

B8

Volume 10, Nomor 1, April 2005

ISSN: 1412-3991

JURNAL PENELITIAN

S a i n t e k

- Peningkatan Rasio Pemampatan Tebal Garam dan Pengurangan Keausan Pahat dengan Memodifikasi Pahat Bermata Potong Dua pada Mesin
- Pembuatan Membran Komposit Polisulfon-Selulosa Asetat untuk Pemisahan Zat Warna Tekstil
- Sintesis Dibenzil Tereftalat melalui Depolimerisasi Poli (etilena tereftalate) sebagai Alternatif Daur Ulang Plastik Bekas
- Kromatografi Lapis Tipis untuk Penentuan Kadar Hesperidin dalam Kulit Buah Jeruk
- Aktivitas Antioksidan Bubuk Buah Kesemek (*Dyospirus Khaki*)
- Efektifitas Sitem Informasi Akademik (Siakad) Berbasis Komputer di
- Pemanfaatan Oplosan Limbah (Serbuk Gergaji, Lilin Batik dan Plastik) untuk Bahan Baku Kerajinan



LEMBAGA PENELITIAN
UNIVERSITAS NEGERI YOGYAKARTA

JURNAL PENELITIAN S a i n t e k

JURNAL PENELITIAN S a i n t e k

Penerbit:

Lembaga Penelitian Universitas Negeri Yogyakarta

Pemimpin Umum/Penanggung Jawab:

Ketua Lembaga Penelitian Universitas Negeri Yogyakarta

Redaksi:

Ketua: Dr. Wardan Suyanto, M.A.

Sekretaris: Dr. dr. BM Wara Kushartanti, M.S.

Redaktur Ahli: 1. Prof. Dr. Wuryadi, M.S. (UNY)

2. Ir. Samsul Kamal, Ph.D. (UGM)

3. Dr. Yateman Aryanto (UGM)

Redaktur Pelaksana: Suparno, Mapp.Sc., Ph.D.

Anggota Redaktur: 1. Prof. Dr. Nurfina Aznam, Apt., S.U.

2. Drs. Agus Budiman, M.Pd., M.T.

3. Dr. Zamzani, M.Pd.

Mitra Bestari: Prof. Dr. Djohar (UNY)

Tata Usaha/Pelaksana:

Dra. Sri Ningsih

Setting dan Tata Letak:

Drs. Dulgani

Alamat Redaksi/Tata Usaha:

Lembaga Penelitian Universitas Negeri Yogyakarta

Gedung LPM Lantai II – Karangmalang, Yogyakarta. 55281

Telepon (0274) 586168 pesawat 242, 262, Fax (0274) 518617

http://www.uny.ac.id

e-mail: sekreta@telkom.net

Jurnal Penelitian Saintek merupakan lanjutan dari

Jurnal Penelitian Iptek dan Humaniora

Frekuensi terbit: tengah tahunan

Semua tulisan yang ada dalam Jurnal Penelitian Saintek bukan merupakan cerminan sikap dan/atau pendapat Dewan Redaksi. Tanggung jawab terhadap isi dan/atau akibat dari tulisan tetap terletak pada penulis.

DAFTAR ISI

	Halaman
Daftar Isi	i
Peningkatan Rasio Pemampatan Tebal Geram dan Pengurangan Keausan Pahat dengan Memodifikasi Pahat Bermata Potong Dua pada Mesin Bubut <i>Oleh: Didik Nurhadiyanto dkk.</i>	1-19
Pembuatan Membran Komposit Polisulfon-Selulosa Asetat untuk Pemisahan Zat Warna Tekstil <i>Oleh: Heru Pratomo Al.</i>	20-36
Sintesis Dibenzil Tereftalat melalui Depolimerisasi Poli(etilena tereftalate) sebagai Alternatif Daur Ulang Plastik Bekas <i>Oleh: Suwardi dkk.</i>	37-52
Kromatografi Lapis Tipis untuk Penentuan Kadar Hesperidin dalam Kulit Buah Jeruk <i>Oleh: Sri Handayani dkk.</i>	53-68
Aktivitas Antioksidan Bubuk Buah Kesemek (<i>Dyospirus Kaki</i>) <i>Oleh: Mutiara Nugraheni</i>	69-87

