

IDENTIFIKASI KANDUNGAN SENYAWA FLAVONOID EKSTRAK KULIT BUAH JERUK BALI (*Citrus maxima* Merr.) SECARA KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS

Nurul Hidayah Base*)

*) Akademi Farmasi Yamasi Makassar

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian identifikasi kandungan senyawa flavonoid ekstrak kulit buah jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.) secara Kromatografi Lapis Tipis. Penelitian ini adalah penelitian observasi laboratorium dengan tujuan untuk mengidentifikasi kandungan flavonoid pada kulit jeruk bali yang diekstraksi secara maserasi menggunakan cairan penyari etanol 96%. Pada hasil penelitian diperoleh rendemen ekstrak etanol kulit jeruk Bali sebesar 18%, uji reaksi warna dan metode kromatografi lapis tipis, ekstrak etanol kulit buah jeruk Bali positif mengandung senyawa flavonoid dengan nilai Retardation factor (Rf) 0,85 cm.

Kata Kunci : identifikasi, flavonoid, Jeruk Bali, Maserasi, Kromatografi Lapis Tipis.

PENDAHULUAN

Tanaman merupakan keragaman hayati yang selalu ada disekitar kita, baik itu yang tumbuh secara liar maupun yang sengaja dibudidayakan, sejak zaman dahulu, tumbuhan sudah digunakan sebagai tanaman obat, walaupun penggunaannya disebarakan secara turun temurun. Penelitian tentang tanaman obat telah banyak dilakukan, demikian pula dukungan pemerintah tentang penggunaan tanaman obat sangat besar (Latief, 2013). Jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) merupakan tanaman buah yang mengandung banyak komponen nutrisi yang bermanfaat untuk mengatasi masalah kesehatan di antaranya dapat mencegah penyakit kanker, menjaga daya tahan tubuh, mencegah penuaan dini, yang dimana merupakan antioksidan serta menurunkan kolesterol dan tekanan darah tinggi, dan dapat melancarkan pencernaan dan kulit buahnya yang mengandung minyak atsiri berpotensi untuk dikembangkan sebagai bahan obat (Komang, 2017).

Di sebagian besar wilayah Indonesia, kulit jeruk bali belum dimanfaatkan secara optimal menjadi produk yang bernilai ekonomis tinggi dan biasanya hanya dibuang sebagai limbah. Limbah kulit jeruk bali dapat diolah menjadi produk yang berguna dan lebih bernilai ekonomis (Komang, 2017). Produksi jeruk bali di berbagai daerah di Indonesia mencapai 110.000 ton pertahunnya dan hampir 50% kulit jeruk yang dihasilkan belum

termanfaatkan. Sebagian besar komponen jeruk bali terletak pada kulitnya, di antaranya terdapat senyawa alkaloid, flavonoid, likopen, dan vitamin C (Suhendra, 2013).

Dilihat dari beberapa senyawa yang terdapat pada kulit jeruk bali yang dimana merupakan sumber antioksidan alami untuk itu perlu adanya penanganan limbah kulit jeruk bali sehingga senyawa yang terdapat didalamnya terutama senyawa yang bersifat antioksidan bias dimanfaatkan (Suparni, 2012). Manfaat kulit jeruk bali yang paling terkenal adalah membantu meredakan batuk, menurunkan kolesterol, menurunkan panas, menyembuhkan peradangan, antibiotik, mencegah kanker kulit dan paru-paru, mengobati gangguan saluran pencernaan, menambah nafsu makan serta menghilangkan bau badan (Utami, 2013).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenolik alam yang telah banyak diteliti belakangan ini, dimana flavonoid memiliki kemampuan untuk merubah atau mereduksi radikal bebas dan juga sebagai anti radikal bebas. Senyawa flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan termasuk daun, akar, kayu, kulit, tepung sari, bunga, buah dan biji. Kebanyakan flavonoid ini berada dalam tumbuhan. Flavonoid yang terdapat didalam tumbuhan dapat digunakan sebagai pelindung tubuh manusia dari radikal bebas dan dapat mengurangi resiko penyakit kanker dan peradangan serta dapat digunakan sebagai antibakteri dikarenakan kandungan anti

