

## Perbandingan Kadar Hesperidin pada Beberapa Kulit Jeruk Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Farhan Rasya Fadhilah<sup>1</sup>, Vivi Anggia<sup>1</sup>, Priyanti<sup>2</sup>, Hendri Aldrat<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacy, Faculty of Health Sciences, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jalan Kertamukti No. 5, Pisangan, Ciputat, Tangerang Selatan 15419 Indonesia.

<sup>2</sup> Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jalan Ir. H. Djuanda 95, Ciputat, Tangerang Selatan 15412 Indonesia.

\*Corresponding author: [hendri@uinjkt.ac.id](mailto:hendri@uinjkt.ac.id)

Received: 27 November 2025; Accepted: 30 December 2025

**Abstract:** Orange peel is a high-potential agro-waste and a rich natural source of hesperidin, a flavonoid compound with multiple health benefits, yet comparative data on hesperidin level across different citrus varieties are still limited. This study aimed to compare the yield and content of hesperidin among different citrus peels and to evaluate the reliability of UV-Vis spectroscopy for its quantitative determination. Peels from Medan orange (*C. sinensis*), baby Java (*C. sinensis*), key lime (*Citrus aurantiifolia*), jeruk limo (*C. amblicarpa*), and kaffir lime (*C. hystrix*) were used. Samples were extracted through a tiered Soxhlet extraction process with n-hexane and methanol solvents, followed by acidification and crystallization to obtain hesperidin. Characterization was carried out using melting point analysis and thin-layer chromatography, while hesperidin content was determined with a UV-Vis spectrophotometer at a maximum wavelength of 283 nm. The results showed that citrus species significantly affected hesperidin yield and content, with baby Java orange peel producing the highest amount (5.72%), followed by Medan orange (3.98%), lime (0.46%), jeruk limo (0.37%), and kaffir lime (0.16%). The UV-Vis spectrophotometry method proved reliable, showing linearity ( $r^2 = 0.998$ ), accuracy (82.00%), and precision (%RSD = 0.964%). Content analysis confirmed that baby Java orange peel isolate had the highest hesperidin concentration (11.59 ppm, purity 86.14%) among other orange peel isolates compared to standard pure hesperidin. These findings highlight the variability of hesperidin content among citrus species and emphasize the importance of raw material selection for pharmaceutical and nutraceutical applications.

**Keywords:** agro-industrial waste, citrus flavonoids, layered soxhlet extraction, nutraceuticals, thin-layer chromatography

**Abstrak:** Kulit jeruk merupakan limbah pertanian yang potensial sebagai sumber hesperidin, senyawa flavonoid dengan manfaat farmakologis beragam. Sungguhpun demikian, data komparatif kadar hesperidin antarspesies jeruk masih terbatas khususnya untuk jeruk komersial yang ada di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan rendemen dan kadar hesperidin dari berbagai jenis kulit jeruk serta mengevaluasi keandalan metode spektrofotometri UV-Vis dalam penetapan kadarnya. Sampel meliputi jeruk Medan (*Citrus sinensis*), jeruk baby Java (*C. sinensis*), jeruk nipis (*C. aurantiifolia*), jeruk limo (*C. amblycarpa*), dan jeruk purut (*C. hystrix*). Ekstraksi dilakukan dengan soxhletasi bertahap menggunakan n-heksana dan metanol, diikuti pengasaman dan kristalisasi. Karakterisasi isolat mencakup uji titik leleh dan kromatografi lapis tipis (KLT), sementara kadar hesperidin diukur pada  $\lambda$  maksimum 283 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jenis jeruk berpengaruh signifikan terhadap rendemen dan kadar hesperidin yang dihasilkan, dengan kulit jeruk baby Java menghasilkan rendemen tertinggi sebesar 5,72%, diikuti oleh jeruk Medan (3,98%), jeruk nipis (0,46%), jeruk limo (0,37%), dan jeruk purut (0,16%). Metode spektrofotometri UV-Vis tervalidasi dengan linearitas ( $r^2 = 0,998$ ), akurasi (82,00%), dan presisi (%RSD = 0,964%). Analisis lebih lanjut mengonfirmasi isolat jeruk baby Java memiliki konsentrasi hesperidin tertinggi (11,59 ppm; kemurnian 86,14%) dibandingkan hesperidin standar. Temuan ini menunjukkan adanya variabilitas hesperidin antar spesies jeruk serta pentingnya seleksi bahan baku untuk aplikasi farmasi dan nutrasetika.

**Kata kunci:** hesperidin; kulit jeruk; limbah pertanian; soxhletasi; spektrofotometri UV-Vis

DOI: <https://doi.org/10.15408/pbsj.v7i2.49051>

## 1. PENDAHULUAN

Jeruk merupakan tanaman buah yang saat ini paling populer di dunia dan biasa dikonsumsi oleh masyarakat karena kandungan senyawanya untuk kebutuhan nutrisi, bahan masakan, kebutuhan upacara adat sampai kepada pengobatan tradisional (Ahsan et al., 2020; Mustiqawati & Yolandari, 2022). Produksi buah jeruk di Indonesia menunjukkan peningkatan yang konsisten sejak tahun 2015–2022 dari 2,5 juta ton sampai ke 2,7 juta ton (PDSIP Kementerian Pertanian, 2023). Akibat besarnya produksi dan konsumsi jeruk di Indonesia berpotensi menghasilkan banyak limbah jeruk, terutama kulit jeruk yang belum sepenuhnya dimanfaatkan secara optimal, padahal ada berbagai manfaat lain kulit jeruk yang dapat digunakan mulai dari kompos, pengobatan tradisional dan bahan baku lulur (Alfinda Novi Kristanti, 2019). Secara tradisional, kulit buah jeruk purut dapat dimanfaatkan untuk mengatasi panas dalam, bisul, radang payudara, radang kulit, kulit mengelupas dan bersisik (Rinidar et al., 2017).

Kulit jeruk tidak hanya digunakan sebagai sumber minyak atsiri untuk bahan parfum (Ikarini et al., 2021), tetapi juga ada nilai tambah lain yang memiliki nilai ekonomis dan kesehatan yakni kandungan hesperidinya yang dilaporkan bermanfaat untuk antioksidan, antitumor dan antiinflamasi (Aggarwal et al., 2020; Samota et al., 2023). Hesperidin merupakan senyawa glikosida flavonoid dengan bentuk aglikon hesperetin yang terikat dengan rutinose (Xiong et al., 2019) dan kurang larut dalam air (Choi et al., 2022). Ekstraksi hesperidin bisa dilakukan dengan cara ekstraksi pelarut, ekstraksi dingin, ekstraksi menggunakan *microwave* dan ultrasonik (Samota et al., 2023). Ada beberapa laporan sebelumnya yang menelaah kandungan hesperidin pada kulit buah jeruk Siam Gunung Omeh mengandung senyawa hesperidin lebih banyak dibandingkan kulit buah jeruk Gunung Omeh dan Pasaman (Provinsi Sumatera Barat) dengan kandungan masing-masing sebanyak 0,923 dan 0,898% yang diisolasi dengan teknik soxhletasi bertingkat menggunakan etil asetat dan metanol (Ranova et al., 2022). Meskipun berbagai penelitian telah melaporkan keberadaan dan aktivitas biologis hesperidin pada kulit buah jeruk, kajian yang membandingkan kandungan hesperidin antarberbagai jenis jeruk yang umum beredar di pasar tradisional Indonesia masih sangat terbatas. Penelitian sebelumnya umumnya hanya berfokus pada satu jenis jeruk atau varietas lokal tertentu, sehingga belum memberikan gambaran yang komprehensif mengenai variasi kandungan hesperidin antarspesies jeruk yang dikonsumsi sehari-hari oleh masyarakat.

