

## STANDARISASI DAN SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JERUK LIMAU (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche)

G. M. D. Putra\*, D. A. Satriawati, N. K. W. Astuti, dan A. A. G. R. Yadnya-Putra

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana  
\*E-mail: mahendradharmap97@gmail.com

### ABSTRAK

Jeruk limau (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche) merupakan tanaman endemik Indonesia yang memiliki potensi besar sebagai obat. Pendekatan kemotaksonomi terhadap daun *C. amblycarpa* dilakukan untuk memprediksi potensinya dalam pengobatan. Sebelum dilakukan pengujian aktivitas farmakologi, serbuk dan ekstrak yang diperoleh dari hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% terlebih dahulu dilakukan studi pendahuluan meliputi perhitungan persentase rendemen ekstrak, pemeriksaan organoleptik dan mikroskopik serbuk, standarisasi serbuk dan ekstrak, dan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari daun *C. amblycarpa*. Standarisasi yang dilakukan meliputi penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu tidak larut asam, penetapan kadar abu larut air, dan penetapan kadar air dari serbuk simplisia dan ekstrak. Skrining fitokimia terhadap ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* meliputi pemeriksaan alkaloid, pemeriksaan flavonoid, pemeriksaan polifenol dan tanin, pemeriksaan glikosida, pemeriksaan steroid dan triterpenoid, pemeriksaan saponin, serta pemeriksaan minyak atsiri. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* mengandung senyawa golongan flavonoid, polifenol dan tanin, glikosida, serta minyak atsiri.

**Kata Kunci:** *Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche, jeruk limau, standarisasi, skrining fitokimia

### ABSTRACT

Lime (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche) is an Indonesian endemic plant that has great potential as a medicine. The chemotaxonomic approach of *C. amblycarpa* leaves was conducted to predict its potency to be medicine. Prior to the pharmacological activities, preliminary study of powder and extract that obtained from the extraction using ethanol 70% as solvent should be carried out, including calculation of percentage of extract yield, organoleptic and microscopic test, standardization for powder and extract, and phytochemical screening to find out the secondary metabolites content of *C. amblycarpa* leaves. Standardization that has been conducted include determination of total ash content, acid-insoluble ash content, water-soluble ash content, and determination of water content for both simplicia powder and extract. Phytochemicals screening for the ethanol 70% extract of *C. amblycarpa* leaves included alkaloid examination, flavonoid examination, polyphenol and tannin examination, glycoside examination, steroid and triterpenoid examination, saponin examination, and essential oil examination. The results of phytochemicals screening showed ethanol 70% extract of *C. amblycarpa* leaves contained flavonoid compounds, polyphenols and tannins, glycoside, and also *Citrus* essential oil.

**Keywords:** *Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche, lime, standardization, phytochemicals screening

### PENDAHULUAN

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi. Dilaporkan bahwa ditemukan 38.000 jenis tanaman dimana 55%-nya merupakan tanaman endemik Indonesia (Triyono, 2013). Masyarakat Indonesia telah terbiasa menggunakan tanaman sebagai obat-obatan dikarenakan kemudahan dalam memperoleh dan membudidayakannya. Salah satu tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional adalah jeruk limau. Jeruk limau (*Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche) merupakan tanaman endemik Indonesia yang berasal dari famili Rutaceae,

genus *Citrus*. Tanaman yang berasal dari genus *Citrus* sudah sangat umum digunakan oleh masyarakat di seluruh dunia untuk pengobatan berbagai penyakit. Banyak penelitian telah membuktikan aktivitas yang dimiliki tanaman genus *Citrus* meliputi aktivitas sebagai antioksidan, hepatoprotektif, kardiovaskular, antibakteri, antiinflamasi, antitumor, dan antiviral (Yi *et al.*, 2017; Jaiswal *et al.*, 2015).

Pemanfaatan jeruk limau untuk pengobatan juga telah banyak diterapkan oleh masyarakat Bali. Menurut Lontar Usada Taru Pramana dikatakan *C. amblycarpa* telah digunakan secara turun temurun untuk mengobati kram dan kesemutan (Putra, 1999).

