

Validasi Metoda Penetapan Kadar β - Karoten Ekstrak n-Heksana Kulit Jeruk Manis (*Citrus sinensis* L.) Dengan KLT- Densitometri

*Validation Method for Determination β - Carotene of Extract n-Hexane Sweet Orange peel (*Citrus sinensis* L.) with KLT-Densitometry*

Ulfah Eka Syafitri^{*1}, Yulianis², Lili Andriani³

^{1,2,3}Jalan Tarmizi Kadir Pakuan Baru, Program Studi Farmasi STIKES Harapan Ibu, Jambi and 36126, Indonesia

*Koresponding Penulis: ulfahekas@gmail.com; yulianisaljazira@yahoo.com; liliandriani116@gmail.com

Abstrak

Kulit jeruk manis salah satu limbah organik memiliki banyak sekali manfaat. Tujuan penelitian untuk melakukan validasi metode dan menentukan kadar β -karoten dalam ekstrak sampel kulit jeruk manis tanpa pencucian dan ekstrak pencucian dengan aquadest menggunakan KLT-densitometri. Penelitian dilakukan mulai dari proses ekstraksi, dielusi dalam fase diam gel silika dan fase gerak kloroform:Etil Asetat 7:3 memperoleh nilai Rf 0,20, uji ekstrak n-heksana tanpa pencucian 30,1938ppm, pencucian 30,5610ppm. Validasi metode dengan TLC-densitometri diperoleh linearitas 0,999, presisi 0,0777%, LoD 0,30951 μ g/ml, LoQ 1,0317 μ g/ml, akurasi sampel tanpa pencucian 108,81%, sampel pencucian 109,89%. Hasil data validasi metode memenuhi syarat dan analisis kadar β -karoten dapat ditentukan dengan metode KLT-Densitometri.

Kata kunci : β -karoten, validasi metode analisis, KLT-Densitometri

Abstract

Sweet orange peel one organic waste has many benefits. One way to isolate beta carotene is TLC-densitometry. The purpose of this study was to validate the method and determining the levels of β -carotene in extracts of sweet orange peel without washing and extract washing with distilled water using TLC-densitometry. This research was carried out starting from the extraction process, eluted in the silica gel stationary phase and the mobile phase of the chloroform: Ethyl Acetate 7:3 obtained an Rf value of 0.20. The test extract n-hexane without washing was 30.1938 ppm and washing was 30.5610 ppm. The validation method with TLC-densitometry obtained linearity 0.999, precision 0.0777%, LoD 0.30951 μ g/ml, LoQ 1.0317 μ g/ml, accuracy of samples without washing 108, 81% and 109.89% of washing samples. The results of the method validation meet the requirements and analysis of β -carotene levels can be determined by the TLC-Densitometry method.

Keywords: β -carotene, validation of analytical methods, TLC-Densitometry

PENDAHULUAN

Kulit jeruk manis merupakan salah satu limbah organik yang memiliki banyak sekali manfaat seperti melindungi kulit dari tanda penuaan dini, untuk kesehatan mata, membantu menurunkan resiko penyakit kanker hati dan mencegah penyakit kanker (Edi, 2016). Kulit jeruk manis memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella tphyii*, aktivitas antioksidan, dan aktivitas antidiabetes (Dewi, 2019).

Kulit jeruk manis mengandung vitamin C, senyawa fenolik, flavonoid, glikosida flavon (neohesperidin, naringin, hesperidin, narirutin), triterpene (Limonene, citrol), pigmen seperti (antosianin, beta-cryptoxanthin, cryptoxanthin, zeaxanthin, beta karoten, rutin dan eriocitrin) homocysteine, polymethoxylated flavones (tangeretin, nobiletin, hesperitin, naringin, sinensetin) dan saponin (Milind & Dev, 2012; Wang *et al.*, 2014). Senyawa karotenoid merupakan pigmen larut lemak yang bertanggung jawab pada berbagai warna merah, oranye, hingga kuning. Senyawa karotenoid dikenal sebagai provitamin A. Sifat fungsional karotenoid yang lain adalah kemampuannya sebagai antioksidan sehingga dapat menangkap radikal bebas di dalam tubuh (Manasika & Widjanarko, 2015)