Oleh karena itu, penelitian ini memberikan kebaruan melalui kajian komparatif isolasi dan penetapan kadar hesperidin dari beberapa jenis kulit jeruk, yaitu jeruk Medan (*Citrus sinensis*) dan baby Java (*C. sinensis*), jeruk nipis (*C. aurantiifolia*), jeruk limo (*C. amblycarpa*), dan jeruk purut (*C. hystrix*), yang dipilih berdasarkan ketersediaannya di pasar dan tingkat konsumsinya. Isolasi dilakukan menggunakan metode soxhletasi bertingkat dengan pelarut berbeda polaritas yang dikombinasikan dengan proses pengasaman dan kristalisasi, sehingga memungkinkan perbandingan rendemen dan karakteristik hesperidin secara objektif antar sampel (Osorio-Tobón, 2020). Selanjutnya identifikasi kualitatif dilakukan menggunakan metode KLT (Rusmawati et al., 2021) dan penentuan kuantitatif masing-masing sampel menggunakan spektrofotometri UV-Vis yang sudah divalidasi dengan uji linearitas, batas deteksi, batas kuantitasi, akurasi, dan presisi, sehingga data kuantitatif yang dihasilkan memiliki tingkat keandalan yang tinggi. Penelitian ini akan memperkaya data ilmiah mengenai distribusi hesperidin pada berbagai jenis jeruk di Indonesia sekaligus memberikan dasar ilmiah bagi pemilihan bahan baku kulit buah jeruk yang potensial dan terstandar untuk pengembangan produk obat herbal dan nutrasetikal berbasis limbah agroindustri.

## 2. METODOLOGI PENELITIAN

### 2.1 Bahan dan Peralatan

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah timbangan analitik, peralatan gelas berbagai bentuk dan ukuran, oven, seperangkat alat soxhletasi, kertas saring, blender, spektrofotometer UV-Vis (Hitachi U-2900), dan *melting point apparatus* (Stuart SMP 10). Material penelitian terdiri dari sampel kulit buah jeruk baby Java (*Citrus sinensis*) yang berasal dari Solerejo, Kecamatan Dau, Kabupaten Malang Jawa Timur, kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantiifolia*), kulit buah jeruk limo (*Citrus*

*amblycarpa*) dan kulit buah jeruk purut (*Citrus hystrix*), serta kulit buah jeruk Medan (*Citrus sinensis*) yang diperoleh dari Pasar Tradisional Kebayoran Lama, Kecamatan Kebayoran Lama, Kota Jakarta Selatan. Jeruk dideterminasi di Program Studi Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. Bahan kimia yang diperlukan meliputi hesperidin murni standar  $C_{28}H_{34}O_{15}$  (Andalas Sitawa Fitolab), metanol, n-heksana, HCl 2 N, aquades, etil asetat, dan asam asetat. Semua pelarut dan reagen yang digunakan di sini berkualitas pro analisa kecuali dinyatakan lain.

## 2.2 Preparasi Sampel

Sampel segar yang telah dikumpulkan dilakukan sortasi basah dan dicuci menggunakan air mengalir hingga bersih pada bagian luar dan ditiriskan. Kulit buah jeruk sebanyak 500 gram dirajang menjadi potongan kecil-kecil sebelum dikeringkan di oven dengan suhu  $50^{\circ}\text{C}$  selama 24 jam. Setelah proses pengeringan selesai, dilakukan penghalusan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan 20 mesh untuk memperoleh serbuk berukuran seragam. Hasilnya diperoleh kulit buah jeruk kering dari lima jenis sampel dengan kisaran 50-80 gram. Serbuk disimpan di tempat kering untuk proses ekstraksi dan isolasi hesperidin berikutnya.

## 2.3 Ekstraksi dan Isolasi Hesperidin

Sebanyak 30 gram serbuk kulit buah jeruk masing-masing sampel dibungkus dengan kertas saring sebelum dilakukan ekstraksi menggunakan alat soxhlet. Proses soxhletasi dilakukan dengan menggunakan pelarut n-heksana 250 mL dengan suhu  $70^{\circ}\text{C}$  sampai 30 siklus hingga tetesan tidak menunjukkan warna lagi. Ampas sisa soxhletasi kemudian dilanjutkan dengan soxhletasi kedua menggunakan 250 mL metanol dengan suhu  $65^{\circ}\text{C}$  sesuai titik didih pelarut sebanyak 30 siklus hingga tetesan tidak menunjukkan warna lagi. Filtrat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* hingga terbentuk ekstrak kental, kemudian ekstrak dikristalkan dengan penambahan HCl 2N hingga mencapai pH 3-4 (Sharma *et al.*, 2013). Ekstrak disimpan dalam refrigerator pada suhu  $4-6^{\circ}\text{C}$  selama 48 jam hingga terbentuk endapan hesperidin. Endapan disaring dan dibilas menggunakan aquades dan metanol. Hesperidin dikeringkan hingga diperoleh serbuk amorf dan ditimbang untuk menghitung rendemennya.

## 2.4 Identifikasi Hesperidin

### a. Uji Titik Leleh

Titik leleh hesperidin diuji menggunakan *melting point apparatus*. Serbuk hesperidin kulit buah jeruk dimasukkan ke dalam pipa kapiler yang salah satu ujungnya ditutup, kemudian diketuk perlahan hingga serbuk mampat. Pipa kapiler dimasukkan ke dalam alat titik leleh dan suhu dinaikkan secara perlahan-lahan. Glikosida flavonoid (hesperidin) terpisah menjadi serat tidak berwarna, dengan jarak leleh  $240-245^{\circ}\text{C}$  (Lahmer *et al.*, 2015).

### b. Identifikasi Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi senyawa dilakukan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT) dengan plat silika gel GF<sub>254</sub>. Fase gerak yang digunakan adalah etil asetat:metanol:asam asetat dengan perbandingan 7:3:0,5 yang telah dimodifikasi dan dioptimasi sebelumnya, sedangkan fase diam menggunakan plat silika gel GF<sub>254</sub> (Wardani *et al.*, 2021). Standar dan sampel ditotolkan pada plat dan dielusi dalam chamber berisi eluen yang telah dijenuhkan. Plat diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 dan 365 nm. Nilai *R<sub>f</sub>* dihitung dengan membandingkan jarak migrasi noda dengan jarak migrasi pelarut.