oksidannya (Sarastani, 2015).Penggolongan jenis flavonoid dalam jaringan tumbuhan mula-mula didasarkan kepada sifat kelarutan dan reaksi warna. Kemudian diikuti dengan pemeriksaan ekstrak tumbuhan yang telah dihidrolisis, secara kromatografi satu arah, dan pemeriksaan ekstrak etanol secara dua arah.

Akhirnya, flavonoid dapat dipisahkan dengan cara kromatografi. Komponen masing-masing diidentifikasi dengan membandingkan kromatografi dan spektrum, dengan memakai senyawa pembanding yang sudah dikenal. Senyawa baru yang sudah ditemukan sewaktu menelaah memerlukan pemeriksaan kimia dan spektrum yang lebih terinci (Harborne, 1996).

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimen laboratorium yaitu identifikasi kandungan senyawa flavonoid ekstrak kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) secara kromatografi lapis tipis.

Alat yang digunakan

Aluminium Foil, Beker Gelas, Botol vial, dan Chamber, Corong Pisah, Gelas Ukur 100 ml, 1000 ml, gelas kimia, Gunting, Gegep, Botol semprot, Label, Lempe KLT, Bejana (wadah maserasi), Timbangan, Kertas Saring, Pensil, Penggaris, Water Bath, Pipet Tetes, Oven, Tabung Reaksi, Lampu UV 366 nm, Kain Flanel, Batang Pengaduk, Handscoen, Masker, Cawan Petri, Pipa Penotol, Bunsen, Rotavapor.

Bahan yang digunakan

Aquadest, Ekstrak Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima* Merr.), Etil Asetat, larutan besi III klorida, Etanol 96%, Kloroform, n-heksan, serbuk Mg, Seng (Zn), 10%, pereaksi AlCl₃ (aluminium klorida).

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Fitokimia Akademi Farmasi Yamasi Makassar pada bulan Juli 2017.

METODE KERJA

Sampel berupa kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) yang akan digunakan diperoleh dari salah satu pedagang buah-buahan dipasar pabbaeng-baeng jalan sultan alauddin nomor 64 makassar.

Pengolahan Sampel

Buah jeruk bali yang sudah diperoleh kemudian dikupas untuk dipisahkan dari kulitnya pada saat proses pengupasan buah untuk mengambil kulitnya diusahakan pengirisan kulit tidak terlalu tebal cukup hanya bagian kulit terluarnya yang akan digunakan, perlu diketahui pada saat pengupasan kulit jeruk bali alat pengupas yang digunakan diusahakan terbuat dari aluminium agar tidak mempengaruhi kandungan pada kulit jeruk bali kemudian dibersihkan dengan air hingga kotoran dan debu lainnya hilang, kemudian dipotong kecil-kecil dengan ukuran 5 cm, dan ditiriskan agar sisa air yang terdapat pada sampel kulit jeruk bali setelah pencucian dapat berkurang hal ini dilakukan untuk mencegah terjadinya kerusakan pada sampel sebelum diolah dan untuk mempercepat proses pengeringan pada sampel, selanjutnya pengeringan kulit jeruk bali dilakukan pada pagi hari dari pukul 07:00 - 10:00 WITA dan pada sore hari dari pukul 15:00 - 17:00 WITA dengan cara dikeringkan pada tempat yang tidak terkena sinar matahari langsung dan ditutup dengan kain berwarna hitam.