β -karoten merupakan salah satu produk dari karotenoid yang mempunyai aktivitas vitamin A yang paling tinggi. Pigmen organik berwarna kuning, oranye atau merah oranye yang dapat terjadi secara alamiah dalam tumbuhan yang berfotosintesis, ganggang, beberapa jenis jamur dan bakteri (Kusbandari, & Susanti, 2017). β -karoten dapat larut dalam lemak dan berfungsi sebagai peredam singlet oksigen dan radikal bebas (Winarsi, 2010). Beta karoten dapat menurunkan risiko penyakit jantung, kanker, reproduksi, dan penglihatan. β -karoten banyak terdapat dalam tanaman (Kusbandari, & Susanti, 2017).

Penetapan kadar beta karoten pada penelitian sebelumnya wortel (*Daucus carota*, L) mentah dan wortel rebus dengan spektrovotometri uv-vis hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa kadar beta karoten wortel mentah $34,94 \pm 7,810$ % dibandingkan dengan wortel rebus $23,31 \pm 4,246$ % (Agustina, Hidayati, & Susanti, 2019). Penelitian lainnya ekstraksi pigmen karotenoid labu kabocha dengan menggunakan metode ultrasonik dilakukan berbagai variasi ekstraksi di dapatkan bahwa waktu 25 menit

dengan total beta karoten 254,77 mg/100 g adalah waktu yang baik untuk mendapatkan kadar beta karoten (Manasika & Widjanarko, 2015).

Dengan perbedaan kandungan β -karoten dalam kulit jeruk manis dan mengingat β -karoten adalah senyawa antioksidan yang bermanfaat maka untuk mengetahui kandungan β -karoten diperlukan metode untuk menentukan kadarnya. Oleh karena itu, peneliti tertarik untuk melakukan uji kadar β -karoten dari ekstrak kulit jeruk manis yang diperoleh dari kebun kemingking, dengan cara diekstraksi pelarut n-heksana, ekstraksi 2 variasi tanpa pencucian dan pencucian dengan aquadest dan uji kadar beta karoten menggunakan KLT-Densitometri dan melakukan validasi metode analisis. Dipilih pelarut n-heksana dari hasil penelitian uji kadar karotenoid terhadap beberapa pelarut yaitu aseton, etil asetat dan n-heksan didapatkan pelarut n-heksan adalah pelarut tersebut maksimal mengekstrak karotenoid (Wahyuni & Widjanarko, 2015)

METODE PENELITIAN

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian yaitu: Kulit Jeruk Manis Lokal (*Citrus sinensis* (L.)) yang diperoleh dari Desa Kemingking Dalam Kecamatan Taman Rajo Muaro Jambi.

Penyiapan Ekstraksi Sampel

Sampel tanpa pencucian

Serbuk simplisia yang telah dihaluskan ditimbang 5 g kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan n-heksana p.a (pro analisis) 10 mL lalu dikocok/dishaker selama 25 menit, kemudian disaring menggunakan kertas saring whatmann. filtrat dipisahkan, ulangi sampai dengan jernih. Lalu filtrat yang dihasilkan dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL dan ditambahkan n-heksana p.a hingga tanda batas (Manasika & Widjanarko, 2015).

Sampel dengan pencucian

Serbuk simplisia yang telah dihaluskan ditimbang 5 g kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan n-heksana p.a (pro analisis) 10 mL lalu dikocok/dishaker selama 25 menit, kemudian disaring dengan kertas saring whatmann. Filtrat dipisahkan. Ulangi ekstraksi dengan n-heksana p.a sampai dengan jernih. Lalu filtrat dimasukkan ke erlenmeyer dan ditambahkan 25 mL aquades, terbentuk lapisan air dan lapisan n-heksana. Lapisan air dibuang. Hasil lapisan n-heksana dicuci sebanyak 2 kali dengan 25 mL aquades. Filtrat hasil pencucian, ditambahkan natrium sulfat anhidrat

p.a 1.25 g per 25 mL digunakan untuk mengikat senyawa polar yang tersisa dalam ekstrak. Filtrat yang dihasilkan dimasukkan labu ukur 25 mL dan ditambahkan n-heksana p.a hingga tanda batas (Manasika & Widjanarko, 2015).