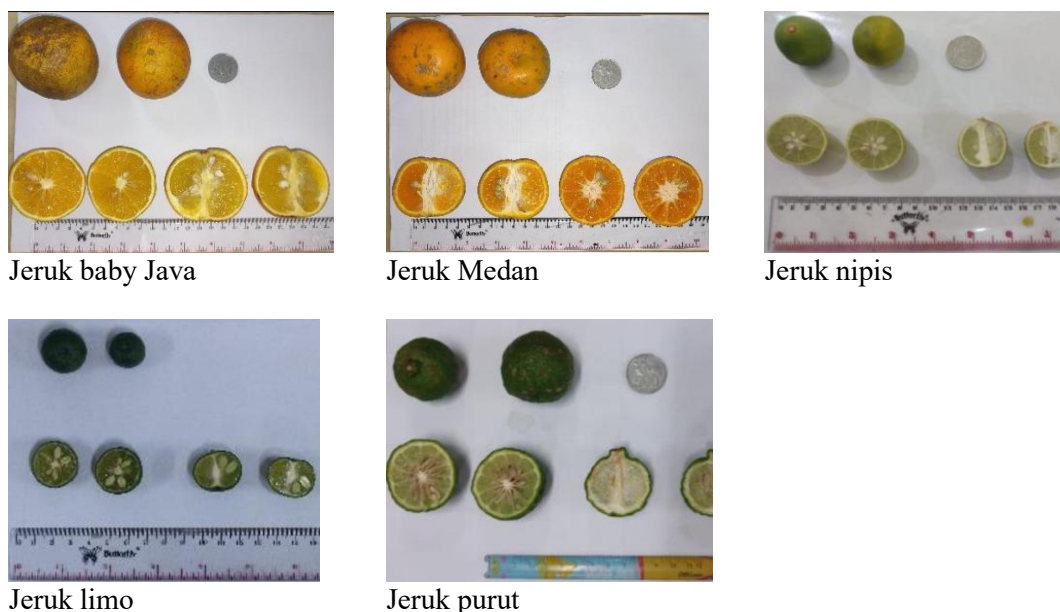
## 2.5 Validasi Metode dan Penetapan Kadar

Validasi metode dilakukan melalui uji linearitas dengan membuat seri konsentrasi standar hesperidin murni masing-masing 0, 7, 10, 13, 16, 19, dan 22 ppm. Penentuan *Limit of Detection* dan *Limit of*

*Quantitation* dilakukan menggunakan tujuh konsentrasi di bawah konsentrasi terkecil linearitas. Uji akurasi dilakukan menggunakan metode penambahan baku (*standard addition method*) dengan konsentrasi 30%, 45%, dan 60% dari senyawa murni hesperidin (Wulandari *et al.*, 2013). Uji presisi ditentukan dengan replikasi enam kali pada konsentrasi yang sama, dengan persyaratan %RSD tidak lebih dari 7,3%. Penetapan kadar hesperidin murni dan hesperidin hasil isolat dari lima jenis kulit buah jeruk dilakukan dengan mengukur serapan sampel pada panjang gelombang maksimum 283 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Data spektrum UV-Vis hesperidin dari ekstrak kulit jeruk dan hesperidin murni disimpan dalam format CSV dalam rentang absorbansi 200–315 nm. Pengolahan data dan visualisasi spektrum dilakukan menggunakan Python dengan pustaka Pandas, NumPy, SciPy, dan Matplotlib yang dijalankan dalam lingkungan Jupyter Lab.

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

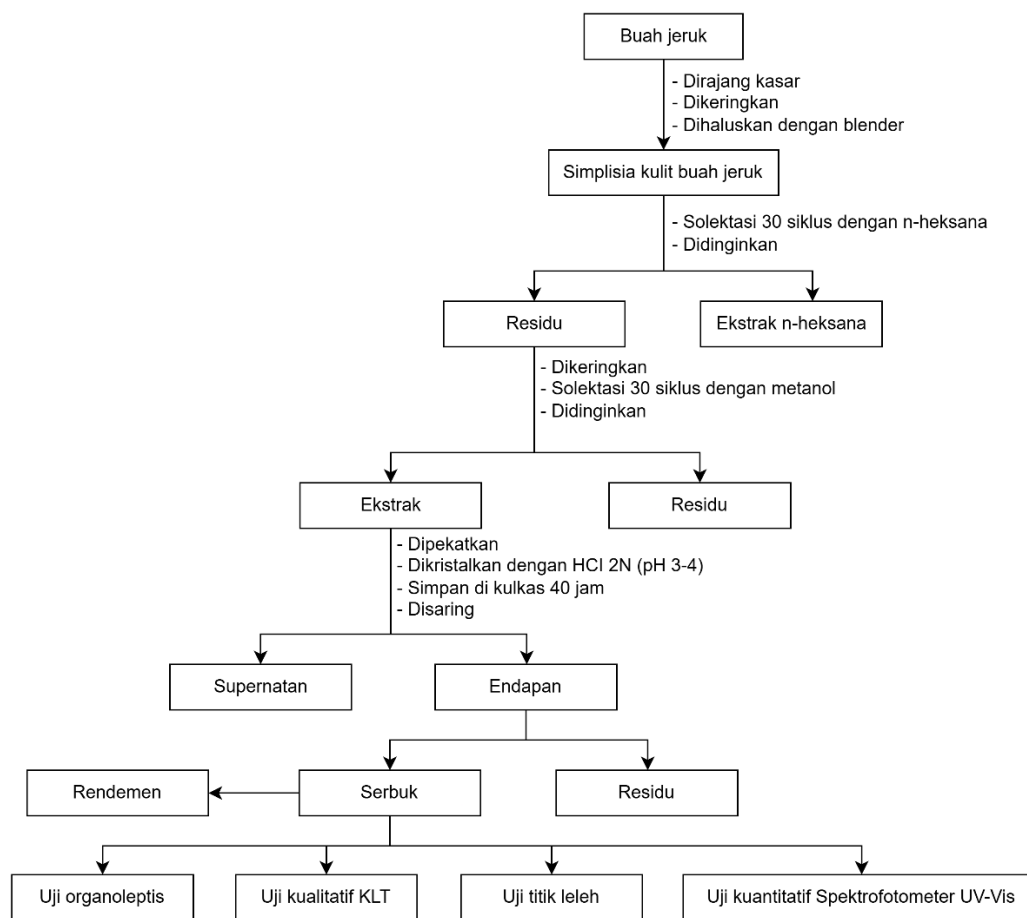
Penelitian ini menggunakan lima jenis kulit buah jeruk yang diperoleh dari dua pasar berbeda yaitu Pasar Kebayoran Lama, Jakarta Selatan dan Selorejo, Kabupaten Malang, Jawa Timur dengan dasar pertimbangan bahwa pasar-pasar tersebut merupakan pusat distribusi buah-buahan dan sayur-sayuran dari sentra produksi ke wilayah sekitarnya. Masing-masing buah-buahan dilakukan triangulasi kepada pedagang buah lainnya di sekitar pasar untuk mengetahui bahwa jeruk ini benar seperti yang disebutkan di atas dan kemudian dilanjutkan dengan determinasi di Laboratorium Biologi Fakultas Sains dan Teknologi UINJKT yang menunjukkan bahwa spesies dari jeruk yang digunakan adalah jeruk Medan (*Citrus sinensis*) dan baby Java (*C. sinensis*), jeruk nipis (*C. aurantiifolia*), jeruk limo (*C. amblycarpa*), dan jeruk purut (*C. hystrix*) sebagaimana terlihat pada Gambar 1. Proses pengeringan menggunakan oven dipilih karena dapat mengurangi kadar air dengan cepat, dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme sehingga sampel dapat disimpan lebih lama. Simplisia kering yang telah disortasi dan diayak 20 mesh terlebih dahulu agar mendapatkan ukuran yang seragam dan derajat kehalusan sedang yang tentu saja pada gilirannya akan memudahkan proses ekstraksi senyawa target (Pujiastuti & El'Zeba, 2021).



Gambar 1: Penampakan jeruk baby Java, jeruk Medan, jeruk nipis, jeruk limo dan jeruk purut yang digunakan untuk penelitian ini yang ditampilkan dengan bentuk utuh, penampang membujur dan melintangnya serta perbandingan ukurannya dengan penggaris untuk memudahkan identifikasi masing-masing jeruk.

