Signifikansi rata-rata Kadar Flavonoid antar pelarut etanol, etil asetat dan n-heksan	0,000

Setelah dilakukan uji *One Way* ANOVA, selanjutnya dilakukan uji lanjutan atau Posthoc test yaitu uji Tukey. Hasil uji Tukey pada penelitian ini diperoleh hasil bahwa pelarut yang mampu berpengaruh terhadap rata-rata kadar flavonoid secara nyata adalah etil asetat ($P < 0,05$). Adapun hasil uji Tukey pada penelitian ini dapat dilihat pada **tabel 5.4**.

Tabel 5. 4. Hasil Uji Tukey HSD

Kelompok	Kadar Flavonoid (% b/b) $\bar{X} \pm SD$
Etanol	-0,203 ^b
Etil asetat	0,64 ^a
n-heksan	-0,21 ^b

Keterangan: angka yang diikuti oleh huruf yang sama dalam kolom yang sama, menunjukkan perbedaan tidak nyata ($P > 0.05$).

BAB VI

PEMBAHASAN

A. Ekstraksi Kulit Jeruk Limau

Sampel pada penelitian ini menggunakan jeruk Limau yang diambil bagian kulit buahnya. Sampel yang telah dikeringkan menggunakan oven lalu diserbukan sehingga dapat diekstraksi. Adapun tujuan dilakukannya ekstraksi adalah untuk menarik metabolit sekunder dari sumbernya dalam penelitian ini adalah kulit jeruk limau. Penetapan kadar air pada serbuk simplisia sampel dilakukan dengan menggunakan alat *moisture content* dan didapat rata-rata kadar air sebesar 6.71% dimana kadar air dari simplisia pada penelitian ini telah sesuai. Persyaratan kadar air pada simplisia kering sebelum dilakukan proses penyarian yaitu kurang dari 10%. Serbuk yang diperoleh disimpan di tempat gelap supaya tidak terjadi dekomposisi kandungan senyawanya (Depkes RI 2008).

Penelitian ini menggunakan tiga larutan penyari yaitu etanol, etil asetat dan *n*-Heksan, masing-masing pelarut memiliki polaritas yang berbeda yaitu etanol bersifat polar, etil asetat bersifat semi polar dan *n*-heksan merupakan pelarut non-polar. Nilai konstanta dielektrik masing-masing pelarut sebesar etanol 24,30; etil asetat 6,02; dan *n*-Heksan 1,89 (Stahl, 1985). Penggunaan ketiga jenis pelarut digunakan untuk melihat rata-rata

kadar flavonoid yang diekstraksi dengan masing-masing pelarut tersebut. (Fitriansyah, 2017).

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah maserasi. Pemilihan metode maserasi disebabkan pada proses maserasi tidak ada pemanasan, sehingga sesuai untuk mengekstraksi senyawa yang bersifat termolabil seperti flavonoid. Adapun senyawa flavonoid termasuk golongan senyawa yang tidak tahan panas dan mudah teroksidasi pada suhu tinggi (Aldi Rompas, 2012).

Proses ekstraksi dengan metode maserasi adalah cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel simplisia yang mengandung zat aktif (flavonoid), lalu zat aktif akan terlarut dan karena terdapat perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dan diluar sel, maka larutan yang pekat terdorong keluar. Peristiwa ini akan terjadi berulang hingga diperoleh keseimbangan konsentrasi larutan antara diluar dan didalam sel (Depkes RI 2000).

Setelah diperoleh ekstrak cair, maka dilakukan pemekatan ekstrak dengan alat *Rotary Evaporator* dengan suhu 50°C. Setelah volume dalam proses ini sudah berkurang sebanyak 50% maka dilanjutkan penguapan dipenangas air (*waterbath*) dengan suhu 50°C hingga ekstrak menjadi kental (pasta).

Setelah didapatkan ekstrak kental kulit jeruk limau, maka dilakukan penentuan % rendamen. Penentuan rendamen berfungsi untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa oleh pelarut (Ahmad, 2015). Penentuan rendamen pada ekstrak etanol sebesar 11,26%, etil asetat 1,31% dan n-Heksan 0,92%.

B. Penetapan Kadar Flavonoid menggunakan metode kolorimetri

Penetapan kadar flavonoid pada penelitian ini menggunakan baku standar kuersetin yang dilakukan dengan tahapan penetapan panjang gelombang maksimum, penetapan *operating time* dan kurva baku kuersetin. Kadar flavonoid akan dihitung dengan persamaan regresi liner dari kurva baku kuersetin yang telah diukur sebelumnya. Perhitungan ini berdasarkan hukum *Lambert-Beer* yang berarti hubungan lurus antara absorbansi dan kadar analit.

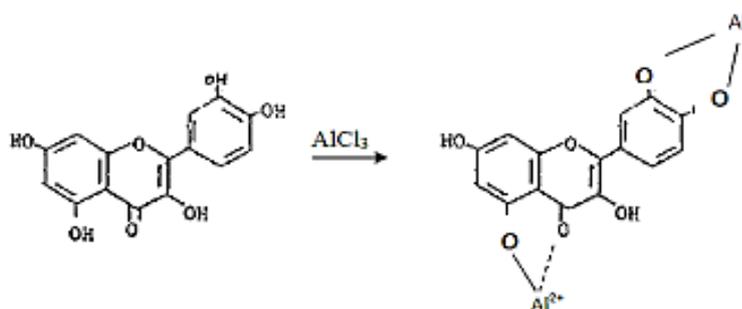
1. Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin

Pada penelitian ini, penetapan panjang gelombang maksimum baku kuersetin menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis. Dimana pengukuran ini menggunakan rentang panjang gelombang sebesar 400-500 nm. Tujuan dari penetapan panjang gelombang maksimum ini adalah untuk mengetahui daerah serapan yang dapat dihasilkan berupa nilai absorbansi dari larutan baku kuersetin yang diukur serapannya dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis (Sudewi, 2018).

Panjang gelombang maksimum kuersetin yang diperoleh pada penelitian ini sebesar 430 nm dengan konsentrasi 10 ppm. Hasil dari penetapan panjang gelombang maksimum ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Nofita dkk (2020) dimana panjang gelombang maksimum yang didapatkan sebesar 430 nm untuk pengukuran panjang gelombang maksimum kuersetin.

Pada pengukuran senyawa flavonoid total, larutan sampel ditambahkan AlCl_3 yang dapat membentuk kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visible (tampak) yang ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning. penambahan kalium asetat yang bertujuan untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visible (tampak) (Chang C. 2002).

Pada penelitian ini kuersetin sebagai baku pembanding yang merupakan salah satu flavonoid golongan flavonol yang memiliki gugus keto pada atom C-4 dan juga gugus hidroksil pada atom C-3 dan C-5 yang berdekatan, dapat direaksikan dengan reagen AlCl_3 . Senyawa kompleks berwarna hijau terjadi karena reaksi reduksi oksidasi antara flavonoid dan AlCl_3 dimana flavonoid sebagai reduktor dan AlCl_3 sebagai oksidator. Penambahan kalium asetat berfungsi untuk mendeteksi adanya gugus 7-hidroksil (Azizah, 2014).



