

ISOLASI KUMARIN DARI KULIT BUAH LIMAU SUNDAI (*Citrus nobilis* Lour)

Melindra Mulia

Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Padang
Melindramulia06@gmail.com

ABSTRACT

Coumarin has been isolated and characteritated from rind of *Citrus nobilis* Lour by maseration methode with methanol. After fractionation by n-hexane and ethyl acetate, collected the phase ethyl acetate which positive of coumarin. From ethyl acetate extract coumarin have been isolated by column chromatography. The isolation results was obtain 2,159 g of pure white needle-shape crystalline with the melting point of 126,2-127,6⁰C. Structure of the isolated coumarine was elucidated by spectroscopic methodes, UV-Vis, ¹³C-NMR, ¹H-NMR, 2D-NMR (DEPT/HSQC, COSY, NOESY, HMBC) and IR spectra. Based on the spectra data the isolated coumarine is marmin.

Keywords : *Citrus nobilis* Lour, coumarin, isolation, characteritation, marmin

PENDAHULUAN

Dewasa ini perkembangan untuk mencari sumber obat dari tumbuh-tumbuhan terus menunjukkan kemajuan yang pesat (Masten, 2004). Khasiat tumbuhan sebagai obat terkait dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan tersebut. Famili *Rutaceae* merupakan salah satu tumbuhan yang menarik dari segi fitokimia. Hal ini dikarenakan kandungan metabolit sekundernya serta bioktivitas seperti antioksidan, antikanker dan lain-lain. Pada famili ini terdiri dari 150 genus dan 15000 spesies (Perveen, dkk. 2005).

Penelitian pada genus famili *Rutaceae* ini telah banyak dilaporkan mengandung senyawa metabolit sekunder golongan kumarin. Penelitian yang telah dipublikasikan diantaranya pada lima

genus yaitu *Citrus*, *Clausena*, *Chloroxylon*, *Murraya* dan *Aegle*.

Penelitian berbagai genus tersebut didapatkan hasil sebagai berikut: Yamada, dkk. (1987) telah melakukan penelitian pada genus *Citrus*, dengan menggunakan *Citrus hassaku* dan didapatkan senyawa kumarin yaitu marmin yang mempunyai aktivitas spasmolitik. Kemudian Patil (2009) melakukan penelitian dengan menggunakan kulit buah *Citrus aurantifolia*, dari hasil penelitiannya dilaporkan bahwa terdapat senyawa kumarin yaitu limettin dan isopimpinellin, dimana senyawa ini mempunyai aktivitas antioksidan dan anti kanker. Kemudian juga telah dilakukan penelitian oleh Gardana, dkk. (2008) dengan menggunakan *Citrus bergamia*

dan didapatkan senyawa kumarin yaitu bergapten dan bergamottin. Senyawa kumarin bergapten telah diteliti pula oleh Yu, dkk. (2005) dan mempunyai aktivitas antioksidan.

Beberapa penelitian pada genus *Clausena* telah dilaporkan oleh Intekhab, dkk. (2008) yang telah mengisolasi senyawa kumarin dari *Clausena pentaphylla* dan mendapatkan senyawa kumarin yaitu 3, 10-bis (1, 1-dimethyl prop-2-en-1-yl) -5, 6, 7-trihydroxy-8,8-dimethyl-7,8-dihydro pyranochromen-2-one, bergapten dan xanthotoxin. Kemudian Wang, dkk. (2008) juga melakukan penelitian pada *Clausena anisum-olens* didapatkan senyawa kumarin yaitu anisucumarin. Maneerat, dkk. (2010) telah melakukan pula penelitian pada tumbuhan *Clausena lansium* (Lour.), dan didapatkan senyawa kumarin yaitu calausenalansimin A dan B. Kemudian Ping HE, dkk. (2000) juga telah melakukan penelitian pada tumbuhan *Clausena excavate* sehingga didapatkan senyawa kumarin yaitu excavacoumarin A dan B.

Selanjutnya dari genus *Chloroxylon* dilaporkan Rao, dkk. (2009) yang telah mengisolasi senyawa kumarin dari *Chloroxylon swietenia* DC, dan mendapatkan senyawa kumarin yaitu bergapten, 6,8-diprenylumbelliferone, isopimpinellin dan 6-(2',3'-dihydroxy-3-methylbutyl)-8-prenylumbelliferone.