Selanjutnya ekstraksi dilakukan menggunakan metode soxhletasi bertingkat dengan dua pelarut berbeda polaritas (Gambar 2). Metode soxhletasi tidak memerlukan penambahan pelarut selama proses ekstraksi berlangsung, karena sistem refluks yang menggunakan kondensator memungkinkan pelarut digunakan secara berulang dengan volume yang relatif sedikit dan konstan, sehingga proses penyarian dapat

berlangsung secara efisien dalam waktu yang lebih singkat (Puspitasari & Juliati, 2021). Ekstraksi bertingkat dimulai dengan pelarut heksana yang bertujuan untuk menghilangkan senyawa-senyawa non-polar, minyak atsiri serta lemak yang berpotensi mengganggu proses isolasi hesperidin. Pada tahap kedua pelarut metanol digunakan karena pelarut tersebut dapat secara efektif mengekstraksi glikosida flavonoid seperti hesperidin (Oktafiani et al., 2022). Warna bening pelarut pada saat proses ekstraksi menunjukkan bahwa senyawa-senyawa yang ada pada kulit jeruk telah diekstraksi secara maksimal. Proses pemekatan dilakukan dalam rangka memperoleh ekstrak kental yang selanjutnya diasamkan dengan HCl 2N untuk mempercepat pembentukan endapan hesperidin. Penyimpanan selama proses pengendapan hesperidin dalam refrigerator bertujuan untuk mencegah senyawa ini terdegradasi akibat suhu lingkungan dan terpapar cahaya (Pyrzynska, 2022). Residu-residu yang ada selama proses isolasi dibilas menggunakan metanol dan akuades (Patel et al., 2022).



Gambar 2: Bagan proses ekstraksi hesperidin dari masing-masing lima kulit buah jeruk yakni kulit buah jeruk baby Java, jeruk limo, jeruk Medan, jeruk nipis dan jeruk purut.

Hasil isolasi hesperidin dari berbagai jenis kulit jeruk menunjukkan variasi rendemen yang signifikan dengan rendemen tertinggi diperoleh dari kulit jeruk *baby Java* (5,72 %), kulit jeruk Medan (3,98 %), kulit jeruk nipis (0,46 %), kulit jeruk limo (0,37 %), dan kulit jeruk purut (0,16 %) berturut-turut sebagaimana disajikan pada Tabel 1. Adanya perbedaan ini menunjukkan bahwa penting untuk mengetahui jenis jeruk apa yang ada digunakan dalam seleksi bahan baku untuk memperoleh hesperidin. Meskipun penelitian sebelumnya tidak dijumpai perbandingan antar spesies dengan jumlah sebanyak ini, namun ada data bahwa perbandingan antara kadar hesperidin jeruk nipis dengan jeruk purut, yang menunjukkan bahwa hasil penelitian ini mengkonfirmasi bahwa jeruk nipis lebih tinggi kadar hesperidinnya dibandingkan dengan jeruk purut (Ranova, 2017). Hesperidin tidak hanya dijumpai pada jeruk, tapi juga dalam kadar yang lebih kecil dibandingkan jeruk, dijumpai pada famili Lamiaceae, Papilionaceae dan Araliaceae (Garg et al., 2001).

Tabel 1: Hasil rendemen dan organoleptis isolat hesperidin yang diperoleh dari lima jenis kulit buah jeruk

No	Nama Sampel	Berat awal simplisia kering (g)	Berat ekstrak metanol (g)	Berat isolat hesperidin* (g)	Rendemen** (%)	Organoleptis		
						Warna	Bentuk	Aroma
1	Kulit buah jeruk Medan	30	9,236	1,1948	3,98	Kuning Keputihan	Serbuk	Tidak Berbau
2	Kulit buah jeruk Baby Java	30	9,641	1,7164	5,72	Putih Kekuningan	Serbuk	Tidak Berbau
3	Kulit buah jeruk Nipis	30	6,819	0,1385	0,46	Putih Kehijauan	Serbuk	Tidak Berbau
4	Kulit buah jeruk Limo	30	7,432	0,1120	0,37	Hijau Keputihan	Serbuk	Tidak Berbau
5	Kulit buah jeruk Purut	30	6,257	0,0470	0,16	Putih Kehijauan	Serbuk	Tidak Berbau

**Catatan:** \* berat isolat hesperidin diperoleh dari ekstrak metanol yang sudah dipekatkan

\*\* rendemen dihitung dari berat serbuk (30 gram) sehingga bisa dibandingkan satu sampel dengan sampel lain karena berat awalnya sama

Perbedaan rendemen antar sampel dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor, antara lain metode ekstraksi yang digunakan, kondisi ekstraksi, lama waktu ekstraksi, perbandingan jumlah sampel terhadap pelarut, lama penyimpanan, dan jenis pelarut (Azmir et al., 2013; Rassem et al., 2016). Karakterisasi organoleptis hasil isolasi dari berbagai kulit jeruk menunjukkan bahwa hesperidin dari semua sampel berbentuk serbuk dengan aroma tidak berbau menunjukkan bahwa karakternya sudah sesuai dengan hesperidin murni. Ada variasi warna serbuk isolat yang dihasilkan menunjukkan bahwa hanya profil kulit jeruk baby Java yang sama dengan hesperidin murni (standar) berwarna putih kekuningan, sementara yang lain berwarna krem, putih kehijauan, hijau keputihan, putih kehijauan yang menunjukkan bahwa pengotornya tersisa selama proses isolasi. Profil warna isolat putih kekuningan dari hesperidin murni dan isolat dari kulit jeruk baby Java konsisten dengan laporan penelitian sebelumnya (Garg et al., 2001).

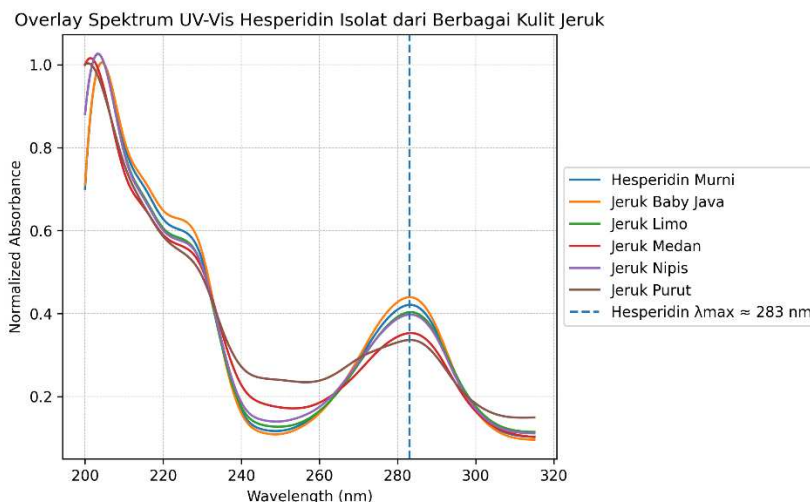
Selanjutnya isolat hesperidin tersebut dianalisa menggunakan spektrofotometri UV-Vis untuk menentukan panjang gelombang maksimum merupakan tahap krusial dalam analisis spektrofotometri karena pada panjang gelombang ini terjadi eksitasi elektronik yang menghasilkan serapan tertinggi (Hakim et al., 2020). Pengukuran pada panjang gelombang maksimum memberikan sensitivitas analisis yang optimal karena perubahan serapan paling signifikan untuk setiap perubahan konsentrasi (Mettler - Toledo, 2025).

Tabel 2: Panjang gelombang maksimum senyawa hesperidin hasil isolasi dari berbagai jenis jeruk dan perbandingannya dengan panjang gelombang senyawa standar dan literatur.