Dengan dilakukan pendekatan kemotaksonomi untuk pengembangan obat baru, diduga bahwa *C. amblycarpa* memiliki potensi besar untuk dikembangkan menjadi obat alternatif. Penelitian yang telah dilakukan oleh Mulyani dan Hutabarat (2009) membuktikan adanya aktivitas antibakteri *C. amblycarpa* dengan konsentrasi hambat minimal 0,312% v/v untuk minyak atsiri buah, dan 0,039% v/v untuk minyak atsiri daun terhadap *S. aureus*.

Maka dari itu sebelum dilakukan pengujian aktivitas lainnya terhadap tanaman *C. amblycarpa*, diperlukan studi tahap awal yakni standarisasi serbuk simplisia dan ekstrak sesuai dengan syarat umum mutu baku simplisia yang tercantum pada Farmakope Herbal Indonesia (Depkes RI, 2008). Namun, dalam FHI belum tercantum monografi *C. amblycarpa*, maka dari itu hasil standarisasi pada penelitian ini nantinya dapat dijadikan sebagai parameter acuan terhadap mutu simplisia dan ekstrak *C. amblycarpa*. Selain itu juga diperlukan penapisan (skrining) fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun *C. amblycarpa*. Skrining fitokimia juga dapat dijadikan sebagai dasar untuk mengetahui profil bioaktivitas dari *C. amblycarpa* (Wadood *et al.*, 2013; Buhian *et al.*, 2016).

Pada tahapan ekstraksi, pemilihan pelarut sangat mempengaruhi keberhasilan tahap standarisasi dan skrining fitokimia ekstrak. Pada penelitian ini bagian daun *C. amblycarpa* dipilih sebagai sampel dikarenakan kemudahan dalam proses pengumpulan. Selain itu bagian daun tanaman genus *Citrus* juga terkonsentrasi senyawa fitokimia yang berpotensi sebagai obat alternatif (Samraj dan Rajamurgugan, 2017). Setelah diperoleh serbuk simplisia dan ekstrak sesuai dengan persyaratan yang ditentukan serta telah diketahui golongan senyawa fitokimia yang terkandung, maka sampel yang diperoleh nantinya dapat digunakan untuk pengujian tahap selanjutnya.

## MATERI DAN METODE

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan yaitu daun tua *C. amblycarpa* (Hassk.) Osche, etanol 70% berderajat teknis (Bratachem®), akuades, larutan kloralhidrat, reagen Mayer, reagen Bouchardat, larutan besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>), aseton P (Merck®), toluena P (Merck®), serbuk asam borat P (Merck®), serbuk asam

oksalat P (Merck®), asam asetat anhidrat P (Merck®), kloroform P (Merck®), asam sulfat P (Merck®), dan eter P (Merck®).

### Peralatan

Toples kaca gelap, pisau, pengayak *stainless* 60 mesh, blender (Sharp®), seperangkat alat gelas (Pyrex®), mikroskop cahaya, *hot plate* (FischerScientific®), *vacuum rotary evaporator* (Eyela®), oven (Binder®), *UV-lamp cabinet* (CAMAG®), alat tanur (WiseTherm®), krus porselen, pipet tetes dan kertas saring bebas abu (Whatman®).

### Cara Kerja

#### *Determinasi Tanaman C. amblycarpa*

Sampel dikumpulkan dari Desa Kemenuh, Kecamatan Sukawati, Gianyar, Bali. Determinasi tanaman dilakukan melalui pengiriman bagian tanaman lengkap, meliputi akar, batang, daun muda dan tua, buah, dan bunga pada Balai Konsevasi Tumbuhan Kebun Raya 'Eka Karya'-Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Candikuning, Tabanan, Bali.

#### *Preparasi Serbuk dan Pembuatan Ekstrak Etanol 70% Daun C. amblycarpa*

Daun yang terkumpul dibersihkan dan dikeringkan, kemudian diserbukkan dengan menggunakan *blender*. Lalu diayak dengan pengayak 60 mesh (Depkes RI, 2008). Serbuk dikemas dalam toples tertutup rapat dan terhindar dari cahaya secara langsung.

Ekstrak dibuat dengan menggunakan metode maserasi, dilakukan dengan merendam serbuk daun *C. amblycarpa* sebanyak 500 mg dalam pelarut etanol 70% sebanyak 5 L selama 3 hari. Maserat kemudian disaring, lalu filtrat diuapkan dengan menggunakan *vacuum rotatory evaporator* (60°C; 50 rpm). Hasil rotav dituang ke dalam loyang dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C hingga diperoleh ekstrak kental.