Ekstraksi secara maserasi

Preparasi ekstrak untuk uji KLT kulit jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) yang telah dikeringkan dan ditimbang Sebanyak 250 gram ditaruh dalam wadah kemudian ditambahkan pelarut etanol 96 % dua kali jumlah sampel untuk melembabkan simplisia dan ditutup dengan aluminium foil dan didiamkan kurang lebih tiga jam setelah tiga jam sampel yang telah dilembabkan dimasukkan kedalam wadah maserasi dan ditambahkan pelarut etanol 96% sampai batas 2 cm diatas ekstrak maserasi yang ada dalam wadah, kemudian dibiarkan selama 5 hari didalam wadah maserasi tertutup rapat dan terlindung dari cahaya sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari, dilakukan penyarian untuk memisahkan cairan dari residu dilakukan remaserasi. Hasil ekstrak etanol kemudian diuapkan dengan menggunakan rotavapor sampai diperoleh ekstrak pekat. Hasil ekstrak pekat yang diperoleh dari hasil uapan rotavapor diuapkan lagi diatas waterbath, kemudian sebagian dimasukkan kedalam vial untuk diidentifikasi secara kromatografi lapis tipis (KLT).

Fraksinasi

Ekstrak kental yang diperoleh ditimbang sebanyak 500 mg, terlebih dahulu disuspensikan dengan air sebanyak 25 ml hingga larut sempurna kemudian ditambahkan dengan pelarut n-heksan sebanyak 3 x 10 ml lalu dimasukkan kedalam corong pisah dikocok kuat beberapa saat kemudian

didiamkan hingga terbentuk dua lapisan untuk lapisan air ditampung dalam wadah. Selanjutnya lapisan air dimasukkan kembali kedalam corong pisah dan ditambah pelarut etil asetat sebanyak 3 x 10 ml dikocok kuat beberapa saat kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan untuk lapisan air disimpan dalam wadah, kemudian lapisan etil asetat diuapkan hingga diperoleh volume ekstrak kurang lebih 10 ml, selanjutnya diidentifikasi dengan reaksi warna dan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis).

Identifikasi Menggunakan Reaksi Warna

- a. Ekstrak uji 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi, diuapkan di penangas air hingga kering ditambahkan 2-3 tetes etanol, kemudian ditambahkan dengan serbuk Mg dan beberapa tetes asam klorida 5M. Menghasilkan warna orange, merah hingga kuning yang timbul menandakan adanya senyawa flavanon, flavonol, flavanonol (Endang, 2015)
- b. Larutan uji dipipet 1ml dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 2-3 tetes etanol, kemudian ditambahkan dengan serbuk seng (Zn) dan beberapa tetes asam klorida 5M. Hanya senyawa dihidriflavonol yang menimbulkan warna merah hingga merah lembayung. Flavanon dan flavonoid tidak berwarna atau warna merah muda lemah.
- c. Larutan uji 1 ml dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 2-3 tetes etanol, kemudian ditambahkan larutan besi (III) klorida. Flavonoid yang memiliki gugus hidroksil bebas pada cincin A akan menimbulkan warna hijau biru setelah penambahan larutan ini.

Identifikasi komponen kimia secara kromatografi (KLT)

- a. Pengaktifan lempeng kromatografi lapis tipis (KLT)
Lempeng kromatografi lapis tipis diaktifkan dengan cara dipanaskan dalam oven pada suhu 50°C - 60°C selama 30 menit lalu dikeluarkan kemudian, dibuat garis lurus pada lempeng kira-kira 1 cm sebagai batas bawah dan 0,5 cm sebagai batas atas.
- b. Pembuatan cairan pengelusi
Cairan yang digunakan untuk pembuatan elusi yaitu etil asetat : etanol : air dengan perbandingan (15 : 6 : 1), pertama etil asetat dan etanol dicampur terlebih dahulu, kemudian ditambahkan air sedikit demi sedikit sambil dilakukan pengocokan dan didiamkan beberapa saat kemudian pengelusi yang telah dibuat dimasukkan kedalam chamber.
- c. Penjenuhan eluen
Kertas saring dipotong memanjang dimasukkan dari dasar chamber yang berisi cairan pengelusi sehingga menjulur keluar kemudian ditutup. Eluen atau cairan pengelusi yang dimasukkan kedalam chamber dikatakan jenuh bila seluruh bagian kertas saring menjulur keluar dari batasan chamber.
- d. Identifikasi senyawa
Larutan uji ditotolkan pada lempeng silika gel KLT, lalu dielusi dengan cairan pengelusi etil asetat : etanol : air dengan perbandingan (15 : 6 : 1). Warna noda atau senyawa yang diperoleh diamati dibawah lampu sinar UV 366 nm, dicatat bercak noda dan dihitung nilai puncak Rf dari lempeng tersebut.
- e. Penyemprotan dengan pereaksi $AlCl_3$
Setelah diketahui noda pada sinar UV selanjutnya disemprot dengan pereaksi $AlCl_3$, diamati noda warna yang dihasilkan.
- f. Nilai Rf
Setelah noda tampak kemudian dihitung nilai Rf-nya dengan menggunakan rumus :