Dari genus *Murraya* juga dilaporkan oleh Aziz, dkk. (2010) terdapat senyawa kumarin auraptene, gleinadiene, 5,7-dimethoxy-8-(3-methyl-2-oxo-butyl)coumarin, dan toddalenone, yang diteliti dari tumbuhan *Murraya paniculata*. Kinoshita, dkk. (2002) juga telah melakukan penelitian terhadap *Murraya paniculata* var. *omphalocarpa* dan didapatkan senyawa kumarin yaitu omphamurrayin.

Selanjutnya dari genus *Aegle* dilaporkan oleh Yang, dkk. (1996) terdapat kumarin pada *Aegle marmelos* yaitu auraptene, gleinadiene, 5,7-dimethoxy-8-(3-methyl-2-oxo-butyl)coumarin, dan toddalenone. Pada spesies yang sama diteliti pula oleh Nugroho, dkk. (2008) dan didapatkan senyawa kumarin yang mempunyai aktivitas anti alergi.

Salah satu spesies dari genus *Citrus* adalah *Citrus nobilis* Lour. Berdasarkan penelusuran literatur yang telah dilakukan, sejauh ini belum ada laporan publikasi ilmiah kandungan metabolit sekunder golongan kumarin dari spesies ini. Oleh sebab itu maka perlu dilakukan penelitian isolasi dan elucidasi struktur senyawa kumarin dari kulit buah *Citrus nobilis* Lour yang berasal dari propinsi Sumatera Barat serta uji bioaktivitasnya sebagai antioksidan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini yaitu pelarut teknis yang didestilasi (metanol, diklorometana, etil asetat, dan n-heksana), natrium hidroksida 10%, akuades, natrium klorida, silika gel 60 (0,0063 – 0,200 mm, merk KGaA Darmstadt Germany).

Isolasi Kumarin dari Kulit Buah Limau Sundai (*Citrus nobilis* Lour) Maserasi dan Fraksinasi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metoda maserasi, sebanyak 5Kg serbuk kering kulit buah *Citrus nobilis* Lour direndam dalam maserator dengan metanol diaduk dan dibiarkan selama 5 hari pada suhu kamar. Selanjutnya disaring dan ditampung. Proses maserasi ini dilakukan secara berulang hingga uji negatif terhadap

kumarin. Ekstrak metanol hasil maserasi dikumpulkan, kemudian diuapkan pelarutnya dengan rotari evaporator Heidolp WB 2000. Didapatkan ekstrak pekat 400 mL.

Untuk memisahkan senyawa yang diinginkan dari senyawa-senyawa nonpolar, maka ekstrak kental metanol ditambahkan 100 mL air, dimasukkan ke dalam corong pisah difraksinasi dengan pelarut heksan, kocok hingga terbentuk dua lapisan yaitu lapisan atas yang merupakan fraksi heksan dan lapisan bawah yang merupakan fraksi metanol/berair dan dipisahkan. Fraksi heksan selanjutnya diuapkan pelarutnya sehingga diperoleh 45 g ekstrak pekat fraksi heksan.

Pada tahap selanjutnya fraksi metanol/berair difraksinasi kembali dengan etil asetat, fraksi etilasetat berada pada lapisan bagian atas dan fraksi metanol/berair berada pada bagian bawah. Selanjutnya fraksi etil asetat diuapkan pelarutnya dan diperoleh 83 g ekstrak fraksi etil asetat. Fraksi heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi metanol/berair kembali diuji kandungan kumarinnya. Diantara ketiga fraksi tersebut fraksi etil asetat menunjukkan positif uji kumarin dengan intensitas noda lebih besar dan warna fluoresensi lebih terang.

Pemisahan dan Pemurnian Fraksi Etil Asetat

Fraksi etil asetat dimurnikan dengan metode kromatografi kolom. Yang mana sebelumnya dimonitor terlebih dahulu dengan kromatografi lapis tipis untuk mencari gradien eluen yang sesuai. Pengelusan dilakukan dengan menggunakan fasa gerak heksan, etil asetat dan metanol. Eluen yang digunakan berurutan perbandingannya, dimulai dari heksan/etil asetat (7 : 3) hingga heksan/etil asetat (0 : 10). Kemudian

