



Analisis Penetapan Kadar Flavonoid Sari Jeruk Kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) Dengan Metode Spektrofotometri UV-VIS

Nurfijrin Ramadhani¹, Agung Giri Samudra¹, Lea Wati Indah Pratiwi²

¹Program Studi S1 Farmasi, Universitas Bengkulu

²Program Diploma Farmasi Akademi Farmasi Al-Fatah

ABSTRAK

Jeruk kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) banyak terdapat di Kota Bengkulu serta merupakan salah satu produk unggulan di Kota Bengkulu. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi dan mengetahui berapa kadar senyawa flavonoid yang terkandung dalam sari buah jeruk kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*). Penelitian ini didahului dengan uji kualitatif menggunakan serbuk magnesium untuk mengidentifikasi senyawa flavonoid. Selanjutnya dilanjutkan dengan uji kuantitatif dengan membuat seri kadar kuersetin yaitu 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm dengan menggunakan metode spektrofotometri. Data absorbansi yang diperoleh kemudian

dihitung kadarnya. Hasil penelitian uji kualitatif menunjukkan bahwa sari jeruk kalamansi positif mengandung flavonoid dan hasil kadar flavonoid yang diperoleh dengan metode spektrofotometri yaitu 10,958 mg/QE.

Kata Kunci : Sari Jeruk Kalamansi, *Citrofortunella microcarpa*, Spektrofotometri, Flavonoid

Penulis Korespondensi :

Nurfijrin Ramadhani

Program Studi S1 Farmasi, Universitas Bengkulu

E-mail : nurfijrin@gmail.com

PENDAHULUAN

Kalamansi diklasifikasikan sebagai buah sitrus, meliputi lemon dan limau, memiliki daging berwarna jingga, berair, asam, dan memiliki kemiripan rasa seperti jeruk nipis (Surlitah,2017). Jeruk kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*) memiliki nilai ekonomis yang penting karena bergizi tinggi terutama kandungan antioksidan dari vitamin C yang sangat kuat dan mineralnya sehingga digunakan sebagai bahan dalam pembuatan minuman. Vitamin c sebagai zat

pereduksi dapat bertindak sebagai antioksidan, memiliki efek yang baik dalam meredam radikal bebas yang dapat merusak sel atau jaringan termasuk melindungi lensa dari kerusakan oksidatif yang ditimbulkan oleh radiasi (Edan,2016).

Jeruk kalamansi banyak terdapat di provinsi Bengkulu. Jeruk kalamansi banyak digunakan bahan baku utama pada industri olahan sirup buah. Industri pengolahan sirup buah ini menghasilkan

limbah berupa kulit dan kulit daging buah hasil pengepresan buah. (Rosalina,dkk.2017). Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antioksidan. Golongan flavonoid yang bersifat antioksidan yaitu meliputi flavon, flavonol, kaateksin, dan kalkon (Wulandari,dkk.2013). Flavanon merupakan flavonoid jeruk yang sangat penting, dan beberapa senyawa lainnya bertanggung jawab atas rasa kepahitan jeruk, seperti naringin, neohesperidin, neoeriocitrin dan poncirin (Li, S. W. *et al.* 2014). Flavonoid, seperti poncirin, dydimin, neohesperidin, hesperidin, narirutin, diosmin, dan isorhoifolin diperoleh dari bubuk pulp calamodin kering yang diekstraksi dengan metanol 80% (Ramful. *et al.* 2011)

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan Penelitian

1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu, timbangan analitik, perasan jeruk, gelas ukur (pyrex), batang pengaduk, erlenmeyer (pyrex), pipet volume (pyrex), tabung reaksi, seperangkat alat spektrofotometri UV-Vis (thermo).

2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu, buah jeruk kalamansi, serbuk Mg, HCl pekat (Sigma Aldrich), *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH), kuersetin, AlCl₃, asam asetat, etanol 96% , aquadest (p.a).