HASIL PENELITIAN

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi kandungan senyawa flavonoid ekstrak kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT).

Tabel Hasil Rendemen kulit jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.)

No.	Berat Simplisia (gram)	Jumlah pelarut (ml)	Hasil ekstrak (gram)	Rendemen ekstrak (%)
1.	250	2800	45	18

Tabel Hasil Uji Reaksi Warna

No.	Pereaksi	Hasil	Pustaka	Keterangan
1.	Aquadest + Serbuk Mg + HCL Pekat	↓ Kuning / Orange	Orange, Merah, Kuning	(+) Senyawa Flavonol atau Flavonon
2.	Etanol + Serbuk seng + HCL Pekat	↓ Merah	Merah, Merah lembayung	(+) Senyawa dihidroflavonol
3.	Etanol + FeCl ₃	↓ Biru gelap	Hijau Kebiruan	(+) Senyawa Flavonoid

Tabel Hasil uji kromatografi lapis tipis, senyawa flavonoid ekstrak kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) menggunakan sinar UV, dan penyemprotan pereaksi AlCl₃

No	Fraksi	Nilai Rf	Sinar UV 366	AlCl ₃
1	Etil asetat : Etanol : Air (15 : 6 : 1)	0,85	Biru	Kuning

PEMBAHASAN

Tanaman buah jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) merupakan tanaman buah pohonnya tinggi sekitar 5-15 meter, percabangannya rendah dan menyebar. Daun bundar telur sampai jorong, panjang daun 5-20 cm, lebar 2-12 cm, terdapat bercak-bercak kelenjar minyak, perbungaan diketiak, buah bulat berdiameter 10-30 cm, berwarna kuning kehijauan dengan bercak kelenjar yang padat, kulit tebal, bagian dalam merah jingga (Hidayat, 2015).

Kulit buah jeruk bali berkhasiat untuk menurunkan panas, meredakan batuk, menurunkan kolesterol dan mengobati gangguan saluran pencernaan (Utami, 2013). Kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) yang digunakan sebagai sampel untuk pengujian diperoleh dari pedagang buah-buahan dipasar pabaeng-baeng jalan sultan alauddin nomor 64 makassar, selanjutnya kulit jeruk bali dibersihkan dan dijemur dengan tidak terkena cahaya matahari langsung, setelah kulit jeruk bali kering dilakukan proses maserasi yaitu proses penyarian yang sederhana, dengan