Analisa Kuantitatif

Penentuan kurva kalibrasi diawali dengan pembuatan larutan standar beta karoten 100 ppm kemudian pembuatan larutan seri standar beta karoten dengan konsentrasi 6 ppm, 8 ppm, 10 ppm, 12 ppm, dan 14 ppm yang dilakukan dengan cara sebagai berikut : dari larutan beta karoten 100 ppm sebanyak 0,6 mL, 0,8 mL, 1,0 mL, 1,2 mL, dan 1,4 mL dipipet dan dimasukkan ke dalam labu ukur 10mL lalu dicukupkan volumenya dengan menggunakan n-heksana p.a hingga tanda batas, salah satu konsentrasi larutan standar diukur panjang gelombang pada daerah 200-700 nm dengan densitometer (Chandra, Zulharmita, & Handayani, 2017). Selanjutnya 5 konsentrasi dilakukan elusi dengan fase gerak yang optimal kemudian spot/ bercak yang dihasilkan diukur area puncak panjang gelombang untuk mendapatkan kurva kalibrasi dan linearita larutan standar

Intrumentasi dan Optimasi analisis KLT

Analisis dilakukan dengan menggunakan lempeng KLT aluminium yang dilapisi silika gel dengan ketebalan. Lempeng KLT dipotong dengan ukuran 10 cm x 5 cm (bergantung pada jumlah larutan sampel/ baku yang akan dianalisis) sehingga jarak antar sampel 1 cm. Plat diaktifkan dengan metanol. Selanjutnya, plat dikeringkan dalam oven pada suhu 60 ° C selama 1 jam. Larutan sampel dan standar dalam volume 10- μ L ditotolkan dengan pipa kapiler terukur (Starek *et al.*, 2015).

Fase gerak yang digunakan adalah fase gerak yang optimal dari salah satu dari campuran berikut: campuran kloroform - etil asetat (7:3), diklorometana – metanol (4:1), dan n-heksana – etil asetat (3:7). Jenuhkan wadah elusi/ chamber dengan uap fase gerak. Faktor retardasi (Rf) untuk β -karoten (standar dan sampel) dihitung. (Starek *et al.*, 2015)

Penetapan kadar beta karoten dalam sampel.

Masing-masing sampel diambil 10 μ L ditotolkan pada plat KLT dengan menggunakan pipet kapiler terukur, dan sampel yang sudah ditotolkan pada KLT dielusi dengan fase gerak yang optimal pemisahan. Luas puncak kromatogram dibaca pada

panjang gelombang maksimum yang diperoleh dengan KLT-Densitometer. Pengujian ini dilakukan sebanyak 3 kali.

Validasi metode analisis

Uji akurasi

Penetapan akurasi ditotolkan pada plat KLT, dielusi dengan fase gerak yang optimal diukur pengulangan 3 kali. Perhitungan perolehan kembali dapat juga ditetapkan dengan rumus sebagai berikut:(Harmita, 2004)

$$\%recovery = \frac{\text{kadar terukur}}{\text{kadar sebenarnya}} \times 100\%$$

Uji presisi

Uji presisi (keseksamaan) dilakukan dengan cara buat larutan beta karoten dengan konsentrasi dilakukan pengenceran hingga tanda batas. Kemudian diukur sebanyak 6 kali pengulangan dihari yang sama. Hasil pengujian dihitung standar deviasi (simpangan baku/SD) dengan menggunakan rumus : (Rohman, 2016)

$$SD = \sqrt{\frac{\sum(x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$
$$RSD (\%) = \frac{SD}{\bar{x}} \times 100\%$$

Linearitas

Nilai linearitas yang baik adalah $0,997 \leq r \leq 1$ (Harmita, 2004) .