Gambar 6. 1. Pembentukan senyawa kompleks kuersetin- AlCl_3

2. Penetapan *Operating Time* Kuersetin

Pada penetapan *operating time* menggunakan waktu inkubasi selama 60 menit dan dilihat absorbansinya setiap 5 menit. Hasil dari penetapan *operating time* didapatkan pada menit ke 50 hingga 60 selisih absorbansi yang didapatkan konstan yaitu 3, sehingga pengukuran dilakukan pada *operating time* dimenit ke 50. Sebelum melakukan pengukuran larutan kuersetin dan sampel terlebih dahulu didiamkan selama 60 menit, hal ini bertujuan untuk menyempurnakan reaksi kimia yang terjadi di dalam larutan (Khumaira Sari,2017)

Operating time pada penelitian yang dilakukan Puspitasari dkk (2019) untuk penetapan kadar flavonoid diperoleh dimenit ke-30 pada panjang gelombang 436.2nm. Pada proses penentuan *operating time* Puspitasari dkk (2019) menggunakan AlCl_3 10% dan CH_3COOK 1M. Berdasarkan hal tersebut penentuan *operating time* tidak hanya waktu

saja yang berbeda namun dapat dipengaruhi oleh konsentrasi reagen serta konsentrasi kuersetin yang terkandung dalam larutan uji.

3. Penetapan Kurva Baku Kuersetin

Penetapan kurva baku kuersetin menggunakan lima seri konsentrasi yaitu 6,7,8,9,10 ppm. Pengukuran absorbansi dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 430 nm dan diinkubasi pada *operating time* yaitu selama 50menit. Hasil yang diperoleh dari kurva baku menyatakan semakin tinggi konsentrasi maka semakin tinggi pula nilai absorbansinya. Hal ini menunjukkan hubungan lurus antara absorbansi dengan kadar analit.

Berdasarkan hasil dari penetapan kurva baku kuersetin kami mendapatkan persamaan linear yang didapatkan adalah $y = 0,0338x + 0,4442$ dengan nilai $R^2 = 0,993$ dan nilai r sebesar 0.9964. Persamaan kurva baku ini dapat digunakan untuk menentukan kadar flavonoid berdasarkan hasil absorbansi dari tiap sampel. Pengujian ini menggunakan larutan etanol p.a sebagai blanko dimana fungsi dari blanko sendiri merupakan sebagai kontrol yang berfungsi untuk pemblank atau mengkali nol-kan senyawa lain yang tidak diperlukan dalam analisis ini (Basset, 1994).

4. Pembacaan absorbansi sampel ekstrak kulit jeruk limau

Penetapan kadar pada ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksan kulit jeruk limau dibuat pada konsentrasi 1500ppm, dibuat larutan intermediet 500ppm dan dibaca absorbansinya dengan konsentrasi 250ppm pada panjang gelombang 430nm, pada *operating time* 50menit.

Hasil absorbansi sampel pada tiap ekstrak dihitung dengan persamaan linear sebagai y dan x merupakan kadar dari flavonoid (ppm). Rata-rata kadar yang didapatkan pada tiap ekstrak berbeda, pada ekstrak etanol kulit jeruk limau sebesar -0.203% (b/b), pada ekstrak etil asetat kulit jeruk limau sebesar 0.640% (b/b) dan pada ekstrak *n*-heksan kulit jeruk limau sebesar -0.236% (b/b).

Hasil yang telah didapatkan pada penelitian ini, urutan kadar flavonoid tertinggi hingga terendah yaitu ekstrak etil asetat kulit jeruk limau, ekstrak *n*-heksan kulit jeruk limau dan ekstrak etanol kulit jeruk limau. Ekstrak etil asetat memiliki kandungan flavonoid total yang lebih besar yang berarti karakteristik senyawa flavonoid pada ekstrak kulit jeruk limau memiliki kepolaran yang sama dengan etil asetat (Puspitasari,2019).

Pada penelitian ini, nilai absorbansi sampel ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksan kulit jeruk limau lebih kecil dibandingkan dengan nilai absorbansi pada kurva baku kuersetin sehingga nilai absorbansi pada sampel ekstrak etanol dan ekstrak *n*-heksan kulit jeruk limau tidak

masuk rentang kurva baku kuersetin. Hal ini disebut dengan ekstrapolasi, yaitu absorbansi sampel melebihi dari absorbansi kurva baku sehingga tidak dapat dipastikan linieritasnya (Wiwin *et.al*, 2016).

Hal ini diduga kadar flavonoid pada ekstrak etanol dan ekstrak n-heksan kulit jeruk limau pada konsentrasi 250ppm terlalu kecil sehingga absorbansi yang dihasilkan lebih kecil dibandingkan dengan absorbansi kurva baku kuersetin. Perlu dilakukan penelitian lanjutan mengenai kadar flavonoid pada ekstrak etanol dan ekstrak n-heksan kulit jeruk limau menggunakan metode yang berbeda yaitu menggunakan metode adisi standar.

C. Uji Hipotesis *One Way Anova*

Uji statistik yang digunakan pada penelitian ini adalah uji *One Way Anova*. Uji statistik pada penelitian ini dilakukan untuk melihat apakah terdapat perbedaan secara nyata antara kadar flavonoid yang didapatkan dengan pelarut yang digunakan saat ekstraksi. Pada uji *One-Way Anova* jika nilai $P > 0,05$ maka H_0 diterima sedangkan jika nilai $P < 0,05$ maka H_0 ditolak. Berdasarkan hasil yang didapat, nilai P pada uji ini sebesar 0,000 yang berarti $P < 0,05$ sehingga H_0 ditolak. Keputusannya yaitu "Terdapat perbedaan rata-rata kadar flavonoid antara ekstrak etanol 96%, Etil Asetat, dan n-Heksan Kulit Jeruk Limau". Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit jeruk limau yang diekstraksi dengan 3 pelarut memiliki rata-rata kadar flavonoid yang "berbeda" secara nyata.

Pengujian selanjutnya adalah *Posthoc test* dengan analisa uji Tukey HSD. Pada tabel hasil uji Tukey HSD kelompok yang memiliki rata-rata kadar flavonoid dengan perbedaan tidak nyata adalah kelompok ekstrak dengan pelarut etanol dan ekstrak dengan pelarut n-heksan, sedangkan pada ekstrak dengan pelarut etil asetat memiliki rata-rata kadar flavonoid berbeda nyata dibandingkan kedua ekstrak lainnya. Berdasarkan hasil uji *Tukey HSD*, perbedaan secara nyata rata-rata kadar flavonoid ekstrak kulit jeruk limau ditunjukkan pada penggunaan pelarut etil asetat.