cara merendam sampel kulit jeruk bali dalam wadah maserasi dengan cairan penyari etanol 96%, selama 5 hari pada suhu kamar, dan sesekali diaduk hal ini bertujuan untuk mempercepat proses ekstraksi. Setelah maserasinya diperoleh sebanyak 2800 ml kemudian diuapkan dengan rotavapor dengan suhu 50°C, maserasi diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang telah diperoleh kemudian ditimbang dan diperoleh hasil ekstrak kental kulit jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) sebanyak 45 gram dari berat sampel kering 250 gram, dan mendapat hasil rendemen sebanyak 18%. Identifikasi kualitatif tahap ini dilakukan dengan cara reaksi warna, bertujuan untuk mengetahui jenis senyawa flavonoid apa yang terdapat pada tanaman ekstrak kulit jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.). Uji reaksi warna pada penelitian ini dilakukan sebanyak 3 kali dengan 4 pereaksi yaitu serbuk seng, serbuk Mg, FeCl₃, dan HCL pekat. Pengujian pertama ekstrak kental (*Citrus maxima* Merr.) dimasukkan kedalam tabung reaksi dilarutkan dengan aquadest hingga larut, diuapkan dipenangas air

hingga kering lalu ditambahkan 2 sampai 3 tetes etanol 96% kemudian ditambahkan serbuk Mg dan beberapa tetes asam klorida pekat diamati perubahan yang terjadi yaitu menghasilkan warna kuning, dan orange maka uji reaksi warna ekstrak kulit jeruk bali (*Citrus maxima*Merr.) positif mengandung senyawa flavonoid golongan flavanon atau flavonol. Pengujian kedua 1 ml larutan uji dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 2 sampai 3 tetes etanol, kemudian ditambahkan serbuk seng dan beberapa tetes asam klorida pekat. Diamati perubahan yang terjadi yaitu menghasilkan warna merah lembayung positif mengandung senyawa flavonoid golongan hidriflavonol. Pengujian ketiga 1 ml larutan uji (*Citrus maxima*Merr.) dimasukkan kedalam tabung reaksi ditambahkan 2 sampai 3 tetes etanol, kemudian ditambahkan larutan besi (III) klorida diamati perubahan yang terjadi setelah pengamatan menghasilkan warna hijau biru gelap positif mengandung senyawa flavonoid.

Pada pengujian reaksi warna ekstrak kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*Merr.) positif mengandung senyawa flavonoid.Selanjutnya dilakukan identifikasi kandungan senyawa flavonoid ekstrak kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima*Merr.) secara kromatografi lapis tipis(KLT) pada penelitian ini terlebih dahulu dilakukan fraksinasi atau pemisahan senyawa tunggal. Pemisahan yang terjadi pada kromatografi lapis tipis berdasarkan pada adsorpsi, partisi atau kombinasi kedua efek, tergantung pada jenis lempeng, fase diam dan gerak yang digunakan. Pada umumnya, kromatografi lapis tipis lebih banyak digunakan untuk tujuan identifikasi karena cara ini sederhana dan mudah, serta memberikan pilihan fase gerak yang lebih beragam(Endang, 2016).

Proses fraksinasi dilakukan dengan cara ekstrak kental yang diperoleh ditimbang sebanyak 500 mg, disuspensikan dengan air sebanyak 25 ml hingga ekstrak kental larut kemudian ditambah dengan pelarut n-heksan sebanyak 3 x 10 ml lalu dimasukkan kedalam corong pisah dikocok kuat dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan, untuk lapisan air ditampung dalam wadah dan lapisan n-heksan dimasukkan kedalam vial. Selanjutnya lapisan air dimasukkan kedalam corong pisah dan ditambah pelarut etil asetat sebanyak 3 x 10 ml dikocok kuat kembali setelah beberapa saat kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan, untuk lapisan air disimpan dalam wadah dan lapisan etil

asetatnya diuapkan hingga diperoleh ekstrak kurang lebih 10 ml dimasukkan kedalam vial untuk diidentifikasi dengan reaksi warna dan identifikasi kromatografi lapis tipis.