Sumber Hesperidin	$\lambda_{max}$ (nm)	$\lambda_{standar}$ (nm)	$\lambda_{literatur}$ (nm)
Hesperidin jeruk Medan	283,6	283,2	284 nm
Hesperidin jeruk baby Java	283,0		
Hesperidin jeruk nipis	283,2		
Hesperidin jeruk limo	283,8		
Hesperidin jeruk purut	283,6		

Hasil penelitian menunjukkan panjang gelombang maksimum standar hesperidin pada 283,2 nm dengan absorbansi 0,698 pada konsentrasi 20 ppm. Panjang gelombang maksimum sampel bervariasi dari 283,0 nm (jeruk *baby Java*) hingga 283,8 nm (jeruk limo) dengan nilai absorbansi yang berbeda-beda pada konsentrasi yang sama (20 ppm) (Tabel 2). Panjang gelombang hesperidin murni ini dalam rentang panjang gelombang hesperidin yang dilaporkan sebelumnya berkisar dari 283-285 nm (Kuntić et al., 2012; Srilatha et al., 2013). Adanya perbedaan panjang gelombang sampel dan standar diakibatkan karena terjadinya pergeseran batokromik (perubahan absorbansi ke panjang gelombang lebih besar) atau hipokromik (perubahan absorbansi ke panjang gelombang lebih kecil) akibat substitusi atau efek pelarut (Kuntić et al., 2012). Overlay spektrum UV-Vis dari semua sampel dan hesperidin murni

(standar) dilakukan untuk memungkinkan perbandingan langsung posisi  $\lambda_{max}$  serta mengidentifikasi adanya pergeseran batokromik atau hipokromik antar sampel ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3: Overlay spektrum UV-Vis absorbansi isolat hesperidin yang diperoleh dari jeruk baby Java, jeruk limo, jeruk Medan, jeruk nipis, dan jeruk purut dibandingkan dengan hesperidin murni. Spektrum dinormalisasi untuk perbandingan visual. Kurva dihaluskan dengan interpolasi kubik dan filter Savitzky–Golay (window = 21, polyorder = 3) hanya untuk visualisasi; nilai  $\lambda_{max}$  dievaluasi dari data mentah. Garis putus-putus menunjukkan  $\lambda_{max}$  literatur hesperidin (~283 nm)

Kemurnian hesperidin dikonfirmasi dengan cara uji titik leleh menggunakan *melting point apparatus* dengan pengulangan tiga kali untuk masing-masing sampel. Hasil dari pengujian yang dilakukan ditunjukkan pada Tabel 3. Hesperidin murni (96%) memiliki rentang titik leleh 252-254°C, sedangkan isolat hesperidin dalam kajian ini memiliki variasi titik leleh di bawah nilai tersebut menunjukkan bahwa bahwa hesperidin yang diisolasi ini masih belum murni sebagaimana terlihat pada Tabel 3. Konsistensi hasil pada pengulangan triplo menunjukkan reproduibilitas yang baik dari metode yang digunakan. Adanya variasi titik leleh antar sampel dapat mengindikasikan perbedaan tingkat kemurnian dari isolat hesperidin tersebut juga menunjukkan masih adanya senyawa pengotor lain.

Tabel 3: Hasil titik leleh isolat dari lima kulit buah jeruk dibandingkan dengan hesperidin murni (standar). Setiap sampel diuji titik lelehnya masing-masing 3 kali

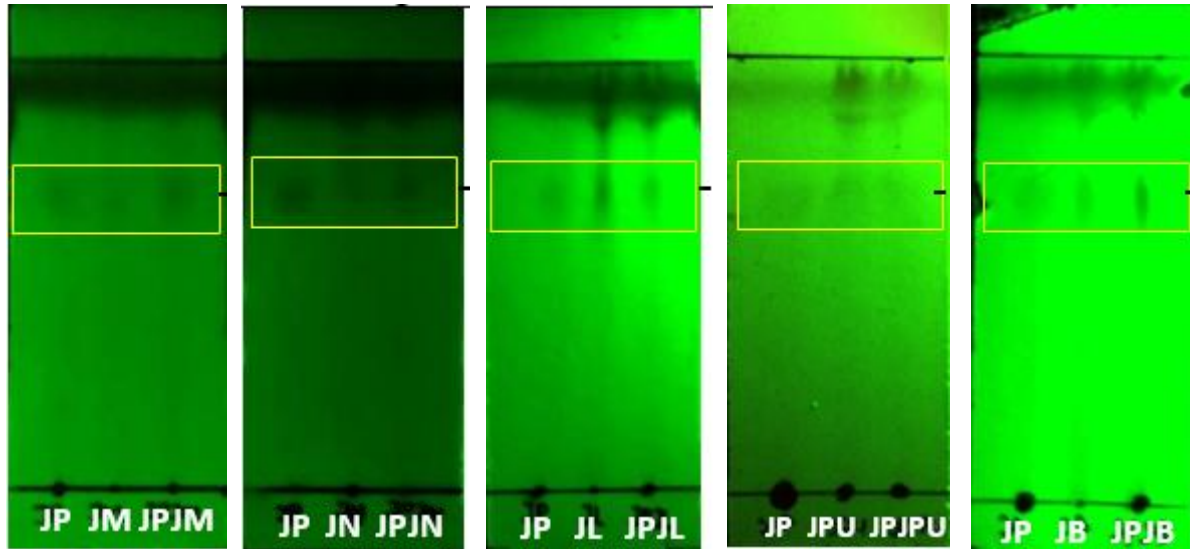
Asal Isolat Hesperidin	Titik leleh (°C)
Kulit Jeruk Medan	241-245
Kulit Jeruk Baby Java	243-247
Kulit Jeruk Nipis	237-243
Kulit Jeruk Purut	233-239
Kulit Jeruk Limo	241-244
Hesperidin murni (standar)	252-254

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik analisis kualitatif yang memisahkan komponen sampel berdasarkan perbedaan kepolaran dan menghasilkan bercak yang merepresentasikan senyawa tertentu (Rachman et al., 2017). Plat KLT diaktivasi terlebih dahulu untuk menghilangkan air dan menghasilkan silika gel aktif yang optimal (Kowalska & Sajewicz, 2022). Sampel hesperidin dilarutkan dalam metanol panas karena hesperidin memiliki kelarutan yang baik dalam metanol panas (Paczkowska-Walendowska et al., 2023).