#### *Pengamatan Organoleptis dan Mikroskopis Simplisia dan Ekstrak Etanol 70% Daun C. amblycarpa*

Dilakukan pengamatan organoleptic serbuk simplisia dan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* yang meliputi pengamatan organoleptis (bentuk, warna, bau, dan rasa). Pengamatan fragmen pengenal secara mikroskopis dilakukan dibawah mikroskop cahaya.

### **Standarisasi Serbuk dan Ekstrak Etanol 70% Daun *C. amblycarpa***

1. Penetapan kadar abu total serbuk dan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* dilakukan dengan menimbang 2 sampai 3 gram bahan uji dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, dipijarkan hingga arang habis, didinginkan dan ditimbang. Kemudian dipijarkan kembali hingga memperoleh bobot tetap, selanjutnya tahap ini diulangi sebanyak 3 kali setelah itu dihitung kadar abu total (Depkes RI, 1995).
2. Penetapan kadar abu tidak larut asam serbuk dan ekstrak dilakukan dengan cara mendidihkan abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu dengan 25mL asam klorida 10% selama 5 menit, lalu dikumpulkan bagian yang tidak larut asam dan disaring menggunakan kertas saring bebas abu. Hasil saring lalu dicuci menggunakan air panas dan dipijarkan dengan suhu 600°C hingga bobot tetap. Abu yang diperoleh lalu ditimbang dan dihitung kadar abu tidak larut asam (Depkes RI, 1995).
3. Penetapan kadar abu yang larut air untuk serbuk dan ekstrak dilakukan dengan cara mendidihkan abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu dengan 25 mL air selama 5 menit, lalu dikumpulkan bagian yang tidak larut dan disaring menggunakan kertas saring bebas abu, hasil saringan dicuci dengan air panas dan dipijarkan selama 15 menit pada suhu 400°C. Abu yang diperoleh lalu ditimbang dan dihitung kadar abu tidak larut asam (Depkes RI, 1995).
4. Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* dilakukan dengan menggunakan metode destilasi toluena. Ditimbang sejumlah bahan yang mengandung 1 – 4 mL air, dimasukkan ke dalam labu. Dimasukkan 200 mL toluena jenuh air ke dalam labu. Destilasi dilakukan selama 15 menit dan diamati volume air yang terpisah dari ekstrak (Depkes RI, 1995). Dihitung persentase kadar air serbuk dan ekstrak.

### **Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun *C. amblycarpa*.**

Pembuatan larutan uji fitokimia dilakukan dengan cara melarutkan 200 mg ekstrak kental dengan 25 mL etanol 70%.

1. **Pemeriksaan Alkaloid**  
Larutan uji diuapkan sebanyak 2 mL, kemudian residu dilarutkan dalam 4 mL HCl 2N. Lalu larutan dibagi kedalam 4 tabung rekasi yaitu tabung A, B, C dan D. Tabung A sebagai blanko ditambahkan HCl 2N, tabung B ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes, tabung C ditambahkan pereaksi Wagner sebanyak 3 tetes dan tabung D ditambahkan perekasi Bouchardat sebanyak 3 tetes. Endapan putih yang terbentuk pada tabung B, terbentuk endapan pada tabung C, dan terbentuk endapan coklat kehitaman pada tabung D menandakan adanya alkaloid (Depkes RI, 1995).
2. **Pemeriksaan Flavonoid**  
Sebanyak 1 mL larutan uji diuapkan, residu dibasahkan dengan aseton P. Ditambahkan 1 gram asam borat P dan asam oksalat P. Larutan dipanaskan hati-hati di atas tangas air dengan menghindari pemanasan berlebihan. Sisa yang diperoleh dicampur dengan 10 mL eter P. Larutan yang berflouresensi kuning intensif di bawah sinar UV 366 nm menandakan adanya flavonoid (Depkes RI, 1995).
3. **Pemeriksaan Polifenol dan Tanin**  
Sebanyak 3 mL larutan uji dibagi kedalam 3 bagian yaitu tabung A, B, dan C. Tabung A digunakan sebagai blanko, tabung B direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, dan tabung C direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 5%. Terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan pada tabung B menunjukkan adanya polifenol, dan terbentuknya warna biru kehijauan pada tabung C menunjukkan adanya tanin (Vijayalakshmi dan Ravindhran, 2012).
4. **Pemeriksaan Glikosida**  
Larutan uji sebanyak 1 mL diuapkan, residu dilarutkan dengan 5 mL asam asetat anhidrat, ditambahkan dengan 10 tetes asam sulfat. Terbentuknya endapan biru atau hijau menandakan adanya glikosida (Depkes RI, 1995)
5. **Pemeriksaan Steroid dan Triterpenoid**  
Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan, residu dilarutkan dengan 0,5 mL kloroform, ditambahkan 0,5 mL asam astat anhidrat. Ditambahkan 2 mL asam sulfat P melalui dinding tabung. Terbentuknya cincin biru kehijauan menandakan adanya steroid dan cincin