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa rata-rata kadar flavonoid tertinggi ada pada ekstrak etil asetat kulit jeruk limau dengan rata-rata kadar flavonoid sebesar 0,64% (b/b) yang termasuk dalam kategori rendah jika di bandingkan dengan penelitian sebelumnya oleh Puspitasari (2019) dengan kadar flavonoid pada ekstrak etil asetat daun petai sebesar 23,068 mg/gram. Berdasarkan hal tersebut, penelitian ini memerlukan penelitian lebih lanjut apabila digunakan dalam pembuatan formulasi, maupun untuk mengetahui metabolit sekunder lainnya yang terkandung dalam sampel kulit jeruk limau dengan penggunaan metode yang lebih baik dan terbaru seperti HPLC.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

1. Kadar flavonoid total dari ekstrak etanol 96% kulit jeruk limau sebesar - 0.203% (b/b); ekstrak etil asetat kulit jeruk limau sebesar 0.640% (b/b); dan ekstrak n-Heksan kulit jeruk limau sebesar - 0.236% (b/b) dengan kadar flavonoid tertinggi terdapat pada ekstrak etil asetat kulit jeruk limau.
2. Hasil uji *One Way Annova* menghasilkan nilai P sebesar 0.00 ($P < 0.05$), artinya pemberian pelarut etanol 96 %, etil asetat dan n-heksan mampu berpengaruh secara nyata terhadap rata-rata kadar flavonoid yang terkandung pada ekstrak kulit jeruk limau
3. Adapun hasil perbedaan secara nyata dari rata-rata kadar flavonoid ekstrak kulit jeruk limau ditunjukkan pada penggunaan pelarut etil asetat.

B. SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pemanfaatan senyawa flavonoid pada ekstrak kulit jeruk limau sebagai salah satu bahan aktif dalam bidang farmasi.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa metabolit sekunder lainnya yang terkandung dalam ekstrak kulit jeruk limau.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A. R., Juwita, J. and Ratulangi, S. A. D. (2015) 'Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol Buah dan Daun Patikala (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.SM)', *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1), pp. 1–10. doi: 10.7454/psr.v2i1.3481.
- Aldi Rompas, R., Jaya Edy, H. and Yudistira, A. (2012) *ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FLAVONOID DALAM DAUN LAMUN (SYRINGODIUM ISOETIFOLIUM)*, *ejournal.unsrat.ac.id*. Available at: <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/pharmacon/article/viewFile/487/380> (Accessed: 9 June 2021).
- Arora, T., & Taheri, S. (2014) 'Associations Between Late Chronotype, Body Mass Index and Dietary Behaviors in Young Adolescents', *International Journal of Obesity*.
- Azis, T., R.C.K.N., A. F. (2009) 'Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut, dan Waktu Ekstraksi terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi', *Jurnal Teknik Kimia*, 16(1), pp. 1–8.
- Azizah, D. N., Kumolowati, E. and Faramayuda, F. (2014) 'PENETAPAN KADAR FLAVONOID METODE AIC13 PADA EKSTRAK METANOL KULIT BUAH KAKAO (*Theobroma cacao* L.)', *Kartika Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2(2), pp. 45–49. doi: 10.26874/kjif.v2i2.14.
- Chang C. Yang M, W. H. C. J. (2002) 'Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods', *Journal of Food Drug Anal.*
- Dachriyanus (2004) *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektrofotometri*. Padang: Andalas University Press.
- Ditjen POM (1986) *Sediaan Galenik*. jilid II. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Ditjen POM (1995) *Farmakope Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- ERGÜDER, B. *et al.* (2007) *Effects of cooking techniques on antioxidant enzyme activities of some fruits and vegetables*. - *Penelusuran Google, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Ankara University, 06100 Ankara -TURKEY*.
- Fajjar Anggara, A. and Waznah, U. (2021) *Uji Aktivitas Antiinflamasi Fraksi Metanol dan Fraksi n-Heksan Daun Asam Jawa (Tamarindus indica) dengan Metode Stabilisasi Membran Sel Darah Merah Secara Invitro, Jurnal Famasi Klinis dan Sains Bahan Alam*. Available at: <https://e-journal.hamzanwadi.ac.id/index.php/sinteza/article/viewFile/3204/1669> (Accessed: 28 June 2021).
- Fitriansyah, S. N., Fidrianny, I. and Ruslan, K. (2017) 'Correlation of Total Phenolic, Flavonoid and Carotenoid Content of Sesbania sesban (L. Merr) Leaves Extract with DPPH Scavenging Activities', *Available online on www.ijppr.com International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(1). doi: 10.25258/ijppr.v9i1.8047.
- Hakim, A., (JSM), R. S.-J. S. M. and 2020, undefined (no date) 'Narrative Review: Optimasi Etanol sebagai Pelarut Senyawa Flavonoid dan Fenolik', *journal.umpalangkaraya.ac.id*.
- Harborne, J. B. (1987) *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. terbitan k. Edited by K. Padmawinata and S. Iwang. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- J., B. and Mendham (1994) *Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Khumaira Sari, A. and Ayuchecaria, N. (2017) *PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DAN FLAVONOID TOTAL EKSTRAK BERAS HITAM (Oryza sativa L) DARI KALIMANTAN SELATAN*, ISFI Banjarmasin; *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*.

- Lota, M. *et al.* (no date) 'Chemical variability of peel and leaf essential oils of 15 species of mandarins', *Elsevier*.
- Markham, K. R. (1988) *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Edited by K. Padmawinata. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Masruhen, M. (2010) *Pengaruh Pemberian Infus Buah Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Terhadap Kadar Kolesterol Darah Tikus, Farmasains*.
- Mc Ketta, J.J. and Cunningham, W. . (1977) *Encyclopedia of Chemical Processing and Design*. Vol. V. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Munawaroh, S. (2010) 'Ekstraksi minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC) dengan pelarut etanol dan N-Heksana'.
- Nasucha, B. G. *et al.* (2019) 'unci: antioksidan, aquadest, DPPH, IC 50 , kulit limau banjar (*Citrus reticulata*)', *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(2), pp. 295–304.
- Ngo, T. Van *et al.* (2017) 'Impact of different extraction solvents on bioactive compounds and antioxidant capacity from the root of *Salacia chinensis* L', *Journal of Food Quality*, 2017. doi: 10.1155/2017/9305047.
- Nofita, D., Sari, S. N. and Mardiah, H. (2020) 'Penentuan Fenolik Total dan Flavonoid Ekstrak Etanol Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata* J.R& G.Forst) secara Spektrofotometri', *Chimica et Natura Acta*, 8(1), p. 36. doi: 10.24198/cna.v8.n1.26600.
- Puspitasari, A. D., Anwar, F. F. and Faizah, N. G. A. (2019) 'AKTIVITAS ANTIOKSIDAN, PENETAPAN KADAR FENOLIK TOTAL DAN FLAVONOID TOTAL EKSTRAK ETANOL, ETIL ASETAT, DAN n-HEKSAN DAUN PETAI (*Parkia speciosa* Hassk.)', *Jurnal Ilmiah Teknosains*, 5(1), p. 1. doi: 10.26877/jitek.v5i1.3490.
- Putra, G. M. D. *et al.* (2018) 'STANDARISASI DAN SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JERUK LIMAU (*Citrus amblycarpa*

(Hassk.) Osche)', *Jurnal Kimia*, p. 187. doi: 10.24843/jchem.2018.v12.i02.p15.

