



## Histokimia Senyawa Fenol, Flavonoid, dan Terpenoid Kulit Buah dan Daun Jeruk Siam Banjar (*Citrus nobilis* (Lour.) var. *Microcarpa Hassk.*)

Iqbal Amanullah Putra Gazali\*, Evi Mintowati Kuntorini

Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan, Indonesia.

\*e-mail korespondensi: [iqbalapg88@gmail.com](mailto:iqbalapg88@gmail.com)

**Abstract.** Banjarnese siam orange (*Citrus nobilis* (Lour.) var. *Microcarpa Hassk.*) is one of the leading orange varieties from South Borneo known for its antioxidant and antimicrobial activity because the presence of phenol, flavonoid, and terpenoid compounds. However, research on the distribution of bioactive compounds from the body of *C. nobilis* has yet to be available. This research proposed studying the distribution of phenol, flavonoid, and terpenoid compounds in the histochemistry of *C. nobilis* leaves and peels under different maturation. The distribution was examined based on the alteration of color after adding a specific reagent: phenol was detected by  $\text{FeCl}_3$  10%, flavonoid with  $\text{AlCl}_3$  10%, and terpenoid with  $\text{Cu}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4$  5%. Phenol, flavonoid, and terpenoid compounds were found distributed on both young and old leaves' palisade mesophyll, around the secretory cavity, spongy mesophyll, vascular bundles, adaxial epidermis, sclerenchyma, and midrib parenchyma. As for the peels, these compounds were found all over the layers with slight differences: flavonoids and terpenoids were mainly found in the albedo layer, while phenol was mainly in the whole layers. Phenol and flavonoid compounds were found concentrated in secretory cavities scattered through the albedo and flavedo. In addition, more mature age, both in leaves and peels, showed darker color alteration indicating the accumulation of phenol, flavonoid, and terpenoid compounds.  
**Keyword:** histochemistry; banjarnese siam orange; *Citrus nobilis*; leaves; peels

**Abstrak.** Jeruk siam banjar (*Citrus nobilis* (Lour.) var. *Microcarpa Hassk.*) merupakan varietas jeruk unggulan dari Kalimantan Selatan memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri karena adanya senyawa metabolit sekunder seperti fenol, flavonoid, dan terpenoid. Riset terkait persebaran senyawa bioaktif pada bagian tubuh *C. nobilis* secara histokimia masih belum dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengkaji distribusi senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid secara histokimia dari daun dan kulit buah *C. nobilis* dengan umur yang berbeda. Ditribusi berdasarkan perubahan warna sampel setelah diberi reagen spesifik: fenol dideteksi dengan menggunakan reagen  $\text{FeCl}_3$  10%; flavonoid menggunakan  $\text{AlCl}_3$  10%; dan terpenoid menggunakan  $\text{Cu}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4$  5%. Senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid pada daun tua dan muda terdistribusi pada jaringan mesofil palisade, sekitar rongga jaringan sekretori, jaringan spons, pembuluh vaskular, epidermis, sklerenkim, kolenkim, dan parenkim ibu tulang daun. Distribusi senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid pada kulit tua dan muda ditemukan pada keseluruhan lapisan flavedo dan albedo dengan sedikit perbedaan yaitu, flavonoid dan terpenoid kebanyakan ditemukan pada lapisan albedo, sedangkan fenol lebih banyak pada lapisan keseluruhan lapisan. Fenol dan flavonoid



ditemukan terkonsentrasi pada rongga sekretori dan sekitarnya yang tersebar di lapisan flavedo dan albedo. Umur lebih tua pada daun maupun kulit menunjukkan perubahan warna lebih gelap yang mengindikasikan adanya akumulasi senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid.