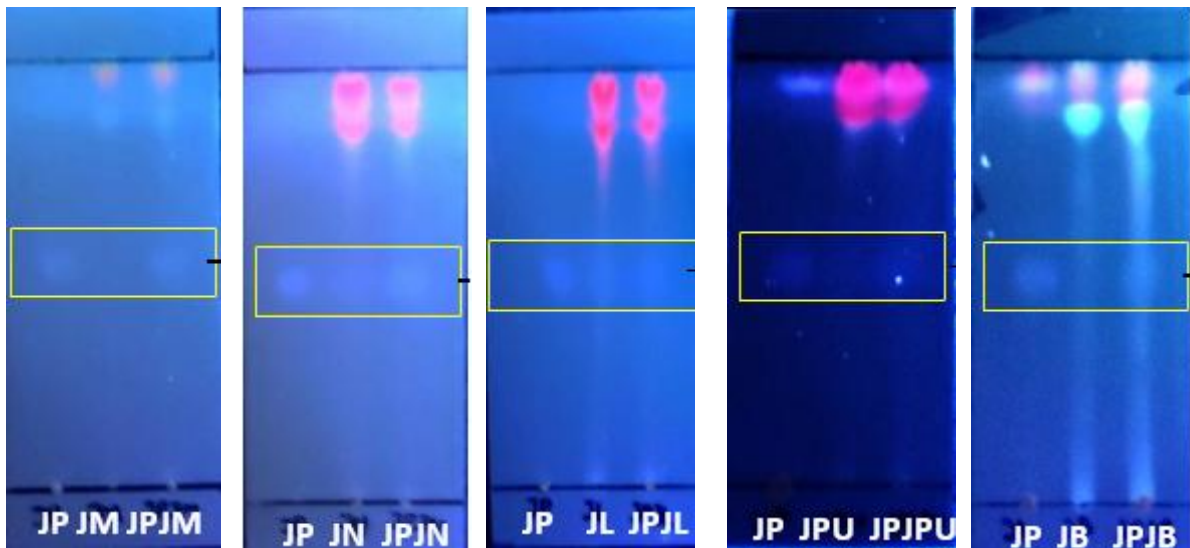
Hasil monitoring menggunakan KLT menunjukkan spot pada lampu UV 254 nm dan 366 nm untuk lima sampel, mengkonfirmasi adanya senyawa hesperidin sebagai ditunjukkan pada Gambar 4. Namun, terdeteksi adanya pengotor pada bagian atas plat, menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh belum murni sempurna dan memerlukan purifikasi lebih lanjut menggunakan pelarut non-polar. Nilai  $R_f$  hesperidin murni berkisar antara 0,64-0,66 dan semua isolat hesperidin dari kulit jeruk pada plat KLT

menunjukkan pola dan nilai Rf yang sama dengan hesperidin murni (Gambar 4. A). Semua nilai Rf memenuhi persyaratan yaitu antara 0,2-0,8. Semua sampel yang diujikan juga menunjukkan pola yang sama dengan nilai Rf hesperidin murni sebagai standar atau pembanding (Gambar 4. B). Perbedaan nilai Rf pada lampu UV 254 nm dan 366 nm dapat disebabkan oleh beberapa faktor termasuk perbedaan sifat fisikokimia sampel, pengaruh senyawa lain dalam sampel, kondisi uap dalam chamber, aktivitas plat, ketebalan, serta kejenuhan dan kerapatan plat (Fajriani *et al.*, 2022).

A. Pola Plat KLT di bawah UV 254 nm

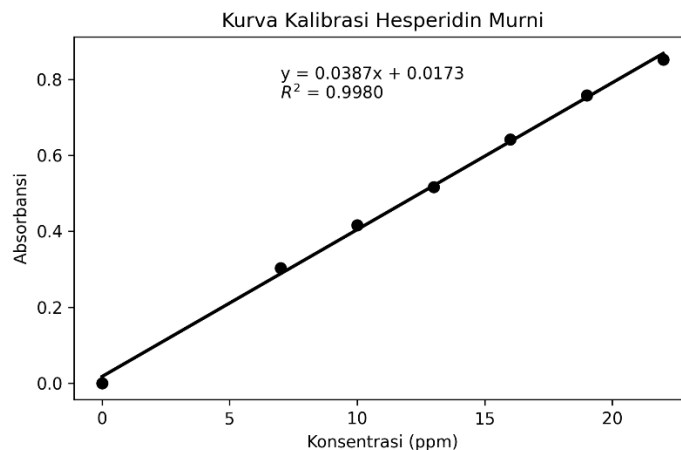


B. Pola Plat KLT di bawah UV 366 nm



Gambar 4: Pola kromatografi lapis tipis setelah disinari dengan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm (A, atas) dan 366 nm (B, bawah). Eluen yang digunakan etil asetat: metanol:asam asetat (7:3:0,5). Hasil kromatogram menunjukkan masih ada pengotor dari isolat hesperidin yang diperoleh dari beberapa jenis jeruk dalam kajian ini. Masing-masing gambar dikerjakan secara individual. **Keterangan singkatan:** JP: hesperidin pembanding; JM: jeruk Medan; JPJM: hesperidin+jeruk medan; JN: jeruk nipis; JPJN: hesperidin+jeruk nipis; JL: jeruk limo; JPJL: hesperidin+jeruk limo; JPU: jeruk purut; JPJPU: hesperidin+jeruk purut; JB: jeruk baby Java; JPJB: hesperidin+jeruk baby Java

Selanjutnya, untuk memastikan bahwa metode analisis spektrofotometri UV-Vis yang digunakan untuk kuantifikasi hesperidin mampu menghasilkan data yang akurat, presisi, spesifik, dan konsisten diperlukan validasi metode. Parameter-parameter dalam validasi metode tersebut adalah linearitas, LOD dan LOQ, akurasi dan presisi. Parameter linearitas menunjukkan hubungan proporsional antara konsentrasi analit dengan respons instrumen. Kurva kalibrasi berdasarkan hukum Lambert-Beer dibuat menggunakan variasi konsentrasi hesperidin yakni 7, 10, 13, 16, 19, dan 22 ppm dengan serapan dalam rentang ideal 0,2-0,8 (Armbruster & Pry, 2008; Kuntić et al., 2012). Hasil dari pengukuran tersebut ditampilkan pada Gambar .



Gambar 5: Kurva kalibrasi hesperidin murni diperoleh dari pengukuran absorbansi larutan standar pada berbagai konsentrasi (7–22 ppm) menggunakan spektrofotometri UV–Vis pada  $\lambda = 283 \text{ nm}$ .

Kurva kalibrasi menghasilkan persamaan  $y = 0,0387x + 0,0173$  dengan koefisien determinasi ( $r^2$ ) sebesar 0,998. Nilai  $r^2 = 0,998$  menunjukkan keakuratan 99,8% dalam menentukan konsentrasi dan memenuhi persyaratan  $r^2 > 0,99$  (Alam et al., 2014). Hubungan linear yang sangat baik ini mengkonfirmasi bahwa metode spektrofotometri UV-Vis cocok untuk analisis kuantitatif hesperidin.

Suatu zat yang akan dianalisis harus memiliki batas minimum konsentrasi yang bisa dideteksi (*limit of detection*, LOD) dan batas konsentrasi yang bisa dideteksi secara akurat dan presisi (*limit of quantification*, LOQ) (Armbruster & Pry, 2008) . Hasil LOD dan LOQ untuk sampel ini adalah 0,92 dan 3,07 ug/mL berturut-turut. Nilai ini juga mendekati dengan kajian sebelumnya yakni LOD 0,9 ug/mL dan LOQ 3.2 ug/mL (Kuntić et al., 2012). Oleh sebab itu, nilai ini menunjukkan bahwa spektrofotometer UV-Vis yang digunakan dapat memberikan respons analisis hesperidin dengan sensitivitas yang memadai. Parameter akurasi dari pengujian kadar hesperidin menggambarkan kedekatan hasil pengujian dengan kadar sebenarnya dan dinyatakan sebagai persen *recovery*. Pengujian menggunakan metode penambahan standar pada tiga level konsentrasi (30%, 45%, dan 60%) dengan tiga kali pengulangan setiap level.

Tabel 4: Hasil pengukuran akurasi hesperidin murni pada kadar 30%, 45% dan 60%.