- RI, D. (2000) *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- RI, D. (2008) *Farmakope Herbal Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Sarwono (1993) *Jeruk dan Kerabatnya*. cetakan 6. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Sastrohamidjojo, H. (2001) *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty.
- Setyabudi, D. (2011) *Teknologi Penghilang Rasa Pahit Jus Jeruk*. Edisi 1622. Bogor: Badan Litbang Pertanian.
- Sidana, J. *et al.* (2013) 'A Review on Citrus- "The Boon of Nature"', *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*, 18(2), pp. 20–27.
- Silalahi, J. (2006) *Makanan Fungsional*. Yogyakarta: Kanisius.
- Da Silva, L. A. L., Pezzini, B. R. and Soares, L. (2015) 'Spectrophotometric determination of the total flavonoid content in *Ocimum basilicum* L. (Lamiaceae) leaves', *Pharmacognosy Magazine*, 11(41), pp. 96–101. doi: 10.4103/0973-1296.149721.
- Stahl, E. (1985) *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*. Edited by K. Padmawinata and I. Soediro. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Stankovic, M. (2014) *Total phenolic content, flavonoid concentration and antioxidant activity of *Marrubium peregrinum* L. Extracts*, *researchgate.net*.
- Sudewi, S. and Pontoh, J. (2018) 'OPTIMASI DAN VALIDASI METODE ANALISIS DALAM PENENTUAN KANDUNGAN TOTAL FENOLIK PADA EKSTRAK DAUN GEDI HIJAU (*Abelmoschus manihot* L.) YANG DIUKUR DENGAN SPEKTROFOTOMETER UV-VIS', *Pharmacon*, 7(3), pp. 32–41. doi: 10.35799/pha.7.2018.20102.

Werdhasari, A. (2014) 'Peran Antioksidan Bagi Kesehatan', *Jurnal Biomedik Medisiana Indonesia*, 3(2), pp. 59–68.

Winarsi, H. (2007) *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Kanisius.

Wiwin, W., Mursyida, U. and O, S. (2016) 'Penggunaan FTIR-ATR ZnSe (Fourier Transform Infra Red) Untuk Penetapan Kadar Kuersetin Dalam Teh Hitam (*Camellia sinensis* L.)', *Journal of Phamaceutical Science and Technology Indonesian*, 5(1), pp. 47–53.

Yanlinastuti. *et al.* (2011) *Penentuan Kadar Zirkonium dalam Paduan U-Zr Menggunakan Spektrofotometer Uv-Vis dengan Pengompleks Arsenazo III - Penelusuran Google, Seminar Nasional SDM Teknologi Nuklir VII.*

<http://plantamor.com/species/info/citrus/amblycarpa> Diakses pada 05 November 2020 pukul 15.15.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan

1. Pembuatan simplisia

Total buah jeruk limau yang digunakan : 15kg.
Bobot Serbuk simplisia total : 800gram

- ❖ kadar air (berat → %MC)
 - 0.995 gram → 7.14 %MC
 - 0.993 gram → 7.34 %MC
 - 0.992 gram → 5.65 %MC
 - X = 0.993 gram → 6.71%MC

2. Ekstraksi

Total pelarut (etanol, etil asetat, dan *n*-heksan) : 650ml

Penimbangan bahan :

- Etanol : 200.01 gram
- Etil asetat : 200.01 gram
- *N*-heksan : 200.06 gram

Ekstrak cair :

Jenis pelarut	Cawan kosong (gram)	Cawan+ekstrak cair (gram)	Ekstrak cair (gram)
Etanol	66.52	111.40	44.88
Etil asetat	68.16	83.58	15.42
<i>n</i> -heksan	54.02	71.92	17.89

Ekstrak kental

Jenis pelarut	Cawan kosong (gram)	Cawan+ekstrak kental (gram)	Ekstrak kental (gram)
Etanol	66.52	89.043	22.52
Etil asetat	68.16	70.78	2.62
<i>n</i> -heksan	54.02	55.85	1.83

% rendemen :

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

- Etanol

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen etanol} &= \frac{22.52 \text{ gram}}{200.01 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11.26\% \end{aligned}$$

- Etil asetat

$$\begin{aligned} \% \text{ rendemen etil asetat} &= \frac{2.62 \text{ gram}}{200.01 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 1.31\% \end{aligned}$$

(Lanjutan)

- *n*-heksan
- % rendemen *n*-heksan = $\frac{1.83 \text{ gram}}{200.06 \text{ gram}} \times 100\%$
= 0.915%

3. Penetapan kadar flavonoid

- ❖ Pembuatan larutan induk kuersetin (400ppm)
 - Larutan induk kuersetin 400ppm
 $\frac{10 \text{ mg}}{25 \text{ ml}} = \frac{10 \text{ mg}}{0,025 \text{ L}} = 400 \text{ ppm}$
 - Larutan intermediet 100ppm
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 \times 400 = 25 \times 100$
 $V_1 = \frac{25 \times 100}{400} = 0,625 \text{ mL}$
- ❖ Pembuatan larutan peraksi AlCl₃ dan CH₃COOK
 - AlCl₃ 1%
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 \times 10 = 10 \times 1$
 $V_1 = \frac{10}{10} = 1 \text{ ml}$
 - CH₃COOK 120mM
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 \times 1 = 10 \times 120$
 $V_1 = \frac{1200}{1000} = 1,2 \text{ mL}$
- ❖ Pembuatan larutan sampel ekstrak etanol, etil asetat dan *n*-heksan kulit jeruk limau
 - Larutan induk ekstrak
 $\frac{15 \text{ mg}}{10 \text{ ml}} = \frac{15 \text{ mg}}{0,01 \text{ L}} = 1500 \text{ ppm}$
 - Larutan ekstrak 250ppm
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 = \frac{10 \times 250}{1500} = 1.67 \text{ mL}$
- ❖ Pembuatan larutan seri konsentrasi kuersetin
 - Konsentrasi 6ppm
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 \times 100 = 10 \times 6$
 $V_1 = \frac{60}{100} = 0,6 \text{ ml}$
 - Konsentrasi 7ppm
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 \times 100 = 10 \times 7$
 $V_1 = \frac{70}{100} = 0,7 \text{ ml}$

(Lanjutan)