kecoklatan atau violet menandakan adanya triterpenoid.

6. Pemeriksaan Saponin

Larutan uji sebanyak 10 mL dikocok vertikal dalam tabung reaksi selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 detik. Pembentukan busa setinggi 1–10 cm yang stabil akan terbentuk selama tidak kurang dari 10 menit. Setelah itu ditambahkan 1 tetes HCl 2N, jika busa tersebut tidak hilang menunjukkan adanya saponin (Depkes RI, 1995).

7. Pemeriksaan Minyak Atsiri

Larutan uji sebanyak 1 mL diuapkan hingga diperoleh residu. Hasil positif ditunjukkan dengan adanya aroma khas yang dihasilkan oleh residu (Ciulei, 1984).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi Jenis Tumbuhan

Determinasi tanaman *C. amblycarpa* (Hassk.) Osche dilakukan untuk memastikan apakah tanaman yang digunakan memang benar merupakan tanaman yang diinginkan (Laksmiani *et al.*, 2015). Hasil determinasi menunjukkan klasifikasi *C. amblycarpa* (Hassk.) Osche sebagai berikut: Kingdom: Plantae, Divisi: Spermatophyta; Sub divisi: Angiospermae; Kelas: Dicotyledoneae; Ordo: Sapindales; Famili: Rutaceae; Genus: *Citrus*, Spesies: *Citrus amblycarpa* (Hassk.) Osche.

### Preparasi Serbuk dan Pembuatan Ekstrak Etanol 70% daun *C. amblycarpa*

Setelah melalui tahap pengecilan ukuran partikel, digunakan pengayak Mesh 60 untuk homogenisasi ukuran partikel dan menghasilkan serbuk berderajat halus. Semakin halus serbuk yang dihasilkan maka ekstraksi yang dilakukan akan semakin efektif (Diniatik, 2015).

Pembuatan ekstrak kental daun *C. amblycarpa* dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%, dan dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali. Maserasi merupakan suatu metode penyarian sederhana dengan cara perendaman sampel pada suhu ruangan untuk mencegah kerusakan senyawa yang terkandung didalamnya. Kelarutan suatu senyawa dalam pelarut mengikuti prinsip *like dissolves like*, yang mana senyawa polar akan tertarik untuk larut pada pelarut polar sedangkan senyawa non polar cenderung akan tertarik ke pelarut non-

polar (Seidel, 2008; Wells, 2003). Etanol merupakan pelarut universal, yakni dengan indeks polaritas 5,2 sehingga dapat menarik secara baik senyawa polar maupun non polar (Poelongan *et al.*, 2007). Selain itu menurut Farmakope Herbal Indonesia, jika tidak dinyatakan lain pelarut yang digunakan untuk maserasi ekstrak simplisia adalah etanol 70% (Depkes RI, 2008). Proses pemisahan pelarut dan ekstrak dilakukan dengan menggunakan *vacuum rotatory evaporator* untuk dapat memisahkan pelarut dan ekstrak dengan suhu dibawah titik didih pelarut sehingga resiko rusaknya ekstrak karena suhu terlalu tinggi dapat dihindari (Damayanti dan Fitriana, 2012). Setelah diuapkan, ekstrak dituang ke dalam loyang dan dimasukkan ke dalam oven dengan suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 21,403%.

### Pengamatan Organoleptik dan Mikroskopis Simplisia dan Ekstrak Etanol 70% Daun *C. amblycarpa*

Parameter organoleptik dan mikroskopik dibutuhkan untuk pengenalan awal dan karakterisasi simplisia dan ekstrak. Parameter yang diamati meliputi bentuk, warna, bau dan rasa dari simplisia dan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* (Depkes RI, 1995). Data yang diperoleh dapat digunakan sebagai standar bahan baku simplisia dan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* yang baik sebelum digunakan untuk pengujian tahap lanjut. Hasil pemeriksaan organoleptik dapat dilihat pada tabel 1. Fragmen pengenalan *C. amblycarpa* dapat dilihat pada gambar 1.