dilanjutkan dengan eluen etil asetat/metanol (9:1) hingga etil asetat/metanol (0:10) sesuai dengan kromatografi lapis tipis yang telah dilakukan. Hasil kromatografi kolom ditampung pada vial-vial dan dilakukan kromatografi lapisan tipis lagi, dengan eluen yang sesuai dimana terbentuknya kristal, vial dengan Rf yang sama digabung. Selanjutnya direkrualisasi dengan heksan dan etil asetat, dengan cara menambahkan etil asetat pada padatan yang telah terbentuk, kemudian diaduk hingga larut. Setelah itu ditambahkan heksan sampai terjadi kekeruhan. Setelah padatan mengendap kembali maka pelarut dipisahkan dari padatan. Cara ini dilakukan berulang kali hingga didapatkan padatan yang bebas dari pengotor. Kemudian dilakukan kromatografi lapis tipis kembali, sehingga kromatogram memberikan noda tunggal dengan intensitas fluoresensi biru yang kuat. Senyawa murni yang diperoleh diuji kembali tingkat kemurniannya dengan kromatografi lapis tipis. Pengelusan dilakukan dengan eluen heksan/etil asetat perbandingan (5:5) hingga perbandingan (1:9). Dari kromatografi lapis tipis yang dilakukan berulang kali dengan berbagai perbandingan tersebut dihasilkan noda tunggal.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa yang diisolasi dari fraksi etil asetat kulit buah *Citrus nobilis* Lour adalah senyawa golongan kumarin, berbentuk kristal putih 2,159 g dengan titik leleh 126,2-127,6⁰C.

Karakterisasi senyawa hasil isolasi dengan spektrofotometer UV-Vis memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 206 dan 324 nm.

Berdasarkan pita serapan yang diperoleh dari spektrum UV

mengindikasikan adanya ikatan rangkap berkonjugasi. Karena sistem konjugasi ini menyerap cahaya pada $\lambda_{\text{maks}} > 200$ nm mengindikasikan adanya kromofor yang memberikan transisi dari π ke π^* . Kromofor tersebut merupakan ciri khas untuk sistem ikatan rangkap terkonjugasi (-C=C-C=C-) atau pada cincin aromatik. Selain itu juga menunjukkan adanya kromofor yang memberikan transisi dari n ke π^* yang dapat diketahui dari adanya pita serapan pada $\lambda_{\text{maks}} > 300$ nm. Pada pita serapan ini juga menunjukkan adanya konjugasi sistem heteroatom dengan suatu ikatan rangkap terkonjugasi (-C=C-C=O-) atau pada cincin pyron.

Interpretasi spektrum inframerah memperlihatkan beberapa pita serapan penting yaitu pada pita serapan di daerah 3472 cm^{-1} (-OH), 3366 cm^{-1} (C-H), 1719 cm^{-1} (C=O), 1122 cm^{-1} (C-O) dan pada serapan 1614 cm^{-1} (C=C aromatis).

Dari data spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ menunjukkan adanya 19 sinyal pada pergeseran kimia antara 16,7 – 162,0 ppm. Sehingga dapat diketahui senyawa hasil isolasi terdiri dari 19 atom karbon. Sinyal karbon masing-masing berada pergeseran kimia 112,9 ppm (C-3), 143,5 ppm (C-4), 112,4 ppm (C-4a), 128,7 ppm (C-5), 113,2 ppm (C-6), 162,0 ppm (C-7), 101,5 ppm (C-8), 155,8 ppm (C-8a), 65,4 ppm (C-1'), 118,8 ppm (C-2'), 142,1 ppm (C-3'), 36,5 ppm (C-4'), 29,4 ppm (C-5'), 77,9 ppm (C-6'), 73,0 ppm (C-7'), 16,7 ppm (C-3'-Me), 23,2 ppm (C-7'-Me), 26,5 ppm (C-7'-Me). Sementara sinyal yang diberikan pada pergeseran kimia () 161,3 ppm (C-2), merupakan sinyal untuk karbon karbonil. Posisi atom karbon ditentukan berdasarkan perbandingan pergeseran kimia antara hasil pengukuran dan literatur sesuai dengan Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Pergeseran kimia Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$

	Pergeseran kimia (ppm)	
	Pengukuran	Literatur
C-2	161,3	161,4
C-3	112,9	112,8
C-4	143,5	143,6
C-4a	112,4	112,4
C-5	128,7	128,7
C-6	113,2	113,2
C-7	162,0	162,0
C-8	101,5	101,5
C-8a	155,8	155,7
C-1'	65,4	65,4
C-2'	118,8	118,7
C-3'	142,1	142,2
C-4'	36,5	36,5
C-5'	29,4	29,4
C-6'	77,9	77,9
C-7'	73,0	73,0
C-3'-Me	16,7	16,8
C-7'-Me	23,2	23,3
C-7'-Me	26,5	26,4