- Konsentrasi 8ppm
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 \times 100 = 10 \times 8$
 $V_1 = \frac{80}{100} = 0,8ml$
- Konsentrasi 9ppm
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 \times 100 = 10 \times 9$
 $V_1 = \frac{90}{100} = 0,9ml$
- Konsentrasi 10ppm
 $V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$
 $V_1 \times 100 = 10 \times 10$
 $V_1 = \frac{100}{100} = 1ml$

❖ Perhitungan kadar flavonoid berdasarkan hasil absorbansi tiap sampel

a. Etanol

- Replikasi 1
 $0,313 = 0,0338x + 0,444$
 $0,313 - 0,444 = 0,0338x$
 $-0,131 = 0,0338x$
 $X = \frac{-0,131}{0,0338} = -3,88 \text{ ppm}$
- Replikasi 2
 $0,351 = 0,0338x + 0,444$
 $0,351 - 0,444 = 0,0338x$
 $X = \frac{-0,093}{0,0338} = -2,75ppm$
- Replikasi 3
 $0,358 = 0,0338x + 0,444$
 $0,358 - 0,444 = 0,0338x$
 $X = \frac{-0,086}{0,0338} = -2,54ppm$

b. Etil asetat

- Replikasi 1
 $0,788 = 0,0338x + 0,444$
 $0,788 - 0,444 = 0,0338x$
 $X = \frac{0,344}{0,0338} = 10,18ppm$
- Replikasi 2
 $0,756 = 0,0338x + 0,444$
 $0,756 - 0,444 = 0,0338x$
 $X = \frac{0,312}{0,0338} = 9,23ppm$
- Replikasi 3
 $0,762 = 0,0338x + 0,444$
 $0,762 - 0,444 = 0,0338x$

(Lanjutan)

$$X = \frac{0,318}{0,0338} = 9,41ppm$$

c. N-Heksan

- Replikasi 1

$$0,579 = 0,0338x + 0,444$$

$$0,579 - 0,444 = 0,0338x$$

$$X = \frac{-0,135}{0,0338} = -3,99ppm$$
- Replikasi 2

$$0,550 = 0,0338x + 0,444$$

$$0,550 - 0,444 = 0,0338x$$

$$X = \frac{-0,106}{0,0338} = -3,13ppm$$
- Replikasi 3

$$0,524 = 0,0338x + 0,444$$

$$0,524 - 0,444 = 0,0338x$$

$$X = \frac{0,08}{0,0338} = -2,37ppm$$

❖ Perhitungan kadar flavonoid total

$$\text{Kadar flavonoid total (\%)} = \frac{C \times V}{M}$$

Dimana: C = Konsentrasi kuersetin

V = Volume ekstrak

M = Berat ekstrak

a. Etanol

- Replikasi 1

$$\text{Kadar flavonoid (\%)} = \frac{-3,88 \times 0,01}{0,015}$$

$$= -2,586 \text{ mg QE/g ekstrak}$$

$$= -0,002586 \text{ g/g} \times 100\%$$

$$= -0,258 \%$$
- Replikasi 2

$$\text{Kadar flavonoid (\%)} = \frac{-2,75 \times 0,01}{0,015}$$

$$= -1,833 \text{ mg Q}^E/\text{g ekstrak}$$

$$= -0,001833 \text{ g/g} \times 100\%$$

$$= -0,1833 \%$$
- Replikasi 3

$$\text{Kadar flavonoid (\%)} = \frac{-2,54 \times 0,01}{0,015}$$

$$= -1,693 \text{ mg Q}^E/\text{g ekstrak}$$

$$= -0,001693 \text{ g/g} \times 100\%$$

$$= -0,1693 \%$$

(Lanjutan)

b. Etil asetat

▪ Replikasi 1

$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid (\%)} &= \frac{10,18 \times 0,01}{0,015} \\ &= 6,79 \text{ mgQ}^{\text{E}}/\text{g ekstrak} \\ &= 0,00679 \text{ g/g} \times 100 \\ &= 0,1693 \% \end{aligned}$$

▪ Replikasi 2

$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid (\%)} &= \frac{9,23 \times 0,01}{0,015} \\ &= 6,152 \text{ mg Q}^{\text{E}}/\text{g ekstrak} \\ &= 0,006152 \text{ g/g} \times 100 \\ &= 0,6152 \% \end{aligned}$$

▪ Replikasi 3

$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid (\%)} &= \frac{9,41 \times 0,01}{0,015} \\ &= 6,273 \text{ mg Q}^{\text{E}}/\text{g ekstrak} \\ &= 0,006273 \text{ g/g} \times 100 \\ &= 0,6273 \% \end{aligned}$$

c. N-Heksan

▪ Replikasi 1

$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid (\%)} &= \frac{-3,99 \times 0,01}{0,015} \\ &= -2,66 \text{ mg Q}^{\text{E}}/\text{g ekstrak} \\ &= -0,00266 \text{ g/g} \times 100 \\ &= -0,266 \% \end{aligned}$$

▪ Replikasi 2

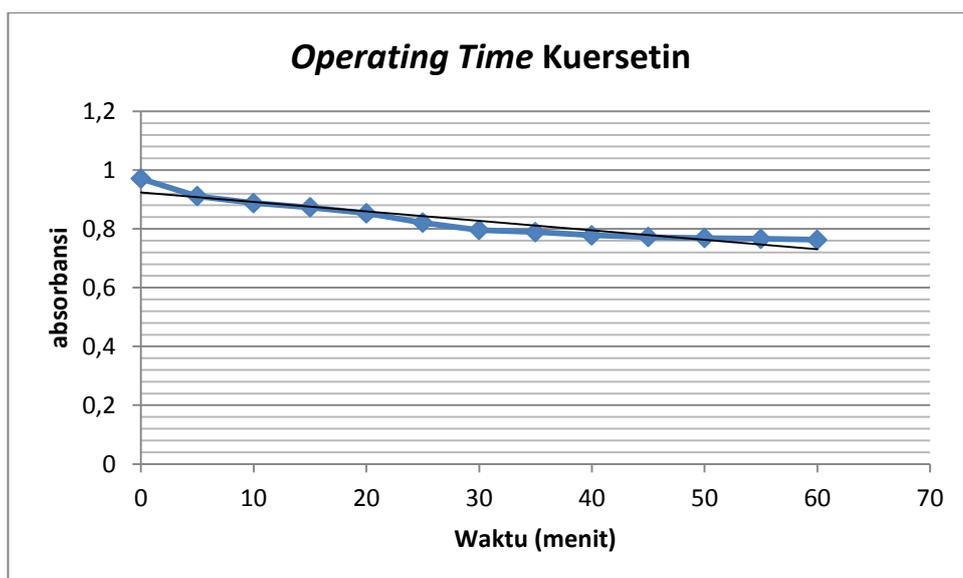
$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid (\%)} &= \frac{-3,13 \times 0,01}{0,015} \\ &= -2,087 \text{ mgQ}^{\text{E}}/\text{g ekstrak} \\ &= -0,002087 \text{ g/g} \times 100 \\ &= -0,209 \% \end{aligned}$$