### Standarisasi Serbuk dan Ekstrak Etanol 70% Daun *C. amblycarpa*

Penetapan kadar air pada serbuk simplisia dan ekstrak dilakukan untuk mengetahui kadar air dari serbuk simplisia dan ekstrak dimana kadar air serbuk simplisia dan ekstrak merupakan persentase dari perbandingan volume air hasil destilasi dengan bobot serbuk simplisia atau ekstrak yang digunakan pada saat penetapan kadar air.

Penetapan kadar air serbuk simplisia dan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode destilasi dengan pelarut toluena yang dilaksanakan selama 15 menit dimana metode ini dipilih untuk menetapkan kadar air sampel yang mengandung minyak atsiri.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Organoleptik Serbuk dan Ekstrak Etanol 70% Daun *C. amblycarpa*

Parameter Organoleptik	Hasil Uji	
	Serbuk Simplisia	Ekstrak Etanol 70%
Bentuk	Serbuk halus	Kental
Warna	Hijau kecoklatan	Coklat kehitaman
Bau	Khas aromatik jeruk limau; aroma keras	Aroma karamel dengan sedikit aroma jeruk limau
Rasa	Mula-mula terasa tawar, lama- lama agak menggigit	Agak pahit



Gambar 1. Hasil Pengamatan Mikroskopik Serbuk Daun *C. amblycarpa* (Perbesaran 10x40)  
Keterangan : (1) Fragmen rambut penutup; (2) Fragmen pembuluh kayu; (3) Fragmen epidermis atas; (4) Serabut; (5) Fragmen epidermis bawah dengan stomata

Tabel 2. Hasil Standarisasi Serbuk dan Ekstrak Etanol 70% Daun *C. amblycarpa*

Parameter Uji	Hasil Uji	
	Serbuk Simplisia	Ekstrak Etanol 70%
Kadar abu total	9,732% ± 0,864%	9,152% ± 1,521%
Kadar abu tidak larut asam	0,597% ± 0,0021%	0,579% ± 0,028%
Kadar abu larut air	1,458% ± 0,028%	1,471% ± 0,142%
Kadar air	4,492% ± 0,0043%	7,9% ± 0,023%

Tabel 3. Hasil Skrining Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Etanol 70% Daun *C. amblycarpa*

Golongan Senyawa	Pereaksi/Perlakuan	Perubahan Setelah Penambahan Pereaksi	Hasil Uji
Alkaloid	Mayer	Tidak terbentuk endapan putih	-
	Wagner	Tidak terbentuk endapan	-
	Bouchardat	Tidak terbentuk endapan coklat kehitaman	-
Flavonoid	Asam borat + Asam oksalat	Adanya fluoresensi kuning di bawah UV 366 nm	+
Polifenol	FeCl <sub>3</sub> 10%	Berubah warna menjadi hijau kehitaman	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 5%	Berubah warna menjadi biru kehitaman	+
Glikosida	Lieberman-Burchard	Terbentuk endapan hijau	+
Triterpenoid	Lieberman-Burchard	Tidak terbentuk cincin kecoklatan atau violet	-
Steroid	Lieberman-Burchard	Tidak terbentuk cincin biru kehijauan	-
Saponin	Pengocokan	Terbentuk buih tidak stabil	-
	+ HCl pekat	Tidak terbentuk buih	-
Minyak Atsiri	Diuapkan	Adanya bau khas pada residu	+

Keterangan: + : positif  
- : negatif

Kadar air serbuk simplisia yang diperoleh sebesar  $4,492 \pm 0,0043\%$  dan kadar air ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* sebesar  $7,9 \pm 0,023\%$  Hasil yang diperoleh telah sesuai dengan persyaratan yang tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia yang mana kadar air serbuk simplisia dan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* tidak lebih dari 10% (Depkes RI, 2008). Kadar air serbuk simplisia dan ekstrak daun yang kurang dari 10% dapat meminimalisir tumbuhnya jamur dan kapang serta menghasilkan daya tahan penyimpanan dan meningkatkan mutu ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* (Zainab et al., 2016)