Keterangan : $y = bx + a$

$$r = \frac{n\sum xy - \sum x \sum y}{\sqrt{\{n\sum x^2 - (\sum x)^2\}\{n\sum y^2 - (\sum y)^2\}}}$$

Uji batas deteksi (LoD) dan Uji batas kuantisasi (LoQ)

Persamaan LoD dan LoQ. sebagai berikut:(Rohman, 2016)

$$LoD = \frac{3SD}{b} \quad LoQ = \frac{10SD}{b}$$

Analisis Data

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini yaitu dianalisis secara KLT-Densitometri dan Validasi metode analisis (Rohman, 2016).

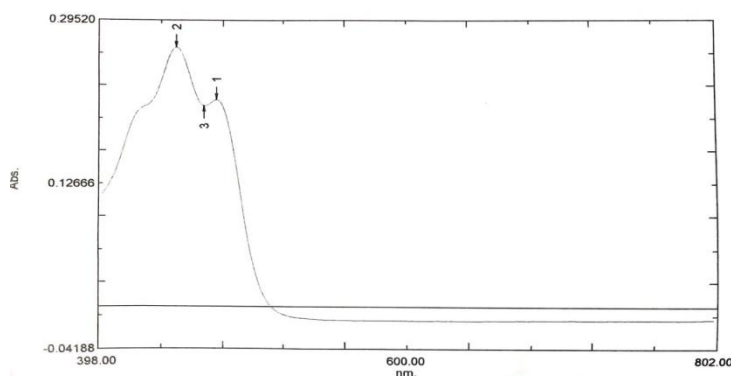
HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi

Identifikasi sampel tumbuhan dilakukan di Herbarium Andalas determinasi menunjukkan bahwa sampel adalah tumbuhan jeruk manis (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) dengan family Rutaceae.

Analisis Kadar Beta Karoten dengan KLT Densitometri

- a. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum beta karoten standar dengan spektrofotometer UV-Vis pada Gambar 1.



Gambar 1.Spektrum panjang gelombang maksimal larutan standar beta karoten diperoleh 448,50 nm dengan metode spektrofotometri UV-Vis

Dari hasil pengukuran panjang gelombang maksimum didapatkan 448,50 nm, hasil yang diperoleh tidak terlalu jauh berbeda dari panjang gelombang maksimum beta karoten dari penelitian lain 450 nm (Sari & Mayasari, 2013).

- b. Dari hasil optimasi analisis KLT dengan berbagai eluen yaitu kloroform : etil asetat (7:3), diklorometana : metanol (4:1), dan n-heksana : etil asetat (3:7). Setelah dilakukan pengujian dengan 3 fase gerak tersebut, fase gerak yang memberikan pemisahan yang optimal yaitu campuran antara kloroform : etil asetat (7:3) dengan nilai Rf 0,20 dengan luas area yang lebih tinggi dibandingkan dengan fase gerak yang lain.

Tabel 1. Hasil optimasi analisis beta karoten dari ekstraksi sampel

Pelarut	Luas Area
---------	-----------

	Tanpa Pencucian	Pencucian
Kloroform : Etil Asetat (7:3)	1096.5	1110.0
Diklorometana : Metanol (4:1)	818.2	883.2
n-Heksana : Etil Asetat (3:7)	528.1	645.0

Dari hasil optimasi fase gerak beta karoten yang bersifat non polar akan lebih berinteraksi dengan fase gerak yang juga bersifat non polar. Hasil yang diperoleh kloroform : etil asetat (7:3) adalah fase gerak yang optimal (Rizkiyah & Aziz, 2016)

- c. Penetapan kadar beta karoten dalam kulit jeruk manis diperoleh dari metode ekstraksi tanpa pencucian adalah 30,1938 ppm, dan dengan pencucian adalah 30,5610 ppm, Dari hasil kadar yang di dapat dari proses ekstraksi dengan pencucian dengan aquades ternyata tidak signifikan terhadap kadar beta karoten dalam sampel tanpa pencucian Tabel 2.