Efektivitas Sistem Informasi Akademik (Siakad) Berbasis Komputer di UNY <i>Oleh: Lantip Diat Prasajo</i>	88-108
Pemanfaatan Oplosan Limbah (Serbuk Gergaji, Lilin Batik, dan Plastik) untuk Bahan Baku Kerajinan <i>Oleh: Edin Suhaedin Purnama Giri dkk.</i>	109-126
Biodata Penulis	127-129

KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS UNTUK PENENTUAN KADAR HESPERIDIN DALAM KULIT BUAH JERUK

Oleh:

Sri Handayani, Sunarto, dan Susila Kristianingrum
Staf Pengajar FMIPA UNY

Abstract

This research with the title Thin Layer Chromatography for Determination of Hesperidins Content in Orange Peel has been done in organic chemistry laboratory. The aim of this research is to select the solvent mix for the best hesperidins standard peak result and to determinate the content (in relative percentage) of some orange peel.

Hesperidins isolation from orange peel conduct by soaks the orange peel piece in 10% Calcium hydroxide solution for a night in room temperature. The mixture than filtered and neutralized with hydrochloric acid to obtain hesperidins contain filtrate. Hesperidins analyzed by thin layer chromatography. Characterization of hesperidins did by compare the sample chromatogram with standard chromatogram. The yield (in relative percentage) determinate by compare the sample peak area with hesperidins standard peak area. The solvent mix selected before by attempt some solvent mix for eludate hesperidins standard solution.

The result of this research shown that hesperidins can analyzed using thin layer chromatography method, with the best solvent was chloroform : methanol mixture (2 : 3). Hesperidins content in extract solution of some strain orange peel is; Baby Egypt 0,1380%, Baby Pacitan 0,0615%, Mandarin Lokam 0,0018%, Santang 0,0049%, and Sunkist Nevel 0,0360%. The hesperidins content in orange peel of Mandarin Pakistan, Medan super, Nipis, Sunkist, Peras, and Purut was 0,0000. The hesperidins content in these orange peel was too low to be detected.

Keywords: Hesperidins, Orange peel, thin layer chromatography.

PENDAHULUAN

Penelitian tentang senyawa flavonoid telah banyak dilakukan, misalnya isolasi dari bahan alam, sintesis, uji aktivitas maupun kombinasi dari ketiganya. Keempat macam penelitian tersebut selalu membutuhkan instrumentasi untuk elusidasi struktur. Karakterisasi yang biasa dilakukan untuk penentuan struktur flavonoid adalah menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan Resonansi Magnetik Inti ($^1\text{H-NMR}$: *Nuclear Magnetic Resonance*).

Penggunaan spektrofotometer UV-Vis bertujuan untuk mengetahui apakah senyawa yang dianalisis mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi atau tidak (Hardjono Sastrohamidjojo, 1991). Senyawa flavonoid memiliki gugus kromofor karena strukturnya mempunyai sistem aromatik yang terkonjugasi dengan ikatan rangkap $\text{C}=\text{C}$ maupun dengan ikatan $\text{C}=\text{O}$, sehingga senyawa flavonoid memperlihatkan serapan pada daerah ultraviolet maupun terlihat (Markham, 1988). Metode ini memerlukan waktu, tenaga, sampel, serta pereaksi yang banyak sehingga membutuhkan biaya yang tidak sedikit. Untuk suatu penelitian sederhana, instrumen ini kurang efektif dan efisien.