### **Penetapan kadar abu pada serbuk simplisia dan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa***

Kadar abu menggambarkan adanya kandungan mineral internal dan eksternal pada serbuk maupun ekstrak yang diperoleh dari preparasi awal hingga diperoleh ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* yang mana metode ini didasarkan atas pemanasan sampel pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap (Depkes RI, 2000). Dalam penelitian ini diperoleh kadar abu serbuk simplisia adalah  $9,732\% \pm 0,864\%$  dan ekstrak sebesar  $9,152\% \pm 1,521\%$  (Zainab et al., 2016). Hasil standarisasi ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* mendekati nilai kadar abu total ekstrak daun *C. hystrix* yakni sebesar  $8,40\% \pm 0,0397\%$  dan kadar abu tidak larut asam sebesar  $0,52\% \pm 0,3117\%$  (Putri, 2017). Hasil standarisasi serbuk simplisia dan ekstrak disajikan pada tabel 2.

### **Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol 70% Daun *C. amblycarpa***

Hasil pengamatan skrining fitokimia dapat dilihat pada tabel 3. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* meliputi flavonoid, polifenol, tanin, glikosida dan minyak atsiri. Golongan senyawa tersebut sama seperti golongan senyawa yang terkandung pada tanaman genus *Citrus* lainnya seperti *C. hystrix* yang mengandung flavonoid, polifenol, tanin, saponin, alkaloid, glikosida, fitosterol, dan karbohidrat (Ali et al., 2015).

Polifenol merupakan golongan senyawa dengan sebaran paling banyak di seluruh tumbuhan. Senyawa polifenol memiliki aktivitas sebagai antioksidan dimana berdasarkan struktur aglikosidanya senyawa

polifenol dapat dibagi ke dalam kelompok asam fenolik, flavonoid, polifenol amida, dan polifenol lainnya yang memiliki ciri khas tersendiri (Tsao, 2010). Kandungan senyawa polifenol yang terdapat pada ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* adalah flavonoid. Secara umum kandungan flavonoid yang terdapat pada *Citrus* meliputi nobiletin, hesperidin, naringin, hesperitin, dan rutin (Sidana et al., 2013). Sedangkan Hodgson (1967) menyebutkan bahwa *C. amblycarpa* memiliki kandungan flavonoid glikosida meliputi didymin, hesperidin, naringin, narirutin, neohesperidin, dan poncerin. Banyak penelitian yang membuktikan aktivitas senyawa golongan flavonoid pada *Citrus* seperti antikarsinogenik, kardiovaskular, hiperglikemi, antiinflamasi, antialergi, analgesik, antibakteri, dan antidepresan. (Berho et al., 1998).

Senyawa Tanin adalah senyawa polifenol yang berasal dari tumbuhan yang memiliki rasa pahit dan kelat (Makkar, 2003). Secara umum tanin dapat ditemukan pada seluruh bagian tumbuhan genus *Citrus* dan memiliki konsentrasi terbesar pada daun. Konsentrasi tanin pada daun tanaman genus *Citrus* berada pada antara 0,53-1,44% (Ezeabara et al., 2014).

Skrining fitokimia juga membuktikan adanya kandungan glikosida pada ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa*, dimana diduga senyawa glikosida yang terdapat pada tanaman *C. amblycarpa* merupakan glikosida flavonoid. Senyawa glikosida flavonoid yang terdapat dalam jumlah besar pada tanaman *Citrus* yaitu neohesperidin, naringin, neoeriocitrin, dan poncirin yang mana senyawa ini memiliki peran menimbulkan rasa pahit pada jeruk (Wang et al., 2017).

Senyawa glikosida flavonoid memiliki sifat farmakokinetik yaitu kecenderungan membentuk ikatan dengan protein plasma yang rendah sehingga konsentrasi senyawa dalam darah apabila dikonsumsi dapat bertahan lebih lama dimana sifat farmakokinetik ini merupakan sifat yang diinginkan dalam suatu obat. Senyawa glikosida flavonoid yang terdapat pada tanaman *Citrus* memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti antioksidan, antikanker dan antitumor, hepatoprotektif, antiinflamasi, antidiabetes, antiviral, antibakteri dan antifungal (Xiao et al., 2016).