Tabel 2. Penetapan Kadar Beta Karoten dalam Kulit Jeruk Manis

Ekstraksi	Pengulangan	Area	Kadar β -Karoten		
			Kadar Larutan ($\mu\text{g/g}$)	Sampel ($\mu\text{g/g}$)	Sampel Rata-rata
Tanpa Pencucian	1	1096,9	6,02475	30,1237	30,1938
	2	1099,5	6,04084	30,2042	
	3	1101,1	6,05074	30,2536	
Pencucian	1	1110,4	6,10829	30,5414	30,561
	2	1111,0	6,11200	30,5600	
	3	1111,7	6,11633	30,5816	

Validasi Metode Penetapan Kadar Beta Karoten dalam Sampel Kulit Jeruk Manis dengan KLT-Densitometri

Validasi metode analisis yang digunakan yaitu linieritas dengan melihat nilai korelasi (r), uji sensitivitas (batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ)), presisi dan akurasi diperoleh sesuai dengan Tabel 3:

Tabel 3. Hasil Validasi Metode Analisis dengan KLT-Densitometri.

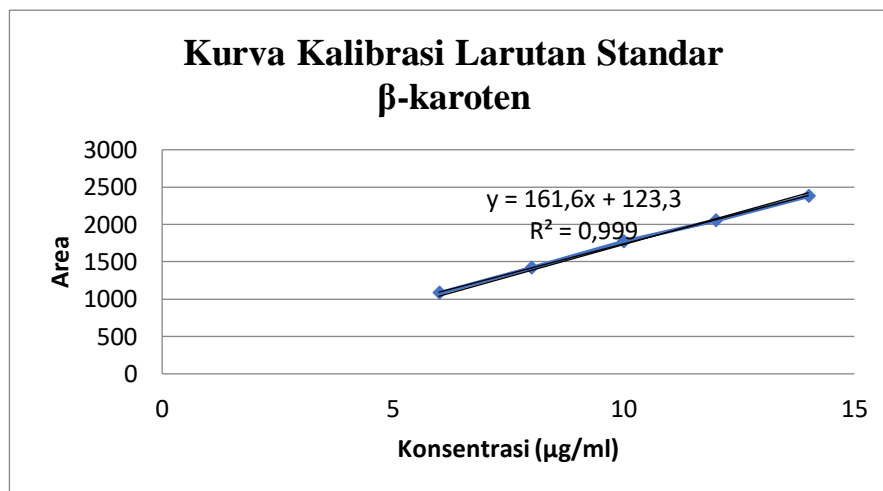
Validasi Metode	Persyaratan (Harmita, 2004)	Hasil	Keterangan
Linearitas	$\geq 0,997$	0,999	Memenuhi
LoD ($\mu\text{g/ml}$)	Kons.minimal terdeteksi	0,30951 $\mu\text{g/ml}$	Memenuhi

LoQ ($\mu\text{g/ml}$)	Kons.minimal terdeteksi	1,0317 $\mu\text{g/ml}$	Memenuhi
Presisi (%)	RSD $\leq 2\%$	0,0777%	Memenuhi
Akurasi (%)	90-110%	TP : 108,81 % P : 109,89%	Memenuhi

Keterangan : TP : Tanpa Pencucian, P : Pencucian

a. Linearitas

Pembuatan kurva kalibrasi dan linearitas larutan standar β -Karoten didapatkan persamaan regresi pada Gambar 2.