$^1\text{H-NMR}$ digunakan dalam identifikasi flavonoid untuk memperkirakan kerangka flavonoid tersebut dengan mengetahui jenis proton yang dimilikinya. Perbedaan jenis proton mempengaruhi pergeseran dalam spektrum $^1\text{H-NMR}$, sehingga

dapat juga digunakan untuk menentukan pola oksigasinya dan penentuan jumlah gugus metoksinya, hal ini berhubungan dengan ukuran puncak dan integrasi yang sebanding dengan jumlah protonnya (Markham, 1988). Penggunaan instrumen ini memiliki kekurangan yaitu mahal, membutuhkan sampel relatif banyak dan sampel yang dianalisis harus memiliki kemurnian yang tinggi. Kekurangan ini sangat menyulitkan dalam analisis hasil isolasi bahan alam yang umumnya hasilnya sangat sedikit dan kemurniannya kecil.

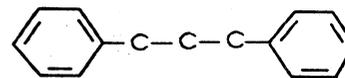
Identifikasi flavonoid dapat dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT merupakan cara cepat dan mudah untuk melihat kemurnian suatu sampel maupun karakterisasi sampel dengan menggunakan standar. Cara ini praktis untuk analisis skala kecil karena hanya memerlukan bahan yang sangat sedikit dan waktu yang dibutuhkan singkat. Kemurnian suatu senyawa bisa dilihat dari jumlah bercak yang terjadi pada plat KLT atau jumlah puncak pada kromatogram KLT. Uji kualitatif dengan KLT dapat dilakukan dengan membandingkan waktu retensi kromatogram sampel dengan kromatogram senyawa standar (Markham, 1988).

Dalam penelitian ini akan ditentukan kadar hesperidin kulit buah jeruk menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Metode ini digunakan khususnya untuk mahasiswa Pendidikan Kimia karena tidak mendapatkan matakuliah Kimia Instrumen sehingga

pengetahuan mereka sangat terbatas dalam hal analisis kimia. Selain itu metode ini sangat mudah dilakukan, dapat digunakan untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif, hanya memerlukan sampel sedikit, serta lebih murah dibandingkan dengan metode yang lain. Oleh karena itu, metode ini sangat penting untuk pembelajaran tentang analisis kimia yang mudah, murah, dan efisien.

Buah jeruk yang akan digunakan adalah buah jeruk yang memiliki kulit berwarna kuning karena seperti diketahui senyawa flavonoid khususnya kalkon dan flavanon adalah senyawa yang sebagian besar berwarna kuning atau orange sehingga sering digunakan sebagai zat warna (Bedoukian, 1958). Hesperidin adalah salah satu jenis flavanon yang dapat diisolasi dari bahan alam. Hesperidin pertama kali diisolasi oleh Liberton pada tahun 1828 dari kulit jeruk sebelah dalam yang berwarna putih dari famili *hesperides* dan diberi nama hesperidin. Hesperidin juga dapat diisolasi dari *Citrus mitis* oleh Sastry dan Row (Ikan, 1991).

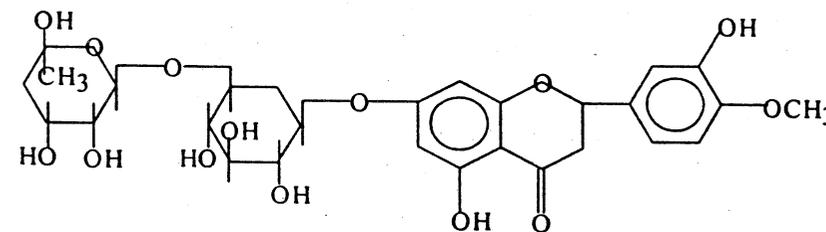
Senyawa flavonoid merupakan senyawa yang memiliki deretan C₆-C₃-C₆ artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) yang disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon. Kerangka dasar flavonoid terlihat pada Gambar 1 (Hardjono Sastrohamidjojo, 1996).



Gambar 1. Kerangka Dasar Flavonoid

Pembagian kelas dalam flavonoid dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik-oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berbeda. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Golongan terbesar flavonoid berciri mempunyai cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu dari cincin benzena. Beberapa contoh golongan flavonoid adalah kalkon, flavanon, flavon, isoflavon, flavonol, flavanonol, serta auron. Di dalam buah jeruk, flavonoid terdapat sebagai hesperidin, salah satu jenis flavanon.