Secara umum kandungan minyak atsiri pada daun *Citrus* adalah linalool dengan persentase 36 – 66% diikuti dengan linalil asetat. Selain itu komponen terpen, alkohol, aldehyd, dan asetat juga ditemukan pada minyak atsiri *Citrus* seperti  $\beta$ -myrcene,  $\beta$ -pinene, sabinene, ocimene, terpinene, terpinolene, neral, geranial, geraniol, nerol,  $\alpha$ -terpineol, neril asetat, dan geranil asetat (Wolffenbuttel *et al.*, 2015). Namun, belum dapat dipastikan persentase kandungan senyawa tersebut pada minyak atsiri yang terkandung pada ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa*.

### SIMPULAN DAN SARAN

#### Simpulan

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* yang diperoleh telah memenuhi standar ekstrak simplisia dilihat dari parameter rendemen ekstrak, kadar air ekstrak, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam dari serbuk dan ekstrak. Skrining fitokimia membuktikan ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa* mengandung senyawa flavonoid, polifenol, tanin, glikosida serta minyak atsiri.

#### Saran

Hal yang menjadi saran untuk penelitian selanjutnya adalah untuk melakukan penetapan kadar total flavonoid dan total fenol ekstrak etanol 70% daun *C. amblycarpa*. Selain itu, perlu dilakukan isolasi senyawa flavonoid, polifenol, tanin, glikosida, serta minyak atsiri dan identifikasi senyawa penyusun minyak atsiri sehingga dapat digunakan untuk memprediksi aktivitas ekstrak etanol 70% *C. amblycarpa*.

### UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada seluruh staf dosen pengajar serta laboran di laboratorium farmakognosi, fitokimia dan analisis program studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, serta keluarga Bapak Dewa Made Murtika selaku pemilik tanaman *C. amblycarpa* (Hassk.) Osche sebagai sampel penelitian.

### DAFTAR PUSTAKA

- Ali, M., Akhter, R., Narjish, S. N., Shahriar, dan M., Bhuiyan, M. A., 2015, Studies of Preliminary Phytochemical Screening, Membrane Stabilizing Activity, Trombolitic Activity, and *In-Vitro* Antioxidant Activity of Leaf Extract of *Citrus hystrix*, *International Journal of Pharmaceutical Science and Research*, 6(6): 2367-2374.
- Berho, Tisserat, M., B., Kanes, K., dan Vandercook, C., 1998, *Survey of Phenolic Compounds Produced in Citrus*, United States Department of Agriculture, USA
- Buhian, W. P. C., Rubio, R. O., Valle-Jr, D. L., dan Puzon, J. J. P., 2016, Bioactive Metabolite Profiles and Antimicrobial Activity of Ethanolic Extracts from *Muntingia calabura* L. Leaves and Stems, *Asian Pasific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(8): 682-685.
- Ciulei, 1984, *Methodology for Analysis of Vegetables and Drugs*. Faculty of Pharmacy Bucharest Rumania, Rumania.
- Depkes RI, 1995, *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Edisi I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI, 2008, *Farmakope Herbal Indonesia*, Edisi I, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Diniatik, 2015, Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanolik Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol* (Bl.) Hook F. & Th.) dengan Metode Spektrofotometri, *Kartika-Jurnal Ilmiah Farmasi*, 3(1): 1-5.
- Ezeabara, C., Okeke, C. U., Ilodibya, C. V., dan Azagba, B. O., 2014, Determination of Tannin Content in Various Part of Six *Citrus* Spesies, *Journal of Scientific Research and Report*, 3(10): 1384-1392.
- Hodgson, R. W., 1967, Horticultural Varieties of *Citrus*. In: W. Reuther, H.J. Webber, and L.D. Batchelor, *The Citrus Industry*, University of California, Berkeley.