▪ Replikasi 3

$$\begin{aligned} \text{Kadar flavonoid (\%)} &= \frac{-2,37 \times 0,01}{0,015} \\ &= -1,58 \text{ mg Q}^{\text{E}}/\text{g ekstrak} \\ &= -0,00158 \text{ g/g} \times 100 \\ &= -0,158 \% \end{aligned}$$

Lampiran 2. Tabel dan kurva Operating Time

Waktu (Menit)	Absorbansi
0	0,971
5	0,911
10	0,888
15	0,873
20	0,853
25	0,821
30	0,796
35	0,789
40	0,778
45	0,772
50	0,769
55	0,766
60	0,763



Lampiran 3. Tabel kurva baku kuersetin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
6	0,646
7	0,683
8	0,71
9	0,755
10	0,779

Lampiran 4. Tabel Kadar Flavonoid pada Ekstrak Etanol, Etil Asetat dan n-Heksan Kulit Jeruk Limau

1. Ekstrak Etanol Kulit Jeruk Limau

Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid (ppm)	Kadar Flavonoid (% b/b)
1	0.31	3.88	0.26
2	0.35	2.75	0.18
3	0.36	2.54	0.17
Rata-rata		3.05	0.203

2. Ekstrak Etil asetat Kulit Jeruk Limau

Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid (ppm)	Kadar Flavonoid (% b/b)
1	0.79	10.18	0.68
2	0.76	9.23	0.61
3	0.76	9.41	0.63
Rata rata		9.61	0.64

3. Ekstrak n-Heksan Kulit Jeruk Limau

Replikasi	Absorbansi	Kadar Flavonoid (ppm)	Kadar Flavonoid (%b/b)
1	0.58	3.99	0.27
2	0.55	3.13	0.21
3	0.52	2.37	0.16
Rata-rata		3.16	0.21

Lampiran 5. Tabel hasil uji Hipotesis

1. Uji Homogenitas

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1,514	2	6	,293

2. Uji *One Way* ANOVA

ANOVA					
KADAR	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,355	2	,178	65,09 4	,000
Within Groups	,016	6	,003		
Total	,372	8			

3. *Multiple Comparison*

(I) JENIS PELARU T	(J) JENIS PELARUT	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ETANOL	ETIL ASETAT	-,437100*	,042649	,000	-,56796	-,30624
	N-HEKSAN	-,033333	,042649	,727	-,16419	,09752
ETIL	ETANOL	,437100*	,042649	,000	,30624	,56796
ASETAT	N-HEKSAN	,403767*	,042649	,000	,27291	,53462
N-	ETANOL	,033333	,042649	,727	-,09752	,16419
HEKSAN	ETIL ASETAT	-,403767*	,042649	,000	-,53462	-,27291

(Lanjutan)

4. Hasil Uji Tukey HSD

JENIS	N	Subset for alpha =
PELARUT		0.05
		1 2
ETANOL	3	,20333
N-HEKSAN	3	,23667
ETIL	3	,64043
ASETAT		
Sig.		,727 1,000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.		
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.		

Lampiran 6. Hasil Uji Determinasi Tanaman Jeruk Limau



LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
 (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
PUSAT PENELITIAN KONSERVASI TUMBUHAN DAN KEBUN RAYA
 (Research Center For Plant Conservation And Botanic Gardens)
 Jalan Ir. H. Juanda No. 13, PO Box 309 Bogor 16003, Indonesia
 Telepon +62 251 8322187; +62 251 8322220 Faximili +62 251 8322187

Nomor : B- 2472/III/KS.01.03/3/2021 Bogor, 31 Maret 2021
 Sifat : -
 Lamp. : -
 Perihal : Identifikasi tanaman

Yth. Dr. Susi Hartati, S.Kp., M.Kep., Sp.Kep.An.
 Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan
 Mitra Keluarga
 Bekasi

Menindak lanjuti surat Saudara Nomor 037/STIKes.MK/BAAK/PPPM/III/21 tanggal 17 Maret 2021, dengan ini kami sampaikan hasil identifikasi berupa ranting muda, daun dan buah, kulit buah dan biji yang dikirim ke Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya – LIPI oleh :

N a m a : Niken Kanti Putri Nastiti
 N I M : 201704006
 Prodi : S1 Farmasi

adalah dari jenis *Citrus × aurantiifolia* (Christm.) Swingle (sinonimnya *Citrus amblycarpa* (Hassk.) Ochse), suku Rutaceae, jeruk limau.

Demikian kami sampaikan dan untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Kepala

 Dr. R. Hendrian, M.Sc.

Lampiran 7. *Certificate of Analysis Quercetin*

SPECIFICATION

Quercetin

Product Code:	FQ32160
CAS Number:	117-39-5
Chemical Formula:	$C_{15}H_{10}O_7$
Molecular Weight:	302.24

TECHNICAL SPECIFICATION

Appearance:	Yellow powder
Purity (HPLC):	min 95%
Water content (Karl Fischer):	max 2%
Identity (1H NMR):	Conforms to structure

Lampiran 8. *Certificate of Analysis Potassium Acetate*

Certificate of Analysis

1.04873.0000 Potassium dihydrogen phosphate for analysis EMSURE® ISO
Batch AM1206973

	Spec. Values		Batch Values	
Assay (alkalimetric, calculated on dried substance)	99.5 - 100.5	%	100.0	%
Assay (alkalimetric; dried substance)	≥ 99.5	%	99.9	%
pH-value (5 % , water)	4.2 - 4.5		4.3	
Chloride (Cl)	≤ 0.0005	%	≤ 0.0005	%
Sulphate (SO ₄)	≤ 0.003	%	≤ 0.003	%
Total nitrogen (N)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Heavy metals (as Pb)	≤ 0.0010	%	≤ 0.0010	%
As (Arsenic)	≤ 0.0002	%	≤ 0.0002	%
Cu (Copper)	≤ 0.0003	%	≤ 0.0003	%
Fe (Iron)	≤ 0.0010	%	≤ 0.0010	%
Na (Sodium)	≤ 0.02	%	≤ 0.02	%
Pb (Lead)	≤ 0.001	%	≤ 0.001	%
Reducing substances	passes test		passes test	
Loss on drying (110 °C)	≤ 0.2	%	< 0.1	%
Loss on drying (130 °C)	≤ 0.2	%	< 0.2	%

Corresponds to ISO

Date of release (DD.MM.YYYY) 14.08.2017
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY) 31.08.2022

Claudia Wiegand
Responsible laboratory manager quality control

This document has been produced electronically and is valid without a signature.