Hesperidin adalah senyawa tidak pahit dan merupakan senyawa flavonoid yang dominan dalam lemon dan jeruk. Salah satu sifat fisik hesperidin adalah ketidaklarutannya yang tinggi. Hal ini menyebabkan hesperidin merupakan salah satu senyawa flavonoid yang mudah diisolasi. Struktur hesperidin disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hesperidin

Flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan mulai dari fungus sampai angiospermae. Flavonoid terdapat baik dalam bagian vegetatif maupun dalam bunga pada tumbuhan tingkat tinggi.

Beberapa kemungkinan fungsi flavonoid untuk tumbuhan yang mengandungnya ialah pengaturan tumbuh, pengaturan fotosintesis, kerja antimikroba dan antivirus, dan kerja terhadap serangga. Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional (Robinson, 1995).

METODE PENELITIAN

Sampel yang diisolasi adalah kulit buah jeruk Baby Egypt, Baby Pacitan, Mandarin Lokam, Mandarin Pakistan, Medan super, Nipis, Sunkist, Peras, Purut, Santang, dan Sunkist Nevel. Kulit buah jeruk dipotong-potong dan ditimbang sebanyak 20 g. Isolasi hesperidin dilakukan dengan cara merendam 20 g potongan kulit jeruk dalam 75 mL larutan kalsium hidroksida 10% selama semalam pada suhu kamar. Campuran selanjutnya disaring dengan kertas saring dan dinetralkan dengan HCl sehingga diperoleh filtrat berwarna kuning yang mengandung hesperidin.

Hesperidin standar dilarutkan dengan metanol dan dipanaskan menggunakan penangas air. Larutan hesperidin ditotolkan pada pelat KLT ukuran 1 cm x 7,5 cm, kemudian dikembangkan menggunakan berbagai pelarut yang dicoba dengan jarak tempuh eluen 6 cm. Hasil KLT dibaca dengan *TLC scanner* pada panjang gelombang 254 nm sehingga diperoleh kromatogram standar. Hasil kromatogram standar dengan berbagai pelarut dipilih yang paling baik.

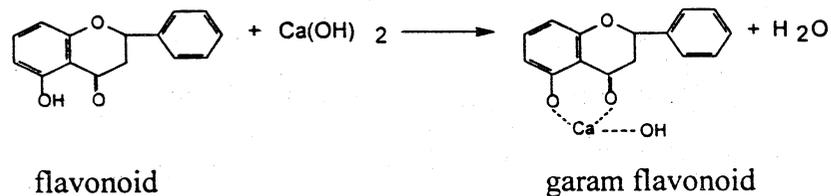
Filtrat yang telah diperoleh ditotolkan pada pelat KLT dengan ukuran 1 cm x 7,5 cm. Pelat KLT yang sudah ditotol dengan filtrat sampel dan standar dikembangkan menggunakan pelarut hasil optimasi dengan jarak tempuh eluen 6 cm. Hasil pengembangan KLT dibaca dengan *TLC scanner* pada panjang gelombang 254 nm sehingga dapat diperoleh kromatogram sampel dan kromatogram standar.

Karakterisasi dilakukan dengan membandingkan waktu retensi kromatogram sampel dengan kromatogram standar. Puncak yang memiliki waktu retensi sama dengan waktu retensi hesperidin standar dihitung sebagai kadar hesperidin. Penentuan kadar/persentase relatif hesperidin dilakukan dengan cara membandingkan area puncak sampel dengan area puncak standar pada kromatogram KLT. Standar hesperidin sebagai pembanding dibuat dalam bentuk kurva standar kadar versus luas area. Data luas

area puncak tersebut pada kromatogram dibandingkan dengan kurva standar untuk memperoleh harga persen relatif hesperidin dalam sampel.