B. Prosedur Kerja Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah buah jeruk kalamansi yang diambil dari kota Bengkulu tepatnya pada kelurahan Surabaya kecamatan Sungai Serut. Pengambilan sampel dilakukan pada saat buah masih segar dan sudah masak lalu buah tersebut dikumpulkan dan telah dilakukan determinasi tanaman.

2. Pengambilan Sari Buah Jeruk Kalamansi

Sari buah jeruk kalamansi diambil dengan cara diperas menggunakan alat perasan. Sebelum sari buah jeruk diambil maka buah jeruk dibersihkan terlebih dahulu menggunakan air yang mengalir, lalu diamkan beberapa saat sampai permukaan buahnya kering. Setelah itu belah buah jeruk menjadi 2 bagian yang sama besar, kemudian peras buah jeruk menggunakan alat perasan yang sudah di siapkan.. Buah jeruk kalamansi yang sudah didapatkan sarinya kemudian dilakukan penyimpanan dalam wadah tertutup rapat dan berwarna gelap agar mutu sari buah terjaga.

3. Uji Skrining Flavonoid Sari Buah Jeruk Kalamansi

Sebanyak 3 ml larutan sampel dimasukkan kedalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan serbuk magnesium dan asam klorida pekat 5 tetes. Positif mengandung flavonoid jika

menghasilkan warna kuning, orange dan merah (Nafisah,dkk. 2014).

4. Penentuan Operating Time

1 ml larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL AlCl₃ 10% dan asam asetat 5% sejumlah 8 ml Larutan tersebut diukur absorbansinya pada panjang gelombang yang telah diperoleh dengan interval pada waktu 5 menit sampai diperoleh absorbansi yang stabil (Anna dan Noverda, 2017).

5. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan kuersetin 100 ppm diambil sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Lakukan pembacaan dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 350-450 nm (Das,dkk.2013).

6. Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Larutan induk kuersetin 100 ppm dibuat dengan menggunakan kuersetin sebagai baku standar. Dibuat seri kadar sebesar 20, 40, 80 dan 100 ppm. Sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi dimasukkan, direaksikan dengan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 mL asam asetat 5%. pembacaan absorbansi seri kurva baku dilakukan setelah didiamkan selama 15 menit menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Anna dan Noverda, 2017).

7. Penentuan Flavonoid Total

Sari buah jeruk kalamansi 100 mg diencerkan dengan etanol sampai 10ml

diambil masing-masing sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl₃ 10% dan 8 ml asam asetat 5% didiamkan selama 15 menit . Dilakukan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang maksimum. Pembacaan absorbansi sampel dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali (Anna dan Noverda, 2017).

8. Analisis Data

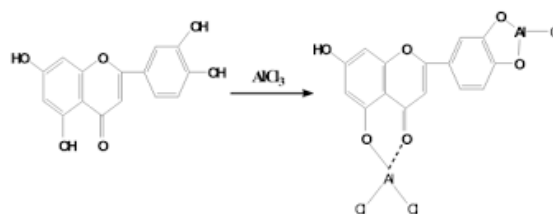
Data yang diperoleh merupakan data primer yang didapatkan dari absorbansi larutan pembanding kuersetin, dibuat kurva kalibrasi dan diperoleh persamaan regresi linear. Kadar total dari senyawa dihitung dengan memasukkan kedalam persamaan regresi linear $y = ax - b$, yang diperoleh dari kurva kalibrasi pembanding dan hasil dinyatakan dalam satuan mg dalam ml. Kandungan flavonoid total dalam tumbuhan dinyatakan dalam QE (*Quercetin Ekvivalen*) yaitu jumlah kesetaraan milligram rutin dalam mililiter sampel (Rajauria and Tiwari, 2018).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Jeruk kalamansi tersebut sudah dilakukan determinasi tanaman di Laboratorium Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Bengkulu yaitu menunjukkan bahwa tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar merupakan Jeruk kalamansi (*Citrofortunella microcarpa*). Hasil uji skrining flavonoid sari jeruk kalamansi, yang diperoleh yaitu

positif mengandung flavonoid karena menghasilkan warna kuning. Hasil warna kuning diperoleh dari reaksi gugus hidroksi dari flavonoid dengan serbuk Mg yang membentuk suatu kompleks (*Quercetin Ekvivalen*)