Konsentrasi	Absorbansi	Kadar (ppm)	Rerata (ppm)	Kadar	%Recovery	Rerata %Recovery	SD	%RSD
30%	0,782	19,760	19,855		62,877	63,60	0,083	0,418
	0,787	19,889			63,869			
	0,788	19,915			64,069			
45%	0,876	22,189	22,197		81,561	81,63	0,014	0,063
	0,877	22,214			81,754			
	0,876	22,189			81,562			
60%	0,975	24,747	24,686		101,238	100,77	0,054	0,219
	0,972	24,669			100,638			
	0,971	24,643			100,438			
<b>Perhitungan rata-rata hanya menggunakan data dari konsentrasi 45% dan 60% ,</b>						<b>91,18</b>	<b>0,050</b>	<b>0,233</b>
sementara itu konsentrasi 30% dikeluarkan dari perhitungan karena di bawah 80%								

Hasil uji akurasi menunjukkan pada konsentrasi 30% *recovery*-nya 63,60% yang nilainya berada di bawah batas yang diterima oleh ICH yakni 80,00%. Akan tetapi pada konsentrasi 45% dan 50% persentase *recovery* masing-masing 81,63% dan 100,77% (rata-rata 91,19%) berada di dalam kisaran yang diterima metode analitis (Tabel 4). Oleh karena konsentrasi 30% tidak memenuhi kriteria, maka tidak digunakan dalam perhitungan nilai akhir akurasi.

Parameter presisi menggambarkan kedekatan hasil pengujian berulang dan dinyatakan sebagai persen relative standard deviation (%RSD). Pengujian dilakukan dengan *repeatability* menggunakan kondisi yang sama dalam waktu singkat.

Tabel 5: Hasil pengukuran presisi hesperidin murni pada kadar 30%, 45% dan 60%.

Konsentrasi	Absorbansi	Kadar (ppm)	Rerata Kadar (ppm)	SD	%RSD
30%	0,782-0,828	19,760-20,948	20,290	0,526	2,592
45%	0,876-0,876	22,189-22,214	22,193	0,010	0,045
60%	0,971-0,976	24,643-24,773	24,712	0,051	0,206
Rerata			22,398	0,200	0,964

Hasil uji presisi menunjukkan %RSD rata-rata sebesar 0,964% (Tabel 5) yang memenuhi persyaratan BPOM yaitu  $\leq 7,3\%$  (Widiantara et al., 2020). Nilai SD yang rendah (0,200) mengindikasikan reproducibility yang baik dari metode analisis yang dikembangkan.

Penetapan kadar isolat hesperidin dilakukan pada panjang gelombang maksimum 283,2 nm dengan tiga kali pengulangan untuk setiap sampel. Penentuan kadar isolat hesperidin ini didasarkan pada pendekatan *assay-based purity*, yakni dengan membandingkan kadar hesperidin yang ditentukan secara spektroskopi UV-Vis terhadap bobot total isolat. Kadar hesperidin dihitung menggunakan persamaan linear  $y = 0,0387x + 0,0173$  yang diperoleh dari kurva kalibrasi hesperidin murni. Hasil penetapan kadar menunjukkan variasi yang signifikan antar isolat hesperidin dari berbagai jenis jeruk sebagaimana terlihat pada Tabel 6.

Tabel 6: Data kemurnian masing-masing isolat kulit jeruk

Asal Isolat Hesperidin	Persentase Kemurnian
Kulit buah jeruk baby Java	86,14%
Kulit buah jeruk limo	75,25%
Kulit buah jeruk Medan	64,43%
Kulit buah jeruk nipis	56,36%
Kulit buah jeruk purut	17,94%

Empat sampel (jeruk Medan, nipis, *baby* Java, dan limo) memenuhi persyaratan LOQ (3,07 ppm) yang menyarankan bahwa konsentrasi sampel berada dalam batas penerimaan yang valid untuk analisis akurat dan presisi. Sampel kulit jeruk purut dalam hal ini belum memenuhi persyaratan LOQ sehingga hasil analisis kurang dapat diterima dari segi akurasi dan presisi (Widiantara et al., 2020). Perbedaan kadar hesperidin antar sampel dapat disebabkan oleh faktor genetik, kondisi geografis tempat tumbuh, tingkat kematangan buah, dan kondisi penyimpanan (Chang & Yen, 1997; Rao et al., 2025). Variabilitas ini menunjukkan pentingnya standarisasi sumber bahan baku dalam aplikasi farmasi atau nutraceutical yang memerlukan kadar hesperidin konsisten.

#### 4. KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa perbedaan jenis jeruk berperan signifikan terhadap rendemen dan kadar hesperidin yang diperoleh yang secara berturut-turut dari spesies yang paling tinggi kadarnya yakni hesperidin dari kulit buah jeruk baby Java sebesar 5,72%, diikuti kulit buah jeruk Medan, jeruk nipis, jeruk limo dan jeruk purut. Karakterisasi isolat hesperidin dari uji titik leleh, penampakan pada KLT dibandingkan dengan senyawa hesperidin murni serta uji titik leleh menunjukkan penelitian ini telah berhasil mengisolasi hesperidin, namun masih memerlukan dilanjutkan ke tahap pemurnian. Metode Spektroskopi UV-Vis menunjukkan bahwa analisis kuantitatif hesperidin andal dan valid dengan linearitas ( $r^2=0,998$ ), akurasi 82,0% dan presisi yang memadai (%RSD 0,96%). Metode ini

dengan demikian bisa digunakan untuk penetapan kadar hesperidin pada bahan alam dari kulit jeruk khususnya terdapat di Indonesia.

## SARAN

Penelitian lanjutan disarankan optimasi purifikasi hesperidin, seleksi pelarut untuk peningkatan kemurnian hesperidin dan dilakukan standarisasi kondisi ekstraksi berupa ukuran partikel, rasio sampel pelarut sampai pada waktu ekstraksi. Validasi metode analisis perlu diperluas dengan parameter tambahan seperti *robustness* dan *ruggedness* untuk memastikan metode dapat diterapkan dalam kondisi laboratorium yang berbeda.

## 5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada: (1) Dyori Yuki Dipa atas dukungan teknis dalam implementasi dan eksekusi analisis data berbasis Python menggunakan Jupyter Lab, (2) segenap laboran PNA 3, PMC, dan PBB di Prodi Farmasi UINJKT atas bantuan teknis selama penelitian.