Pada proses ini pertama-tama dilakukan pembuatan cairan pengelusi etil asetat-etanol-air dengan perbandingan (15 : 6 : 1) yaitu etil asetat dan etanol dimasukkan terlebih dahulu kedalam erlemeyer kemudian ditambahkan air sedikit-demi sedikit sambil dikocok beberapa saat dan didiamkan. Pengelusi yang telah dibuat kemudian dimasukkan kedalam chamber, disediakan kertas saring dipotong memanjang dimasukkan kedalam chamber dan ditutup, cairan pengelusi dikatakan jenuh jika seluruh bagian kertas saring menjulur keluar dari chamber. Lempeng KLT terlebih dahulu diaktifkan dengan cara dipanaskan didalam oven selama 30 menit dengan suhu 50°C diberi garis batas bawah 1 cm dan garis batas atas 0,5 cm, kemudian larutan uji ditotolkan pada lempeng KLT dan dilanjutkan dengan deteksi bercak pada sinar UV.

Pada larutan uji etil asetat warna yang timbul yaitu biru ditandai dengan pensil warna sesuai bercak yang terlihat dari hasil penyemprotan terdapat nodakuning pada Rf 0,85 yang menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah jeruk bali positif mengandung flavonoid , dengan pengelusi yang bersifat polar yaitu etil asetat-etanol-air (15: 6:1).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Berdasarkan uji kualitatif ekstrak kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.) dengan menggunakan metode reaksi warna menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah jeruk bali positif mengandung flavonoid.
2. Berdasarkan pengujian menggunakan metode kromatografilapis tipis (KLT) pada pengelusi pelarut polar etil asetat-etanol-air, positif mengandung flavonoid dengan satu noda nilai Rf : 0,85. Pada larutan uji n-heksan tidak menimbulkan warna, dengan alasan pada proses fraksinasi sudah dilakukan proses pemisahan senyawa tunggal.

SARAN

Hasil yang diperoleh setelah melakukan penelitian ini, disarankan agar dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai bentuk sediaan farmasi yang cocok dengan menggunakan ekstrak kulit buah jeruk bali (*Citrus maxima* Merr.).

DAFTAR PUSTAKA

- BPOM RI, 2008. *Taksonomi Koleksi Tanaman Obat, Kebun Tanaman Obat*. Citereup. Direktorat Obat Asli Indonesia. Jakarta Pusat.
- Endang, H., 2016. *Analisis Fitokimia*. Buku Kedokteran EGC, Jakarta
- Harbone, J. B. 1996. *Metode Fitokimia Terbitan ke II*. Kosasih padmawinata. ITB, Bandung.
- Hidayat, S. dan Rodame N., 2015. *Kitab Tumbuhan Obat*. Syawadaya Grup, Jakarta.
- Hostettman, K. Dkk. 1995. *Cara Kromatografi Preparatif*. ITB. Bandung
- Komang dkk., 2017. *Kandungan Kimia Minyak Atsiri Kulit Buah Jeruk Bali (Citrus Maxima) serta uji Aktifitas Antibakteri terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran. Indonesia.*
- Latif, A, 2013. *Obat Tradisional*, Gava Meia, Jakarta.
- Mukhriani, 2014. *Ekstraksi Pemisahan Senyawa Dan Identifikasi Senyawa Aktif*. Jurnal Farmasi. Indoensia , Jakarta.
- Sarastani, D.; Suwarna T.S; Tien . 2015. *Aktifitas Anti Oksidan Ekstrak dan Fraksi Ekstrak Biji Atung*. Jurnal Teknologi Industri Pangan. Vol XIII. No 2. 149-156.
- Suhendra, H. 2013. *Buah Lokal: Pamelon, Jeruk Asli Indonesia Yang Terabaikan*. [Http://Industri.Bisnis.com/Read/20130710/99/149975/Buah-Lokal-pamelon-jeruk-asli-indonesia-yang-terabaikan](http://Industri.Bisnis.com/Read/20130710/99/149975/Buah-Lokal-pamelon-jeruk-asli-indonesia-yang-terabaikan) diakses pada 25 agustus 2017 pada pukul 12.45 WITA.
- Suparni, 2012. *Herbal Nusantara 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia*. Rapha Publishing, Yogyakarta.
- Utami, P, 2013. *The Miracle Of Herbs*. Agromedia Pustaka. Jakarta