Gambar 2. Kurva Kalibrasi Larutan Standar Beta Karoten

Dari hasil kurva kalibrasi (linearitas) yang diperoleh persamaan regresi yang dihasilkan menggunakan KLT-Densitometri yaitu $y = 161,6x + 123,3$ dengan nilai koefisien korelasi (r) 0,999. Koefisien korelasi di atas menunjukkan hubungan antara konsentrasi dengan absorban memiliki nilai yang lebih baik karena lebih mendekati 1 sesuai dengan literatur yang menyatakan kriteria penerimaan yaitu nilai koefisien korelasi (r) mendekati 1 ($0,990 \leq r \leq 1$) (Harmita, 2004)

b. Akurasi

Pada penelitian ini, dilakukan uji akurasi dengan metode perolehan kembali atau *recovery*. Suatu metode dikatakan valid jika nilai presentase *recovery* dari suatu standar yaitu antara 90-110% (Harmita, 2004). Hasil *recovery* yang didapatkan pada beta

karoten dengan sampel tanpa pencucian dan sampel pencucian dengan metode KLT-Densitometri yaitu 108,81 % dan 109,89 % sehingga hasil tersebut dapat dikatakan memenuhi syarat *recovery*, sehingga metode ini menghasilkan ketepatan yang baik dalam menunjukkan nilai pengukuran dengan nilai sebenarnya pada Tabel 4.

Tabel 4. Akurasi- Recovery β -Karoten

Ekstraksi	Pengulangan	Luas Area sampel + standar	%Recovery	Rata-rata %recovery
Tanpa Pencucian	1	1136,2	108,51 %	108,81%
	2	1139,4	108,91 %	
	3	1140,7	109,01 %	
Pencucian	1	1149,3	109,82 %	109,89 %
	2	1149,9	109,89 %	
	3	1150,6	109,96 %	

c. Presisi

Hasil analisis presisi dapat dilakukan sebanyak enam kali ulangan oleh analisis dan kondisi yang sama serta dihari yang sama dalam interval waktu yang pendek. Uji presisi dengan KLT-Densitometri diperoleh nilai % RSD beta karoten yaitu 0,0777 %. Metode ini memiliki ketelitian yang sangat teliti, karena nilai % RSD $\leq 1\%$ yaitu sangat teliti dan $\leq 2\%$ yaitu teliti. Maka dari itu, hasil RSD menyatakan bahwa semakin kecil % RSD yang dihasilkan maka semakin tinggi tingkat ketelitiannya (Kriswanto dkk., 2014)

d. Batas Deteksi atau *Limit of Detection (LoD)* dan Batas Kuantitasi atau *Limit of Quantitation (LoQ)*

Hasil analisis LoD dan LoQ dengan metode KLT-Densitometri yaitu 0,30951 $\mu\text{g/ml}$ dan 1,0317 $\mu\text{g/ml}$. Apabila konsentrasi analit yang diperoleh berada dibawah nilai LoD, maka sinyal yang didapat tidak dapat dipercaya dan berupa *noise* (Mariana dkk., 2018). Penguji kadar β -karoten lebih besar dari LoD dan LoQ, maka hasil tersebut dapat dipercaya sebagai sinyal analit. besar dari LoD, maka hasil tersebut dapat dipercaya sebagai sinyal analit.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa: Hasil penetapan kadar optimal beta karoten yang didapatkan didalam kulit jeruk manis (*Citrus sinensis L.*) menggunakan metode KLT-Densitometri sampel tanpa pencucian 30,1938 ppm dan pencucian 30,5610 ppm. Uji validasi analisis metode penetapan kadar beta karoten dengan KLT-Densitometri memenuhi syarat. Pada KLT-Densitometri untuk beta karoten mempunyai linieritas (r)= 0,999, presisi dengan RSD= 0,0777%, LoD= 0,30951 $\mu\text{g/ml}$, LoQ= 1,0317 $\mu\text{g/ml}$ dan akurasi sampel tanpa pencucian 108,81% dan pencucian 109,89%,