Dari analisa spektrum DEPT - HSQC terdapat 13 sinyal yang mengindikasikan adanya 13 atom karbon yang mengikat proton sementara 6 atom karbon lainnya yang tidak muncul pada spektrum DEPT -HSQC merupakan karbon kuarterner. Spektrum DEPT-HSQC memberikan 3 sinyal yang merupakan atom karbon metilen yaitu pada pergeseran kimia 65,4 ppm 36,5

ppm, 29,4 ppm, dan terdapat 7 sinyal atom karbon metin yaitu pada pergeseran kimia 112,9 ppm, 143,5 ppm 113,2 ppm, 101,5 ppm, 118,8 ppm, 161,4 ppm, dan 128,7 ppm, serta juga terdapat 3 sinyal atom karbon metil yang muncul pada pergeseran kimia 16,7 ppm, 23,2 ppm, dan 26,5 ppm.

Berdasarkan analisis spektrum $^1\text{H-NMR}$, terlihat adanya sinyal proton pada pergeseran kimia dengan perbandingan integrasi sebagai berikut 6 : 1 : 1 : 4 : 1 : 2 : 1 : 2 : 1 : 1 : 2 : 1 : 1.

Karakterisasi spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil isolasi memperlihatkan adanya 2 kelompok proton yaitu kelompok proton pada cincin aromatik tersubstitusi dan cincin pyron. Dua sinyal proton yaitu H-3 dan H-4 yang terdapat pada cincin pyron muncul pada pergeseran kimia 6,2405 ppm (1H, d) dan =7,6355 ppm (1H, d) saling terkopling satu sama lainnya dengan konstanta kopling 9,5 Hz. Sedangkan proton yang terdapat pada cincin aromatik muncul pada pergeseran kimia 7,3615 ppm (1H, d) dan 6,844 ppm (1H, d,d). Sinyal doublet pada pergeseran kimia 7,3615 ppm dengan integrasi 1 memiliki konstanta kopling 8,5 Hz merupakan proton H-5 yang dikopling oleh H-6, yang muncul pada pergeseran kimia 6,844 ppm sebagai sinyal doublet, doublet. Proton dengan sinyal doublet juga muncul pada pergeseran kimia 6,812 ppm mempunyai nilai $J=2,5$ Hz merupakan proton H-8 yang dikopling oleh H-6.

Sinyal singlet yang muncul pada pergeseran kimia 1,210 ppm dengan integrasi 6 merupakan proton-proton dua gugus metil yang terikat pada C-7'. Sinyal yang muncul pada pergeseran kimia 1,776 ppm dengan integrasi 4 dapat dikenali jenis protonnya dengan DEPT-

HSQC. Dimana ada 3 proton untuk metil yang terikat pada C-3' dan 1 proton yang terikat pada C-2'. Proton yang terikat pada C-2' tersebut muncul dengan sinyal triplet pada pergeseran kimia 5,52025 ppm dengan integrasi 1 saling terkopling dengan H-1' yang memiliki pergeseran kimia 4,6045 ppm dengan sinyal doublet, integrasi 2 mempunyai konstanta kopling 6,5 Hz.

Dua sinyal proton yaitu H-4' dengan integrasi 4 dan H-5' dengan integrasi 2 muncul pada pergeseran kimia 2,373 ppm (1H, m) dan 1,631 ppm (1H, m) saling terkopling satu sama lain. Sinyal doublet-doublet dengan integrasi 1 muncul pada pergeseran kimia 3,353 ppm merupakan proton H-6' yang dikopling oleh H-5'.

Posisi proton ini ditentukan berdasarkan perbandingan pergeseran kimia antara hasil pengukuran dan literatur. Perbandingan tersebut dapat dilihat pada Tabel 2.