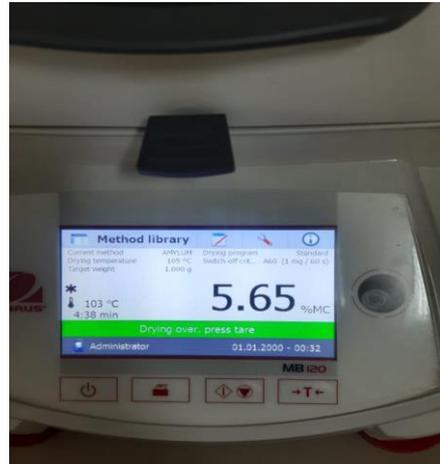
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

Keterangan	Gambar
Alat dan bahan ekstraksi	
Tanaman dibersihkan sebelum dibuat menjadi simplisia	
Simplisia kulit jeruk limau (<i>Citrus x aurantiifolia</i> (Swingle)) yang telah di keringkan	

<p>Serbuk simplisia</p>	
<p>Massa serbuk simplisia saat pengecekan kadar air 1</p>	
<p>Kadar air 1</p>	

<p>Massa simplisia pengecekan kadar air 2</p>	 <p>The image shows an Ohaus MB103 analytical balance with a stainless steel weighing pan containing a small amount of yellow powder. The digital display shows a mass of 0.993 g. The screen also displays 'Method library', 'Current method: APL01', 'Drying program: Standard', 'Drying temperature: 70 °C', 'Target weight: 1.0000 g', and 'Close cover to'. The date and time are 01.01.2020 - 00:19.</p>
<p>Kadar air 2</p>	 <p>The image shows the Ohaus MB103 analytical balance with the weighing pan empty. The digital display shows a moisture content of 7.34 %MC. The screen also displays 'Method library', 'Current method: APL01', 'Drying program: Standard', 'Drying temperature: 103 °C', 'Switch-off time: 6:29 min', and 'Drying over, press tare'. The date and time are 01.01.2020 - 00:26.</p>
<p>Massa saat pengecekan kadar air 3</p>	 <p>The image shows the Ohaus MB103 analytical balance with the stainless steel weighing pan containing the yellow powder. The digital display shows a mass of 0.992 g. The screen also displays 'Method library', 'Current method: APL01', 'Drying program: Standard', 'Drying temperature: 95 °C', and 'Administrator'. The date and time are 01.01.2020 - 00:27.</p>

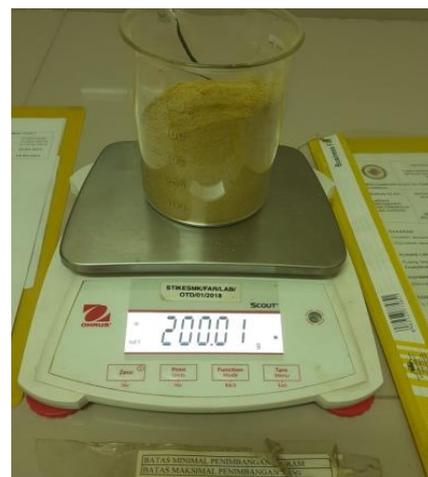
Kadar air 3



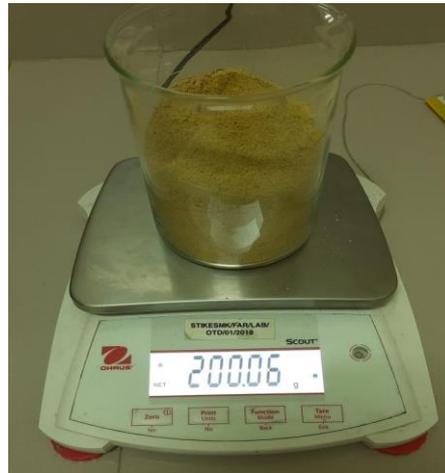
Penimbangan serbuk simplisia sebelum ekstraksi 1



Penimbangan serbuk simplisia sebelum ekstraksi 2



Penimbangan serbuk simplisia
sebelum ekstraksi

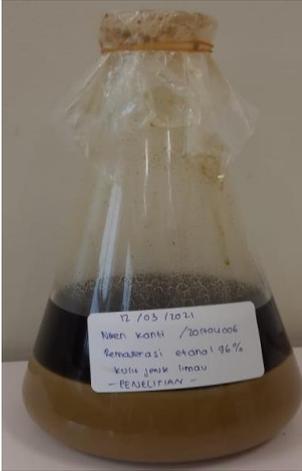
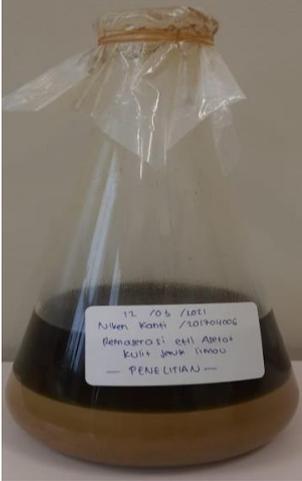


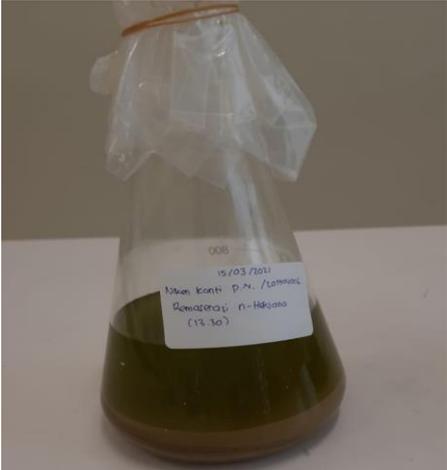
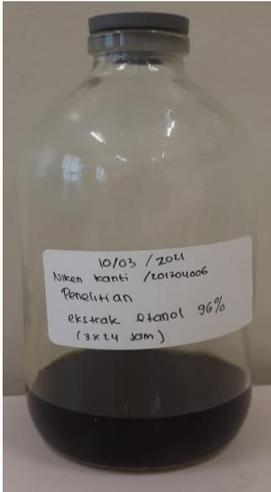
Proses maserasi kulit jeruk
limau dengan pelarut etanol, dan
etil asetat

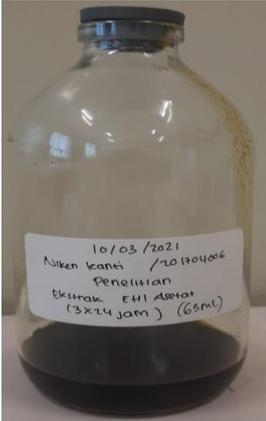
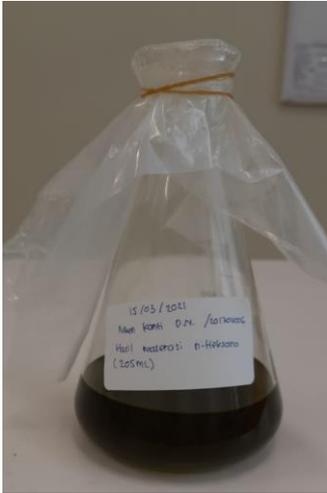