Hasil penelitian menunjukkan perubahan warna yang sesuai dengan teori dan menandakan hasil yang positif. Sehingga didalam sari jeruk kalamansi mengandung adanya flavonoid. Perubahan warna ini disebabkan terjadinya pembentukan kelat antara kuersetin dan magnesium (Gosh,*et al.* 2015). Senyawa yang digunakan sebagai standar pada penetapan kadar flavonoid ini adalah kuersetin, dikarenakan kuersetin merupakan salah satu standar dari flavonoid yang terkandung di dalam kalamansi (Lou, *et al.*2014). Dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang diperoleh yaitu 414 nm pada absorbansi 0,255 dengan konsentrasi 60 ppm. Pada pengukuran kadar flavonoid dilakukan penambahan AlCl_3 yang dapat membentuk kompleks dengan kuersetin, sehingga terjadi penggeseran panjang gelombang kearah *visible* (nampak) ditandai dengan larutan menghasilkan warna yang lebih kuning (Chang,*et al.*2002).



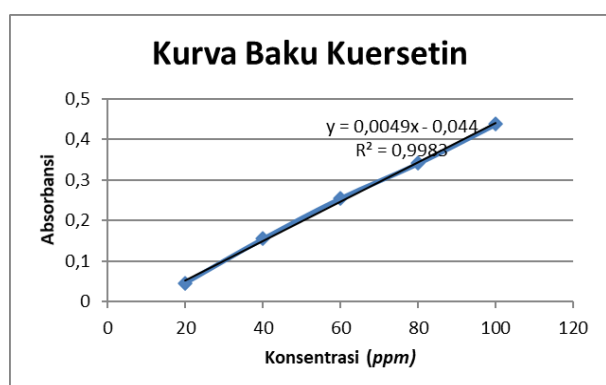
Gambar 1. Proses Pembentukan Komplek Flavonoid- AlCl_3 (Guntarti,*et al.*2017).

Pada penentuan kurva baku kuersetin, sari jeruk kalamansi sebelumnya di buat terlebih dahulu serikadar sebesar 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm,dan 100 ppm. Sebanyak 1 mL larutan seri kadar dari masing-masing konsentrasi dimasukkan, direaksikan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5%. Didiamkan selama 15 menit pembacaan absorbansi seri kadar dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 414 nm (Anna dan Noverda, 2017).. Pada penentuan flavonoid total Seri kadar sari buah jeruk kalamansi 1000 ppm diambil masing-masing sebanyak 1 mL, ditambahkan dengan 1 mL AlCl_3 10% dan 8 mL asam asetat 5% didiamkan selama 15 menit (Anna dan Noverda, 2017). AlCl_3 digunakan untuk pembentukan kompleks dengan gugus hidroksi pada flavonoid sehingga menghasilkan warna agar dapat diukur dengan spektrofotometri visibel, sedangkan penambahan asam asetat dilakuan untuk memberikan kondisi asam pada kompleks yang terjadi (Mabry *et al.* 1970). Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 414 nm. Pembacaan absorbansi sampel

dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali replikasi untuk keperluan akurasi data. Kandungan flavonoid total dalam tumbuhan dinyatakan dalam QE (*Quercetin Ekivalen*) yaitu jumlah kesetaraan milligram rutin dalam mililiter sampel (Rajauria and Tiwari, 2018).

Tabel I. Hasil Absorbansi Kurva Baku

No.	Konsentrasi	Absorbansi
1.	20 ppm	0,046
2.	40 ppm	0,155
3.	60 ppm	0,255
4.	80 ppm	0,341
5.	100 ppm	0,438



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Kuersetin

Tabel II. Hasil Perhitungan Rata-rata Absorbansi Sampel

No.	Sampel	Absorbansi	Rata-rata absorbansi Flavonoid
1.	1	0,006	0,0066
2.	2	0,007	
3.	3	0,007	