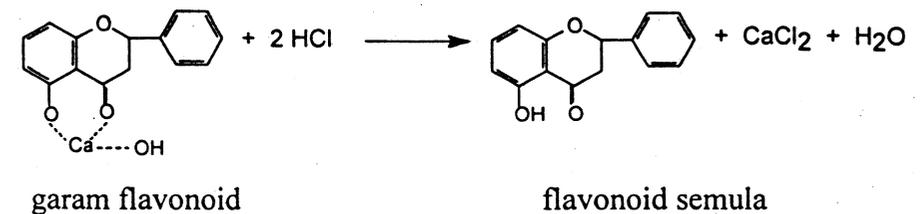
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi kulit buah Jeruk akan menghasilkan larutan ekstrak yang berwarna kuning. Hal ini sesuai dengan kenyataan bahwa senyawa-senyawa flavanoid, terutama flavanon dan kalkon berwarna kuning orange. Adanya warna ini membuktikan bahwa senyawa-senyawa tersebut larut. Larutnya senyawa-senyawa tersebut disebabkan adanya ikatan koordinasi antara kation kalsium dengan flavanoid, seperti digambarkan oleh Fiegel, seperti dikutip Sartana (1997) berikut:



Garam flavanoid cukup stabil karena flavanoid bertindak sebagai kelat, garam ini kemudian larut dalam pengestrak air. Pengasaman dilakukan untuk merubah flavanoid dalam bentuk garam menjadi flavanoid bentuk semula. Reaksinya adalah sebagai berikut.

Kromatografi Lapis Tipis untuk Penentuan Kadar Hesperidin dalam Kulit Buah Jeruk (Sri Handayani dkk.)



Eluen yang tepat sangat diperlukan untuk mendapatkan pemisahan senyawa-senyawa komponen sampel dengan baik. Pada penelitian ini telah diuji 6 pelarut, dengan cara mengaplikasikan pelarut-pelarut tersebut pada KLT terhadap sampel larutan standar hesperidin. Pelarut yang diuji adalah [1] metanol : diklorometana (8:2), [2] metanol : diklorometana (9:1), [3] metanol : diklorometana (1:9), [4] benzena : metanol (9:1), [5] n-butanol : asam asetat : akuades (9:6:1), [6] kloroform : asam asetat (2:3). Pemilihan pelarut-pelarut tersebut didasarkan pada literatur untuk pemisahan senyawa-senyawa flavanoid golongan flavanon glikosida (Ikan, 1991 & Markham, 1988).

Hasil KLT menggunakan pelarut-pelarut tersebut discan dengan KLT scanner. Secara umum hasil scan kromatogram dapat diuraikan pada Tabel 1 berikut:

Tabel 1. Data Kromatogram Standar Hesperidin pada Penentuan Pelarut

No	Pelarut	Rf max	Bentuk puncak	% hesperidin (recovery)
1	metanol : diklorometana (8:2)	0,84	Melebar	48,60
2	metanol : diklorometana (9:1)	0,78	Meruncing, terbentuk ekor (tailing)	71,06
3	metanol : diklorometana (1:9)	0,04	Meruncing, terbentuk ekor (tailing)	69,47
4	benzena : metanol (9:1)	0,04	Meruncing	75,88
5	n-butanol : asam asetat : akuades (9:6:1)	0,99	Meruncing, bagian awal melebar	63,54
6	kloroform : asam asetat (2:3)	0,39	Meruncing	89,27

Data tersebut diamati untuk memilih pelarut yang menghasilkan puncak kromatogram terbaik. Kriteria kromatogram yang baik adalah yang memiliki Rf mak sedang, bentuk meruncing, dan diperoleh persen *recovery* yang tinggi. Rf yang terlalu tinggi dan terlalu rendah menunjukkan pemisahan komponen yang belum efektif, bentuk puncak juga akan mempengaruhi efektivitas pemisahan, sedangkan persen *recovery* menunjukkan adanya puncak-puncak asing yang muncul.