## 6. REFERENSI

- Aggarwal, V., Tuli, H. S., Thakral, F., Singhal, P., Aggarwal, D., Srivastava, S., Pandey, A., Sak, K., Varol, M., Khan, M. A., & Sethi, G. (2020). Molecular mechanisms of action of hesperidin in cancer: Recent trends and advancements. In *Experimental Biology and Medicine* (Vol. 245, Issue 5). <https://doi.org/10.1177/1535370220903671>
- Ahsan, F., Rahmawati, N. Y., & Alditia, F. N. (2020). Lawan Virus Corona: Studi Nutrisi untuk Kekebalan Tubuh. In *Airlangga University Press*.
- Alam, P., Alam, A., Anwer, M. K., & Alqasoumi, S. I. (2014). Quantitative estimation of hesperidin by HPTLC in different varieties of citrus peels. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(4). <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014C1007>
- Alfinda Novi Kristanti, D. (2019). Fitokimia. *Airlangga University Press*.
- Armbruster, D. A., & Pry, T. (2008). Limit of blank, limit of detection and limit of quantitation. *The Clinical Biochemist. Reviews*, 29 Suppl 1.
- Azmir, J., Zaidul, I. S. M., Rahman, M. M., Sharif, K. M., Mohamed, A., Sahena, F., Jahurul, M. H. A., Ghafoor, K., Norulaini, N. A. N., & Omar, A. K. M. (2013). Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. *Journal of Food Engineering*, 117(4), 426–436. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.01.014>
- Chang, S. F., & Yen, G. C. (1997). Changes in hesperidin content in different parts of freshly harvested citrus fruits grown in Taiwan. *Journal of Food and Drug Analysis*, 5(1).
- Choi, S. S., Lee, S. H., & Lee, K. A. (2022). A Comparative Study of Hesperetin, Hesperidin and Hesperidin Glucoside: Antioxidant, Anti-Inflammatory, and Antibacterial Activities In Vitro. *Antioxidants*, 11(8). <https://doi.org/10.3390/antiox11081618>
- Garg, A., Garg, S., Zaneveld, L. J. D., & Singla, A. K. (2001). Chemistry and pharmacology of the Citrus bioflavonoid hesperidin. In *Phytotherapy Research* (Vol. 15, Issue 8). <https://doi.org/10.1002/ptr.1074>
- Hakim, A., Jamaluddin, J., Loka, I. N., Junaidi, E., & Aini, S. (2020). Isolasi Senyawa Hesperidindari Kulit Buah Jeruk Manis (*Citrus sinensis*). *Jurnal Pijar Mipa*, 15(4). <https://doi.org/10.29303/jpm.v15i4.1946>
- Ikarini, I., Harwanto, & Yunimar. (2021). Karakteristik Fisik dan Identifikasi Senyawa pada Minyak Atsiri dari Limbah Kulit Jeruk. *Agriprima : Journal of Applied Agricultural Sciences*, 5(2). <https://doi.org/10.25047/agriprima.v5i2.436>
- Kowalska, T., & Sajewicz, M. (2022). Thin-Layer Chromatography (TLC) in the Screening of Botanicals—Its Versatile Potential and Selected Applications. In *Molecules* (Vol. 27, Issue 19). <https://doi.org/10.3390/molecules27196607>
- Kuntić, V., Pejić, N., & Mičić, S. (2012). Direct spectrophotometric determination of hesperidin in pharmaceutical preparations. *Acta Chimica Slovenica*, 59(2).
- Mettler - Toledo. (2025). *UV/Vis Spectrophotometry: Fundamentals and Applications*. Mettler-Toledo.
- Mustiqawati, E., & Yolandari, S. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Ekstrak Daun Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia* S.) Dengan Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Promotif Prefentif*, 5(2).
- Oktafiani, R. O., Retnoningsih, A., & Widiatiningrum, T. (2022). Pengembangan E-Book Interaktif Tumbuhan Berbiji dengan Pendekatan Saintifik dan Kontekstual. *Bioeduca : Journal of Biology Education*, 4(1), 67–83. <https://doi.org/10.21580/bioeduca.v4i1.10858>

- Osorio-Tobón, J. F. (2020). Recent advances and comparisons of conventional and alternative extraction techniques of phenolic compounds. In *Journal of Food Science and Technology* (Vol. 57, Issue 12). <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04433-2>
- Paczkowska-Walendowska, M., Miklaszewski, A., & Cielecka-Piontek, J. (2023). Improving Solubility and Permeability of Hesperidin through Electrospun Orange-Peel-Extract-Loaded Nanofibers. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9). <https://doi.org/10.3390/ijms24097963>
- Patel, S., Raulji, A., Patel, D., Panchal, D., Dalwadi, M., & Upadhyay, U. (2022). A Review on “Uv Visible Spectroscopy.” *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, 7(5), 1151.
- PDSIP Kementerian Pertanian. (2023). *Analisis Kinerja Perdagangan Jeruk* (Semester II 2023). Pusat Data dan Sistem Informasi Pertanian, Sekretariat Jenderal, Kementerian Pertanian.
- Puspitasari, & Juliati. (2021). Modifikasi Waterbath Dan Soxhlet Pada Analisis Kadar Lemak. *Prosiding 5th Seminar Nasional Penelitian & Pengabdian Kepada Masyarakat*.
- Pyrzynska, K. (2022). Hesperidin: A Review on Extraction Methods, Stability and Biological Activities. *Nutrients*, 14(12). <https://doi.org/10.3390/nu14122387>
- Rachman, S. D., Mukhtari, Z., & Soedjanaatmadja, R. U. M. (2017). Pembuatan Spektrofotometer Edukasi Untuk Analisis Senyawa Pewarna Makanan. *Chimica et Natura Acta*, 5(3), 124–131.
- Ranova, R. (2017). *Optimasi Ekstraksi Hesperidin dari Buah Jeruk Nipis (Citrus Aurantiifolia Swingle) dan Jeruk Purut (Citrus Hystrix Dc)* [Thesis S2]. Universitas Andalas.
- Ranova, R., Rahmadani, E., Farmasi, A., & Bonjol, I. (2022). Jeruk Siam Gunung Omeh Dan Kulit Buah Jeruk Comparison of Hesperidine From the of Siam Gunuang Omeh Orange Fruit Skin and Pasaman. *SITAWA*, 1(2).
- Rao, M. J., Wang, H., Lei, H., Zhang, H., Duan, X., Bao, L., Yang, C., Han, D., Zhang, Y., Yang, S., & Duan, M. (2025). LC-MS/MS-based metabolomic study provides insights into altitude-dependent variations in flavonoid profiles of strawberries. *Frontiers in Plant Science*, 15. <https://doi.org/10.3389/fpls.2024.1527212>
- Rassem, H., Nour, A., & R. M., Y. (2016). Techniques For Extraction of Essential Oils From Plants: A Review. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 10(16), 117–127.
- Rinidar, Isa, Armansyah, & Hasan. (2017). *Farmakologi Obat Tradisional Hewan Prospek Wedelia Biflora : Sebagai Bahan Baku Obat Antipireutik-Analgesik*. Syiah Kuala University Press.
- Rusmawati, L., Rahmawan Sjahid, L., & Fatmawati, S. (2021). Pengaruh Cara Pengeringan Simplisia Terhadap Kadar Fenolik Dan Aktivitas Tabir Surya Ekstrak Etanol 70% Daun Cincau Hijau (*Cyclea barbata* Miers). *Media Farmasi Indonesia*, 16(1), 1643–1651. <https://doi.org/10.53359/mfi.v16i1.171>
- Samota, M. K., Kaur, M., Sharma, M., Sarita, Krishnan, V., Thakur, J., Rawat, M., Phogat, B., & Guru, P. N. (2023). Hesperidin from citrus peel waste: extraction and its health implications. In *Quality Assurance and Safety of Crops and Foods* (Vol. 15, Issue 2). <https://doi.org/10.15586/qas.v15i2.1256>
- Srilatha, D., Nasare, M., Nagasandhya, B., Prasad, V., & Diwan, P. (2013). Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Simultaneous Estimation of Hesperidin and Diosmin in the Pharmaceutical Dosage Form. *ISRN Spectroscopy*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/534830>
- Widiantara, I. M., Yulianti, Y., & Basri, B. S. (2020). Ekstraksi Beta Karoten Dari Buah Kelapa Sawit (*Elaeis Guineensis*) Dengan Dua Jenis Pelarut. *Gorontalo Agriculture Technology Journal*, 3(1), 38. <https://doi.org/10.32662/gatj.v3i1.1198>
- Xiong, H., Wang, J., Ran, Q., Lou, G., Peng, C., Gan, Q., Hu, J., Sun, J., Yao, R., & Huang, Q. (2019). Hesperidin: A therapeutic agent for obesity. In *Drug Design, Development and Therapy* (Vol. 13). <https://doi.org/10.2147/DDDT.S227499>