Dari kurva kalibrasi flavonoid total diperoleh persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0049x - 0,044$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,998. Nilai r yang mendekati angka 1 menunjukkan kurva kalibrasi linier dan terdapat hubungan antara konsentrasi larutan kuersetin

dengan meningkatkan konsentrasi, maka absorbansi juga akan meningkat. Sampel dengan konsentrasi 1mg/ml diukur pada spektrofotometri dengan panjang gelombang 414 nm. Diperoleh absorbansi sampel dengan replikasi 1 : 0,006 mg/ml, replikasi 2 : 0,007 mg/ml, dan replikasi 3 : 0,007 mg/ml. Kadar flavonoid dinyatakan dalam *Quercetin Equivaent* QE sehingga didapat flavonoid 10,958 mg/ml QE.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan bahwa hasil analisa kualitatif menunjukkan bahwa sari jeruk kalamansi positif dan dari sampel 1mg/ml mengandung flavonoid dengan kadar 10,958 mg/ml QE.

DAFTAR PUSTAKA

- Chang, C. C., Yang, M. H., Chern, J. C. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178-182.
- Das, N., Md. E. Islam., N. Jahan., M. S. Islam., A. Khan, Md. R. Islam, & Mst. S. Parvin. 2014. *Antioxidant Activities of Ethanol Extracts and Fractions of Crescentia cujete Leaves and Stembark and The Involvement of Phenolic Compounds*. *BMC Complementary and Alternative Medicine*.14-45.
- Dhar Pubali, 2013. *Characterization Of Antioxidants And Antioxidative Properties Of Various Unifloral Honeys Procured From West Bengal, India*. Article. .

- <https://www.researchgate.net/publication/259214092>
- Edan, 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta.
- Ghosh N, Chakraborty T, Mallick S, et al. 2015. Synthesis, characterization and study of antioxidant activity of quercetin-magnesium complex. *Spectrochim Acta A Mol Biomol Spectrosc.*;151:807-813. doi:10.1016/j.saa.2015.07.050
- Guntarti A, Juniati Annisa, Mulki Mughniy Fitri Rizq, 2017. Effect of Regional Variation on the Total Flavonoid Level of Ethanol Extract of Mangosteen (*Garcinia mangostana*) Peels. *JKKI* 2017;8(2):136-143
- Hamzah, Nursalam. 2013. *Analisis Kimia Metode Spektroskopi*. Makassar: Alauddin university press.
- Li, S. W. et al. (2014). Content changes of bitter compounds in 'Guoqing No.1' Satsuma mandarin (*Citrus unshiu* Marc.) during fruit development of consecutive 3 seasons. *Food Chem.* 145, 963–969
- Lou SN, Hsu YS, Ho CT. 2014. Flavonoid compositions and antioxidant activity of calamondin extracts prepared using different solvents. *J Food Drug Anal.*;22(3):290-295. doi:10.1016/j.jfda.2014.01.020
- Nafisah, M., Tukiran, Suyatno, Hidayati, N., 2014, *Phytochemical Screening Test On hexan, Chloroform and Methanol Extracts of Patikan Kebo (Euphorbiae hirtae), Prosiding Seminar Nasional Kimia*, hal.279-286.
- Rajauria, G., & Tiwari, B. K. (2018). *Fruit juices: extraction, composition, quality and analysis*. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=1497554>.
- Ramful D, Tarnus E, Aruoma OI, et al. 2011. Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food Res Int*;44:2088e99.
- Rosalina, Susanti, Karo. 2017. *Kajian Ekstraksi Pektin Dari Limbah Jeruk Rimau Gerga Lebong (Jeruk RGL) Dan Jeruk Kalamansi*. Universitas Begkulu.
- Surlitah, 2017. *Interversi Sari Jeruk Kalamansi (Citrus microcarpa) Terhadap Perubahan Propil Lipid Pada Perempuan Dewasa Kelebihan Berat Badan*. Sekolah Pasca Sarjana Institut Pertanian Bogor.
- Wulandari, R.R. 2013. *Senyawa Flavonoid*. Fakultas Farmasi. Universitas Muhamadiyah Surakarta.