- Jaiswal, S. K., Gupta, V. K., Siddiqi, N. J., Pandey, R. S., dan Sharma, B., 2015, Hepatoprotective Effect of *Citrus limon* Fruit Extract Against Carbofuran Induced Toxicity, *Chinese Journal of Biology*, 2015:1-10.
- Laksmiani, N. P. L., Susanti, N. M. P., Widjaja, I. N. K., Rismayanti, A. A. M. I., Wirasuta, I. M. A. G., 2015, Pengembangan Metode Refluks Untuk Ekstraksi Andrografolid Dari Herba Sambiloto, *Jurnal Farmasi Udayana*, 4(2): 82-90.
- Makkar, H. P. S., 2003, Tannin Assays, Effects and Fate of Tannins, Strategies to Overcome Detrimental Effects of Feeding Tannin-Rich Tree and Shrub Foliage, *Small Ruminant Research*, 49: 241-256.
- Mulyani, S. dan Hutabarat, M. M., 2009, Analisis GC-MS dan Daya Anti Bakteri Minyak Atsiri *Citrus amblycarpa* (Hassk) Ochse, *Majalah Farmasi Indonesia*, 20(3): 127-132.
- Poelongan, M., Andriani, K., Susanti, I., dan Komala, M., 2007, Uji Daya Antibakteri Ekstrak Etanol Batang Bungur (*Lagerstormenia speciosa* Pers) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* Secara In-Vitro, *Laporan Penelitian*, Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, Jawa Barat.
- Putra, I. G. S., 1999, *Taru Pramana Khasiat Tanam-tanaman untuk obat Tradisional*, PT. Upada Sastra, Denpasar.
- Putri, D. E., 2017, Standarisasi Siplisia dan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC), *Skripsi*, Universitas Andalas, Padang.
- Samraj, S. dan Rajamurgugan, S., 2017, Qualitative and Quantitative Estimation of Bioactive Compound and Antioxidant Activity in *Citrus hystrix*, *International Journal of Engineering Science and Computing*, 7(6): 13154-13163.
- Seidel, V., 2008, Initial and Bulk Extraction, Sarker, S. D., Latif, Z. and Gray, A. I., *Natural Products Isolation*, Humana Press, New Jersey, 33-34.
- Sidana, J., Saini, V., Dahiya, S., Nain, P., dan Bala, S., 2013, A Review on *Citrus*-“The Boon of Nature”, *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*, 18(2): 20-27.
- Triyono, K., 2013, Keanekaragaman Hayati dalam Menunjang Ketahanan Pangan, *Jurnal Inovasi Pertanian*, 11(1): 12-22.
- Tsao, R., 2010, Chemistry and Biochemistry of Dietary Polyphenol, *Nutrients*, 2: 1231-1246.
- Vijayalakshmi, R. dan Ravindhran, R., 2012, Preliminary Comparative Phytochemical Screening of Root Extracts of *Diospyrus ferrea* (Wild.) Bakh and *Aerva lanata* (L.) Juss. Ex Schultes, *Asian Journal of Plant Science and Research*, 2(5): 583.
- Wadood, A., Ghufuran, N., Jamal, S.B., Naem, M., Khan, A., Ghaffar, R., dan Asnad, 2013, Phytochemical Analysis of Medicinal Plants Occurring in Local Area of Mardan, *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 2(4): 1-4.
- Wang, S., Yang, C., Tu, H., Zhou, J., Liu, X., Cheng, Y., Luo, J., Deng, X., Zhang, H., Xu, J., 2017, Characterization and Metabolic Diversity of Flavonoids in Citrus Species, *Scientific Reports*, 7(10549): 1-10.
- Wells, M. J. M., 2003, Principles of Extraction and The Extraction of Semivolatle Organics from Liquids, Trapp, T., Zajul, M., *Sample Preparation Techniques in Analytical Chemistry*, John Wiley & Sons, Inc., New Jersey, 32-225.
- Wolffenbuttel, A. N., Zamboni, A., M. Dos-Santos, K., Borille, B. P., Augustin, O., A., Mariotti K. C., Leal M. B., dan Limberger, L. P., 2015, Chemical Components of *Citrus* Essential Oil from Brazil, *The Natural Products Journal*, 5(1): 14-27.
- Xiao, J., Capanoqlu, E., Jassbi, A. R., Miorn, A., 2015, Advance on the Flavonoid C-glycosides and Health Benefits, *Dietary Phytochemicals: Nutrition and Health*, 29(56): S29-S45.
- Yi, L., Ma, S., dan Ren, D. Phytochemical and Bioactivity of *Citrus* flavonoid: A Focus on Antioxidant, Antiinflammatory, Anticancer, dan Cardiovascular Protection Activities, *Phytochemistry Reviews*, 16(3):479-511.
- Zainab, Sulistyani, dan N., Anisaningrum, 2016, Penetapan Parameter Standarisasi Non Spesifik dan Spesifik Ekstrak Daun Pacar Kuku, *Penetapan Parameter Standarisasi*, 13(2): 212-226.