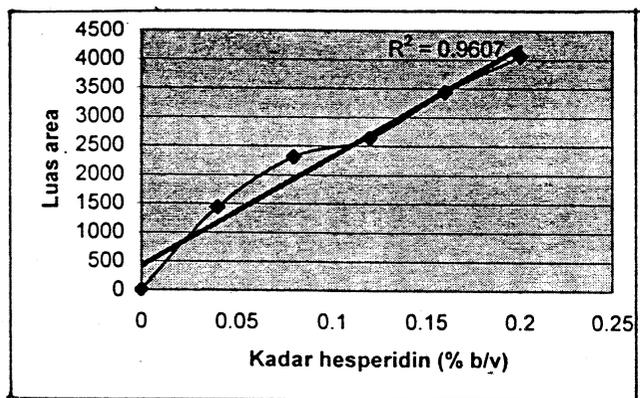
Berdasarkan kondisi di atas maka pelarut (6) kloroform : asam asetat (2:3) merupakan pelarut yang paling baik. Rf berada pada 0,39 dengan bentuk puncak yang meruncing, tidak terbentuk ekor (*tailing*). Persen *recovery* sebesar 89,27 tertinggi dibanding

pelarut yang lain. Pelarut (3) dan (4) menunjukkan Rf yang terlalu rendah, pada kondisi ini suatu campuran masih dimungkinkan belum terpisah secara efektif. Pelarut (1) dan (2) menunjukkan bentuk puncak yang kurang baik yaitu melebar atau terbentuk ekor (*tailing*). Sedangkan pelarut (5) menghasilkan Rf yang terlalu tinggi (0,99). Pelarut (6) selanjutnya digunakan untuk analisis kadar hesperidin dalam kulit buah jeruk yang diuji.

Langkah awal penentuan kadar hesperidin dalam sampel adalah dengan membuat kurva standar hesperidin. Kurva standar dibuat dengan cara melakukan elusi KLT terhadap larutan standar hesperidin yang telah diketahui kadarnya. Hasil KLT selanjutnya dibaca pada TLC scanner untuk memperoleh data luas area puncak hesperidin yang dihasilkan. Data luas area dari hesperidin standar yang disajikan pada Tabel 2 digunakan untuk membuat kurva standar konsentrasi versus luas area. Kurva standar konsentrasi versus luas area disajikan pada Gambar 3.

Tabel 2. Kadar Hesperidin Standar

No	Kadar hesperidin standar (% b/v)	Luas area
1	0,04	1433,8
2	0,08	2313,3
3	0,12	2633,8
4	0,16	3434,6
5	0,20	4052,8



Gambar 3. Kurva Standar Hesperidin

Kurva pada Gambar 3 menunjukkan bahwa semakin tinggi kadar hesperidin semakin tinggi pula luas areanya dengan peningkatan yang relatif linier. Persamaan garis dari kurva tersebut adalah $y = 15899 x + 869,55$. Setelah diketahui persamaan garis dari kurva standar, maka kadar hesperidin dalam larutan hasil isolasi dapat dihitung.

Sampel yang dianalisis KLT adalah larutan hasil isolasi, yaitu larutan perendaman kulit buah jeruk setelah disaring. Hasil KLT dianalisis dengan TLC scanner untuk memperoleh kromatogram. Data kromatogram akan menunjukkan luas area puncak-puncaknya. Luas area dari puncak dengan $R_f = 0,4$ (antara 0,3-0,5) merepresentasikan kadar hesperidin. Harga R_f tersebut merupakan

Kromatografi Lapis Tipis untuk Penentuan Kadar Hesperidin dalam Kulit Buah Jeruk (Sri Handayani dkk.)

harga R_f hesperidin berdasarkan pengujian terhadap standar. Luas area tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam rumus persamaan kurva standar untuk memperoleh kadar hesperidin dalam ekstrak.