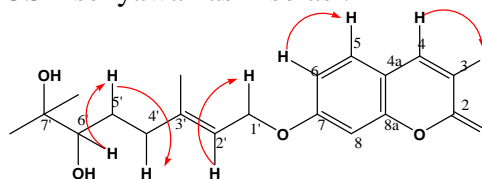
Tabel 2. Perbandingan Pergeseran kimia Spektrum $^1\text{H-NMR}$

Posisi atom H	Pergeseran kimia (ppm)	
	Pengukuran	Literatur
H-3	6,2405 (1H d $J=9,5$)	6.24 (1H , d, $J = 9. 5$)
H-4	7,6355 (1H d $J=9,5$)	7.64 (1H , d, $J = 9. 5$)
H-5	7,3615 (1H d $J=8,5$)	7.37 (1H , d, $J = 8. 3$)
H-6	6,844 (1H dd $J=2,5$)	6.85 (1H , dd, $J = 2. 4$)

	J=8,5	J=8,4
H-8	6,812 (1H d J=2)	6.82 (1H , d, J = 2. 4)
H-1'	4,6045 (2H d J=6,5)	4.60 (2H ,d, J = 6. 6)
H-2'	5,52025 (1H t J=6.25) J=6,5 J=6,0	5.53 (1H , t, J = 6. 4) J=6. 4 J=6. 4
H-4'	2,1515 (1H, m)	2.19 (1H , m)
	2,373 (1H, m)	2.38 (1H , m)
	1,472 (1H,m)	1. 48 (1H , m)
H-5'	1,631 (1H,m)	1.64 (1H , m)
	3,353 (1H d,d J=2,5)	3.36 (1H , dd, J = 2. 0)
H-6'	J=10.5	J=10. 5
	1,167 (3H, s)	1.17 (3H , s)
7'-Me	1,210 (3H s)	1.21 (3H , s)
3'-Me	1,776 (3H,s)	1.78 (3H ,s)

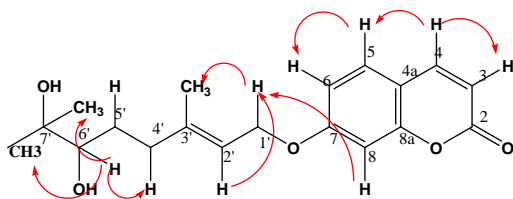
Spektrum $^1\text{H-H}$ COSY pada pergeseran kimia 1,5-2,5 ppm menunjukkan adanya korelasi yang terjadi antara proton H-4' dengan H-5', hal ini menjelaskan proton H-4' bertetangga dengan proton H-5', dengan demikian dapat diketahui C-3' tidak terdapat proton. Selanjutnya pada pergeseran kimia 1,5-3,5 ppm adanya korelasi antara proton H-6' dengan H-5', kedua proton tersebut juga saling bertetangga, serta dapat diketahui bahwa C-7' tidak terdapat proton. Pada pergeseran kimia 4,5-5,6 ppm kembali memperlihatkan adanya korelasi antara proton H-1' dengan H-2', kedua proton tersebut juga saling bertetangga. Pada

pergeseran kimia 6,25-7,75 ppm kembali memperlihatkan adanya korelasi yang terjadi antara proton H-3 dengan H-4 dan korelasi antara H-5 dengan H-6. Dengan tidak adanya korelasi pada proton H-8 dapat diketahui bahwa C-7 dan C-8a tidak terdapat proton. Berdasarkan analisa spektrum COSY tersebut diatas, kembali mempertegas bahwa senyawa hasil isolasi merupakan kumarin. Korelasi $^1\text{H-}^1\text{H}$ -COSY senyawa hasil isolasi:



Spektrum NOESY senyawa hasil isolasi mmberikan puncak-puncak diagonal yang merupakan puncak silang disebabkan oleh sepasang proton yang menunjukkan posisinya pada ruang terdekat. Spektrum tersebut menunjukkan bahwa proton H-7'-Me berdekatan secara ruang dengan proton H-6'. Kemudian proton H-3'-Me juga berdekatan secara ruang dengan proton H-1'. Proton H-4' berdekatan secara ruang dengan proton H-6'. Proton H-6' tersebut juga berdekatan secara ruang dengan proton H-5' dan H-4'. Kedekatan proton secara ruang terbukti juga ada pada proton H-1' dengan proton H-2' dan H-6'. Proton H-2' juga berdekatan secara ruang dengan proton H-4' dan H-1'. Pada proton H-3 berdekatan juga secara ruang dengan proton H-4. Kemudian pada proton H-6 berdekatan secara ruang dengan proton H-1' dan H-5. Serta kedekatan proton secara ruang juga terbukti pada proton H-5 dengan proton H-4. Proton H-4 berdekatan juga secara ruang dengan proton H-3 dan H-5.