Penyaringan ekstrak



<p>Ekstraksi kulit jeruk limau dengan pelarut n-Heksan</p>	
<p>Remaserasi etanol 96%</p>	
<p>Remaserasi Etil Asetat</p>	

Remaserasi n-Heksan	
Penyaringan remaserasi	
Ekstrak cair Etanol 96% kulit jeruk limau	

<p>Ekstrak cair Etil Asetat kulit jeruk limau</p>	
<p>Ekstrak cair n-Heksan Kulit jeruk limau</p>	
<p>Ekstrak cair setelah di rotary evaporator di uapkan untuk mendapatkan ekstrak kental</p>	

Ekstrak cair setelah di rotary evaporator di uapkan untuk mendapatkan ekstrak kental



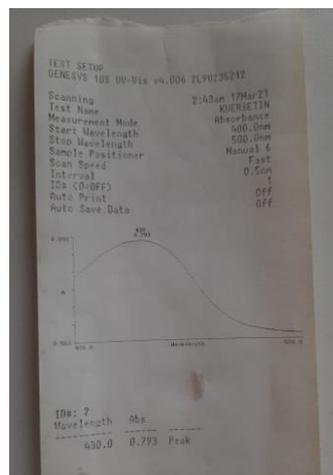
Ekstrak cair setelah di rotary evaporator di uapkan untuk mendapatkan ekstrak kental



Keterangan	Gambar
Penimbangan	 A digital scale (BEADAM PW 214) with a stainless steel weighing pan. The display shows 5002 mg. The scale has a power button, a print button, a setup button, a mode button, and a unit button. The maximum capacity is 210g and the readability is 0.0001g.
Penimbangan	 A digital scale (BEADAM PW 214) with a stainless steel weighing pan. The display shows 5008 mg. The scale has a power button, a print button, a setup button, a mode button, and a unit button. The maximum capacity is 210g and the readability is 0.0001g.
Penimbangan baku kuersetin	 A digital scale (BEADAM PW 214) with a stainless steel weighing pan. The display shows 103 mg. The scale has a power button, a print button, a setup button, a mode button, and a unit button. The maximum capacity is 210g and the readability is 0.0001g.

Larutan baku kuersetin 400ppm	
Larutan reagen AlCl_3	
Larutan reagen CH_3COOK	

Hasil penetapan panjang gelombang baku kersetin



Larutan seri konsentrasi baku kuersetin



Larutan seri konsentrasi baku kuersetin (*Operating Time*)



Keterangan	Gambar
Penimbangan ekstrak kental etanol 96% replikasi 1	 A digital scale (BEADAM PW 214) with a stainless steel weighing pan. The display shows a weight of 00.157 g. The scale has a maximum capacity of 210g and a readability of 0.0001g. The control panel includes a power button, a circular navigation pad with 'Cal', 'Print', 'Setup', 'Mode', and 'Unit' buttons, and two 'O/T' buttons.
Penimbangan ekstrak kental etanol 96% replikasi 2	 A digital scale (BEADAM PW 214) with a stainless steel weighing pan. The display shows a weight of 00.155 g. The scale has a maximum capacity of 210g and a readability of 0.0001g. The control panel includes a power button, a circular navigation pad with 'Cal', 'Print', 'Setup', 'Mode', and 'Unit' buttons, and two 'O/T' buttons.

Penimbangan ekstrak kental etanol 96%



Penimbangan ekstrak kental etil asetat replikasi 1



Penimbangan ekstrak kental etil asetat replikasi 2



Penimbangan ekstrak kental etil
asetat replikasi 3



Penimbangan ekstrak kental n-
Heksan replikasi 1



Penimbangan ekstrak kental n-
Heksan replikasi 2



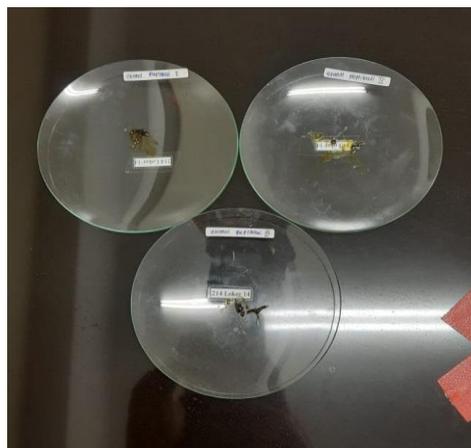
Penimbangan ekstrak kental n-
Heksan replikasi 3



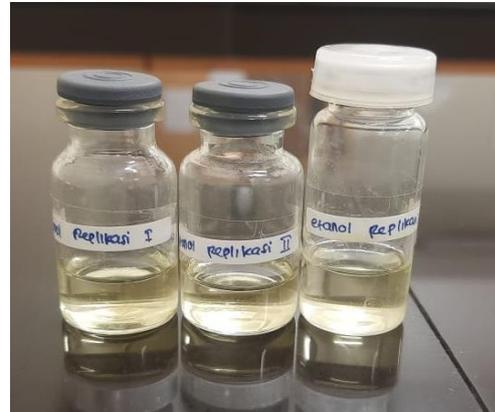
Ekstrak kental etil asetat



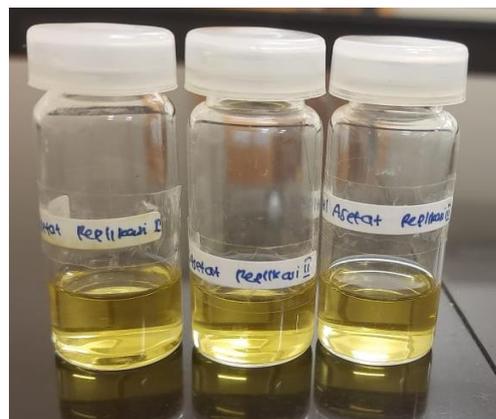
Ekstrak kental etanol 96%



Larutan ekstrak etanol 96% kulit jeruk limau



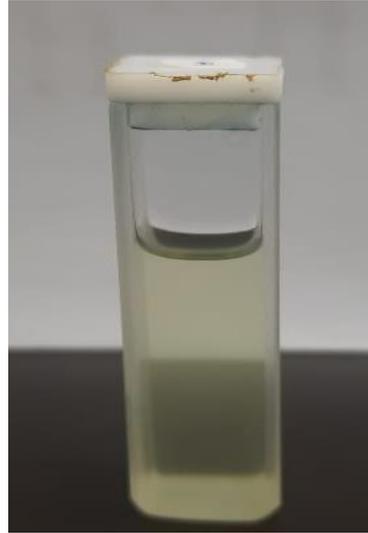
Larutan ekstrak etil asetat kulit jeruk limau



Larutan ekstrak setelah di
"running" pada
spektrofotometer UV-Vis



Larutan ekstrak setelah di
"running" pada
spektrofotometer UV-Vis



Larutan ekstrak setelah di
"running" pada
spektrofotometer UV-Vis