Data luas area dan hasil perhitungan kadar hesperidin dalam ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Kadar Hesperidin dalam Ekstrak Kulit Jeruk

No	Jenis jeruk.	Luas area	Kadar hesperidin (% b/v)
1	Baby Egypt	3063,3	0,1380
2	Baby Pacitan	1843,3	0,0615
3	Mandarin Lokam	893,7	0,0018
4	Mandarin Pakistan	-	0,0000
5	Medan super	-	0,0000
6	Nipis	275,0	0,0000
7	Sunkist	-	0,0000
8	Peras	-	0,0000
9	Purut	-	0,0000
10	Santang	944,0	0,0049
11	Sunkist Nevel.	1445,2	0,0360

Tabel 3 di atas memperlihatkan kadar hesperidin dalam ekstrak kulit jeruk dari beberapa jenis jeruk. Kadar tertinggi diperoleh pada jeruk Baby Egypt (0,1380%), sedangkan jeruk Mandarin Pakistan, Medan super, Nipis, Sunkist, Peras, dan Purut menunjukkan kadar 0,0000. Hesperidin dalam jeruk-jeruk tersebut sangat rendah sehingga belum dapat terdeteksi dengan metode ini.

Kadar hesperidin dalam kulit jeruk sangat bervariasi tergantung dari jenis jeruknya. Kadar hesperidin tidak mutlak

ditentukan oleh warna orange kulit buah, karena ada buah jeruk yang berwarna sangat orange sangat sedikit mengandung hesperidin. Sebaliknya buah jeruk yang berkulit agak hijau seperti Baby Pacitan justru mengandung hesperidin relatif tinggi. Selain jenis jeruk kadar hesperidin dimungkinkan juga dipengaruhi oleh lingkungan tempat tumbuh dan pemeliharaannya, tetapi faktor ini sangat sulit untuk dianalisis karena menyangkut banyak faktor yang mempengaruhi.

Secara umum metode analisis kualitatif kadar hesperidin dengan cara KLT yang dilanjutkan dengan *TLC scanner* ini dapat digunakan secara efektif. Analisis yang dilakukan menjadi lebih cepat karena mengurangi langkah pemurnian hasil isolasi yang biasanya rumit. Tingkat kesulitan yang dihadapi pertama kali adalah penentuan pelarut KLT yang tepat, dimana harus memilih berbagai pelarut dengan cara mencoba (*trial and error*). Kesulitan lain seperti penotolan sampel pada pelat KLT dapat diatasi oleh analisis dengan latihan pada pelat lain yang tidak digunakan.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan hal-hal berikut.

1. Hesperidin dapat dianalisis menggunakan metode KLT, dengan pelarut yang paling sesuai kloroform : metanol (2:3).

2. Kadar hesperidin dalam ekstrak larutan Ca(OH)_2 kulit buah jeruk berbagai varietas yaitu : Baby Egypt 0,1380%, Baby Pacitan 0,0615%, Mandarin Lokam 0,0018%, Santang 0,0049%, dan Sunkist Nevel 0,0360%, sedangkan jeruk Mandarin Pakistan, Medan super, Nipis, Sunkist, Peras, dan Purut menunjukkan kadar 0,0000. Kadar Hesperidin dalam jeruk-jeruk tersebut sangat rendah sehingga belum terdeteksi.

DAFTAR PUSTAKA

- Bedoukian, P. Z. 1958. *Perfumery Synthetics and Isolate*. D. Van Nostrand Company Inc., New York.
- Hardjono Sastrohamidjojo. 1991. *Kromatografi*. Liberty Yogyakarta, Yogyakarta.
- _____, 1996. *Sintesis Bahan Alam*. Gama University Press, Yogyakarta.
- Ikan, R. 1991. *Natural Product A Laboratory Guide*. Israel University Press, Jerusalem.
- Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung, Bandung. Buku asli terbit tahun 1982.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh: Kosasih Padmawinata. Institut Teknologi Bandung, Bandung.

Sartana. 1997. Pemisahan dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Hesperidin dalam Kulit Buah Jeruk Manis, *Laporan Penelitian Kimia*. Jurdik Kimia FPMIPA IKIP Yogyakarta, Yogyakarta.