Korelasi NOESY senyawa hasil isolasi:



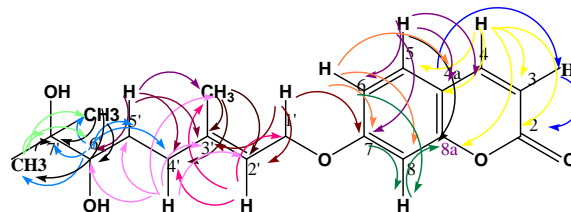
Spektrum HMBC senyawa hasil isolasi menunjukkan bahwa terdapat korelasi antara proton dengan atom karbon. Korelasi tersebut secara ringkas dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Korelasi antara proton dengan karbon berdasarkan spektrum HMBC

Jenis Proton, H (ppm)	Korelasi HMBC
H-3 (6,2405)	C-2, C-4a
H-4 (7,6355)	C-2, C-3, C-5, C-4a, C-8a
H-5 (7,3615)	C-4, C-4a, C-6, C-7, C-8
H-6 (6,844)	C-4a, C-7, C-8
H-8 (6,812)	C-6, C-7, C-8a
H-1' (4,6045)	C-7, C-2', C-3'
H-2' (5,52025)	C-1', C-4', C-3'Me
H-3'Me (1,776)	C-2', C-3', C-4'
H-4' (2,1515)	C-2', C-3', C-5', C-6', C-3'Me
H-5' (1,472)	C-3', C-4', C-6', C-3'Me
H-6' (3,353)	C-4', C-5', C-7', C-7'-Me
H-7'Me (1,167)	C-6', C-7', C-7'Me

Dari data spektrum $^1\text{H-NMR}$, $^{13}\text{C-NMR}$, DEPT-HSQC COSY dan NOESY serta dibuktikan strukturnya secara 2D-NMR dengan HMBC kembali menguatkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah kumarin, karena korelasi yang

ditunjukkan pada spektrum HMBC sesuai dengan struktur yang kumarin yang diusulkan. Korelasi HMBC senyawa hasil isolasi:

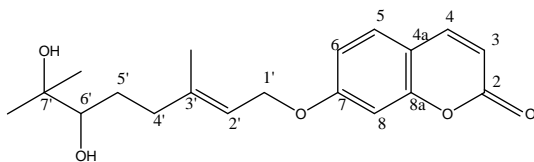


Berdasarkan pengujian KLT yang dimonitor dengan lampu UV 365 nm, berfluorisensi dan bertambah terang dengan penambahan NaOH 10%, senyawa hasil isolasi dari fraksi etil asetat kulit buah *Citrus nobilis* Lour adalah senyawa kumarin, dari data-data analisa Spektroskopi UV-Vis, IR, $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H-NMR}$, 2D-NMR (DEPT/HSQC, COSY, NOESY, HMBC), semuanya mendukung dan saling menguatkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah Marmin dengan rumus molekul $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_5$.

KESIMPULAN

Berdasarkan data yang diperoleh maka disimpulkan bahwa :

1. Senyawa yang diisolasi dari fraksi etil asetat kulit buah *Citrus nobilis* Lour adalah senyawa golongan kumarin, berbentuk kristal putih 2,159 g dengan titik leleh 126,2-127,6 $^{\circ}\text{C}$. Senyawa hasil isolasi dikarakterisasi menggunakan Spektroskopi UV-Vis, IR, $^{13}\text{C-NMR}$, $^1\text{H-NMR}$, 2D-NMR (DEPT/HSQC, COSY, NOESY, HMBC), memperlihatkan data-data yang saling mendukung bahwa senyawa hasil isolasi adalah Marmin, dengan struktur sebagai berikut:



omphalocarpa (Rutaceae. Chem. Pharm. Bull. 50 (1) 118—120. Vol. 50, No. 1

DAFTAR PUSTAKA

- Aziz, S. S. S. A. Sukari, M. A. Rahmani, M. Kitajima, M. Aimi, N. Ahpandi, N. J. 2010. *Coumarins From Murraya Paniculata (Rutaceae)* The Malaysian Journal of Analytical Sciences, Vol 14 No 1 : 1 - 5
- Feriyanto, N. 2009. Uji Aktivitas Anti bakteri Minyak atsiri pada kulit buah jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhamadiyah Surakarta, Surakarta
- Gardana, C. Nalin, F. Simonetti, P. 2008. *Evaluation of Flavonoids and Furanocoumarins from Citrus bergamia (Bergamot) Juice and Identification of New Compounds.* Molecules, 13, 2220-2228; DOI: 10.3390/molecules13092220.
- Germplasm Resources Information Network, 2010, [Citrus aurantiifolia \(Christm.\) Swingle](#). United States Department of Agriculture Agricultural Research Service, Beltsville Area
- Intekhab, J. dan Aslam, M. 2008. *Coumarins From The Roots of Clausena pentaphylla.* FABAD J. Pharm. Sci., 33, 67–70.
- Kinoshita, T. Shimada, M. 2002. *Isolation and Structure Elucidation of a New Prenylcoumarin from Murraya paniculata var.*
- Maneerat, W. Prawat, U.Saewanc, N. Laphookhieo, S. 2010. *New Coumarins from Clausena lansium Twigs.* J. Braz. Chem. Soc., Vol. 21, No. 4, 665-668, Brazil.
- Masten, Scott A. 2004. *Bitter Orange (Citrus aurantium var. amara) Extracts and Constituents (±)-p-Synephrine [CAS No. 94-07-5] and (±)-p-Octopamine [CAS No. 104-14-3].* Review of Toxicological Literature. Research Triangle Park, North Carolina.
- Murray, R.D.H. and Brown J. Mendez. 1982. *The Natural Coumarine*, Jhon Willey and Son Ltd, New York.
- Nugroho, A.E., Riyanto, S., Sukari, M.A. and Maeyama, K., 2008, *The Effects of Compounds Isolated from Aegle marmelos Correa, on Histamine Release from Mast Cells*, in 81st Annual meeting of Japanese pharmacological Society, Yokohama., March 17 - 18th.
- Mitchell, T.N., dan Costisella, B. 2007. *NMR From Spectra to Structures, an Experimental Approach. 2nd edition.* Springer-Verlag. Germany.
- Patil, J.R. 2009. *Studies On Isolation And Characterization Of Bioactive Compound In Lime [Citrus nobilis Lour (Cristm) Swingle], Their Antioksidant And Anticancer Properties.* Thesis submitted to the University of Agricultural Sciences. Dharwad University Of

- Agricultural Sciencis. Dharwad – 580 005
- Perveen, A. Qaiser, M. 2005. *Pollen Flora Of Pakistan -XLV. Rutaceae*. Pak. J. Bot., 37(3): 495-501, 2005. Department of Botany, University of Karachi, Karachi - 75270, Pakistan
- Ping HE, H. Mao SHEN, Y. Ying ZUO, G. Ming ZHU, W. Sheng YANG, X. Jiang HAO, X. 2000. *Two New O-terpenoidal Coumarins, Excavacoumarin A and B from Clausena excavate*. Chinese Chemical Letters Vol. 11, No. 6, pp. 539–542.
- Rao, V.G. Rao, K. S. Annamalai, T. Mukhopadhyay, T. 2009. *New Coumarin diol from Chloroxylon switenia DC*. Indian Journal of Chemistry. Vol. 48 B. pp 1041-1044.
- Santoni, Adlis. 2009. *Elusidasi Struktur Flavonoid Triterpenoid Dari Kulit Buah Surian (Toona sinensis) Dan Identifikasi Minyak Atsiri Daun Surian Serta Uji Aktiivitas Insektisida*. Disertasi. Program Pascasarjana Universitas Andalas. Padang.
- Supratman, U. 2010. *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Widya Padjadjaran. Bandung.
- Wang, Y, S. He, H. P. Yang, J. H. Di. Y. Hao, X. J. 2008. *New Monoterpenoid Coumarins from Clausena anisum-olens*. Molecules, 13, 931-937
- Yamada, Y., Nakatani, N. and Fuwa, H., 1987. *Epoxyaurapten and Marmin from Juice Oil in Hassaku (Citrus hassaku) and the Spasmolytic Activity of 7-Geranyloxy coumarin-related Compounds*. Ag Chem.51(4):1105-1110.
- Yang, X. W. Hattori, M. Namba, T. 1996. *Two New Coumarins from the Roots of Aegle marmelos*. Journal of Chonese Pharmaceutical Sciences, 5