SARAN

Saran untuk penelitian selanjutnya adalah dapat meneliti kadar beta karoten dalam sampel yang sama tetapi menggunakan metode yang berbeda seperti HPLC atau kromatografi GC-MS.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, A., Hidayati, N., & Susanti, P. (2019). Penetapan kadar β -karoten pada wortel (*Daucus carota* L.) mentah dan wortel rebus dengan spektrofotometri visibel. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 5(1), 7-13
- Chandra, B., Zulharmita, & Handayani, A. D. H. (2017). Analisis kandungan beta karoten pada daun bayam merah (*Amaranthus hybridus* L.) dengan metode spektrofotometri visibel. *Jurnal Farmasi Higea*, 9(2).
- Dewi, A. D. R. (2019). Aktivitas antioksidan dan antibakteri ekstrak kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dan aplikasinya sebagai pengawet pangan. *Jurnal Teknologi Dan Industri Pangan*, 30(1), 83–90.
- Edi, B. (2016). *Cara cerdas mendulang mendulang emas dari bertanam jeruk*. Jawa Barat: Akar Publishing.
- Harmita. (2004). *Petunjuk pelaksanaan validasi metode dan cara perhitungannya*, Majalah ilmu Kefarmasian.I(3), 117–135.
- Kriswanto, Permanasari, A., & Fatimah, S. S. (2014). Pengembangan dan Uji Validasi Metode Analisis Kadar Parasetamol dan Kafein dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Sains Dan Teknologi Kimia ISSN 2087-7412*, (I).
- Kusbandari, A., & Susanti, H. (2017). Kandungan beta karoten dan aktivitas penangkapan radikal bebas terhadap DPPH (1,1-difenil 2-pikrilhidrazil) ekstrak buah blewah (*Cucumis melo* var. *Cantalupensis* L) secara spektrofotometri UV-Visibel. *Jurnal Farmasi Sains Dan Komunitas*, 14(1)(Mei), 37–42.
- Mariana, E., Cahyono, E., Rahayu, E. F., & Nurcahyo, B. (2018). Validasi Metode Penetapan Kuantitatif Metanol dalam Urin Menggunakan Gas Chromatography-Flame Ionization Detector. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 7(3).
- Manasika, A., & Widjanarko, S. B. (2015). Ekstraksi pigmen karotenoid labu Kabocha menggunakan metode ultrasonik (kajian rasio bahan pelarut dan lama ekstraksi). *Jurnal Pangan Dan Agroindustri*, 3(3), 928–938.
- Milind, P., & Dev, C. (2012). Review Article Orange : range of benefits, *Journal Pharmacy*. 3(7), 3–7.
- Parwata, O. A., Ratnayani, K., & Listya, A. (2010). Aktivitas antiradikal bebas serta kadar beta karoten pada madu randu (*Ceiba pentandra*) dan madu kelengkeng (*Nephelium longata* L.). *Jurnal Kimia*, 4(1), 54–62.
- Rizkiyah, R., & Aziz, Z. (2016). *Analysis of beta-carotene in green melon and orange melon (Cucumis melo L. var. Sky Rock and var. Cantaloupe) by TLC-Densitometry*.
- Rohman, A. (2016). *Validasi dan penjaminan mutu metode analisis kimia*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Sari, A. E., & Mayasari, E. (2013). Analisa beta karoten pada sayuran lokal di Indonesia. *Jurnal Farmasi Higea*, 5(2).
- Starek, M., Guja, A., & Dabrowska, M. (2015). Assay of β -Carotene in Dietary Supplements and Fruit Juices by TLC-Densitometry. *Food Analytical Methods*, 8(5), 1347–1355.
- Wahyuni, D. T., & Widjanarko, S. B. (2015). Pengaruh jenis pelarut dan lama ekstraksi terhadap ekstrak karotenoid labu kuning dengan metode gelombang ultrasonik. *Jurnal*

Pangan Dan Agroindustri, 3(2), 390–401.

Wang, L., Wang, J., Fang, L., Zheng, Z., Zhi, D., Wang, S., ... Zhao, H. (2014). Anticancer activities of Citrus Peel polymethoxyflavones related to angiogenesis and others, *BioMed Research International*, 1–10

Winarsi, H. (2010). *Antioksidan alami & radikal bebas*. Yogyakarta: Kanisius.