**Kata kunci:** histokimia; jeruk siam banjar; *Citrus nobilis*, daun; kulit buah

## PENDAHULUAN

Jeruk siam banjar (*Citrus nobilis* (Lour.) var. *Microcarpa* Hassk.) merupakan varietas asli dari pulau Kalimantan dan diunggulkan berdasarkan Keputusan Menteri Pertanian No.862/Kpts/TP.240/11/98 [1]. Riset terkait jeruk siam banjar telah banyak dieksplorasi pada berbagai bidang seperti penggunaan minyak atsiri hasil destilasi bagian kulit sebagai agen antibakteri dari beberapa jenis bakteri [2][3]. Selain itu kadar kandungan antioksidan dari ekstrak kulit buahnya juga telah diteliti [4]. Aplikasi penggunaan ekstrak kulit jeruk siam banjar juga telah dilakukan yaitu untuk keperluan remineralisasi gigi desidui [5]. Penelitian yang telah dilakukan tersebut didasarkan oleh adanya senyawa aktif seperti fenol, flavonoid, dan terpenoid yang ada di pada bagian tubuh jeruk siam banjar.

Kulit jeruk siam (*Citrus nobilis*) mengandung senyawa fenolik dan flavonoid dalam jumlah besar. Beberapa kelas senyawa fenolik seperti flavonoid, limonoid, komarin, asam fenolik, terpenoid, tanin, stilbena, lignan, dan karotenoid dilaporkan telah menyusun hampir setengah dari kandungan senyawa aktif kulit jeruk secara keseluruhan [6]. Peran utama senyawa fenolik secara umum yaitu sebagai antimikrob, antioksidan, anti kanker (*anti-proliferative activity*), dan anti inflamasi [7]. Flavonoid secara umum memiliki peran yang hampir sama dengan senyawa fenolik, yaitu sebagai agen antiviral, antiulcer, anti alergi, dan bahkan berpotensi menjadi anti diabetes [8][9]. Terpenoid merupakan konstituen utama dari minyak atsiri yang banyak diekstraksi dari bagian tubuh tumbuhan dan berfungsi sebagai bahan pengobatan, wewangian atau aromaterapi, dan bahkan berpotensi menjadi bahan tambahan pangan dalam hal preservasi [10]. Informasi dari kandungan senyawa aktif ini sangat bermanfaat bagi riset aplikatif ke depannya. Namun, hal yang sangat krusial yaitu distribusi dari senyawa fenolik, flavonoid, dan terpenoid beserta bagian tumbuhan mana yang memproduksinya belum dapat dideterminasi kecuali menggunakan metode histokimia.

Histokimia merupakan metode pengamatan yang berfokus pada persebaran atau distribusi senyawa kimia tertentu pada jaringan makhluk hidup. Metode ini berasal dari penggabungan dua bidang keilmuan yaitu biokimia dan histologi yang memiliki prinsip utama berkaitan dengan kemampuan jaringan dan sel makhluk hidup menyerap suatu zat pewarna tertentu. Reaksi yang terjadi saat proses pewarnaan berupa produk akhir jaringan yang berwarna berbeda sehingga dapat diamati pada mikroskop [11]. Metode ini telah banyak digunakan untuk mengetahui berbagai komponen hasil metabolit primer maupun metabolit sekunder dari beberapa jenis tumbuhan obat misalnya tanaman genus *Sesbania*, *Thymus quinquecostatus*, *Piper betle*, *Rhodomyrtus tomentosa*, dan tanaman obat lainnya [12][13][14][15]. Sedangkan riset terkait distribusi senyawa bioaktif pada bagian tubuh *C. nobilis* secara histokimia masih belum dilakukan.

Senyawa flavonoid, fenol, dan terpenoid pada jeruk siam banjar dapat diketahui distribusi dan tempat disintesisnya senyawa ini serta dieksresikan guna

memudahkan dalam proses ekstraksi, isolasi, dan kuantifikasi atau penghitungan kadar senyawa-senyawa tersebut untuk keperluan riset dan pengembangan obat maupun hilirisasi produk berbasis jeruk siam banjar [16]. Pemilihan bagian kulit dan daun jeruk siam banjar karena bagian ini termasuk limbah yang dalam kehidupan sehari-hari umumnya tidak digunakan. Oleh karenanya, diperlukan informasi terkait distribusi senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid dari bagian kulit dan daun dari jeruk siam banjar sebagai dasar pengefektivitasan riset lanjutan lainnya yang memerlukan senyawa aktif ini. Selain itu, melalui informasi yang tersedia dapat diterapkannya prinsip *waste minimization* dari limbah kulit dan daun jeruk siam banjar atau hilirisasi limbah menjadi suatu produk obat.

## METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan pada bulan Juli sampai dengan Agustus 2023. Pelaksanaan penelitian ini dilakukan di laboratorium Anatomi dan Fisiologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Penelitian ini terdiri dari dua tahapan utama, yaitu pengumpulan dan penentuan sampel pengujian histokimia kulit buah dan daun jeruk siam banjar (*Citrus nobilis* (Lour.) var. *Microcarpa* Hassk.). Hasil histokimia dari jaringan kulit buah dan daun jeruk siam banjar kemudian diamati dan data hasil pengamatan dianalisis secara kualitatif deskriptif.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya mikroskop binokuler (*Nikon*), kamera mikroskop (*OptiLab*), pisau cutter, pisau silet, pinset, kaca objek, kaca penutup (*cover glass*), pipet tetes, cawan Petri (*Normax*), aplikasi *OptiLab Viewer 2.2*, dan *Image Raster 3*.

Bahan yang digunakan meliputi kulit buah muda warna hijau, kulit tua berwarna kuning, daun muda dan tua jeruk siam banjar (*Citrus nobilis* (Lour.) var. *Microcarpa* Hassk.), akuades steril, larutan pereaksi besi(III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 10%, natrium karbonat ( $\text{NaCO}_3$ ), aluminum klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) 10%, dan tembaga(II) asetat 5%.

### Pengumpulan dan Penentuan Sampel

Sampel berupa jeruk siam banjar (*Citrus nobilis* (Lour.) var. *Microcarpa* Hassk.) yang diperoleh dari Desa Karang Dukuh, Kecamatan Belawang, Kabupaten Barito Kuala, Kalimantan Selatan ( $3^{\circ}08'38.2''\text{S}$   $114^{\circ}38'19.3''\text{E}$ ). Bagian daun dan kulit buah diambil dengan umur yang berbeda diambil dengan kriteria warna yang berdasarkan pada *Munsell Color Charts for Plant Tissues* [17]. Daun muda diambil pada pucuk tangkai atau daun urutan ke-2 dengan warna hijau lumut (*Munsell Color Charts*: 5GY (4/2-4/4)). Daun tua diambil pada pangkal tangkai atau daun urutan ke-10 dengan warna hijau tua (*Munsell Color Charts*: 2,5GY (7/8-6/8)). Kulit muda diambil dari buah yang belum matang berwarna hijau kekuningan gelap (*Munsell Color Charts*: 2,5GY (6/8-6/10)). Kulit tua diambil dari buah matang yang berwarna hijau kekuningan terang (*Munsell Color Charts*: 5Y (8/10-8/12)).

### Pengujian Histokimia

Sampel daun dan kulit dengan umur berbeda dipotong secara melintang dalam keadaan segar dengan menggunakan pisau silet. Potongan melintang sampel kemudian diberikan penambahan reagen Besi(III) klorida ( $\text{FeCl}_3$ ) 10% dengan tambahan serpihan

padatan natrium karbonat ( $\text{NaCO}_3$ ) secukupnya untuk penentuan distribusi senyawa fenol [18]. Perubahan warna menjadi hijau dengan opasitas tinggi atau gelap menandakan hasil positif. Reagen aluminum klorida ( $\text{AlCl}_3$ ) dengan konsentrasi 10% digunakan untuk penentuan distribusi senyawa flavonoid dan hasil positif ditandai dengan perubahan warna sampel menjadi kuning, biru, dan hijau [19]. Tembaga(II) asetat ( $\text{Cu}_2(\text{CH}_3\text{COO})_4$ ) 5% digunakan untuk penentuan distribusi senyawa terpenoid. Warna kuning kecoklatan menandakan adanya hasil positif [15].

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian histokimia memberikan gambaran distribusi senyawa metabolit sekunder fenol, flavonoid, dan terpenoid secara kualitatif tanpa melibatkan pengukuran konsentrasi atau kadarnya [20]. Senyawa-senyawa ini positif ditemukan pada daun muda dan tua serta kulit muda dan tua *C. nobilis* dengan lokasi yang berbeda-beda. Warna dan tempat ditemukannya senyawa pada beberapa hasil pengujian senyawa tertentu berhubungan dengan perbedaan umur pada daun dan kulit *C. nobilis*.

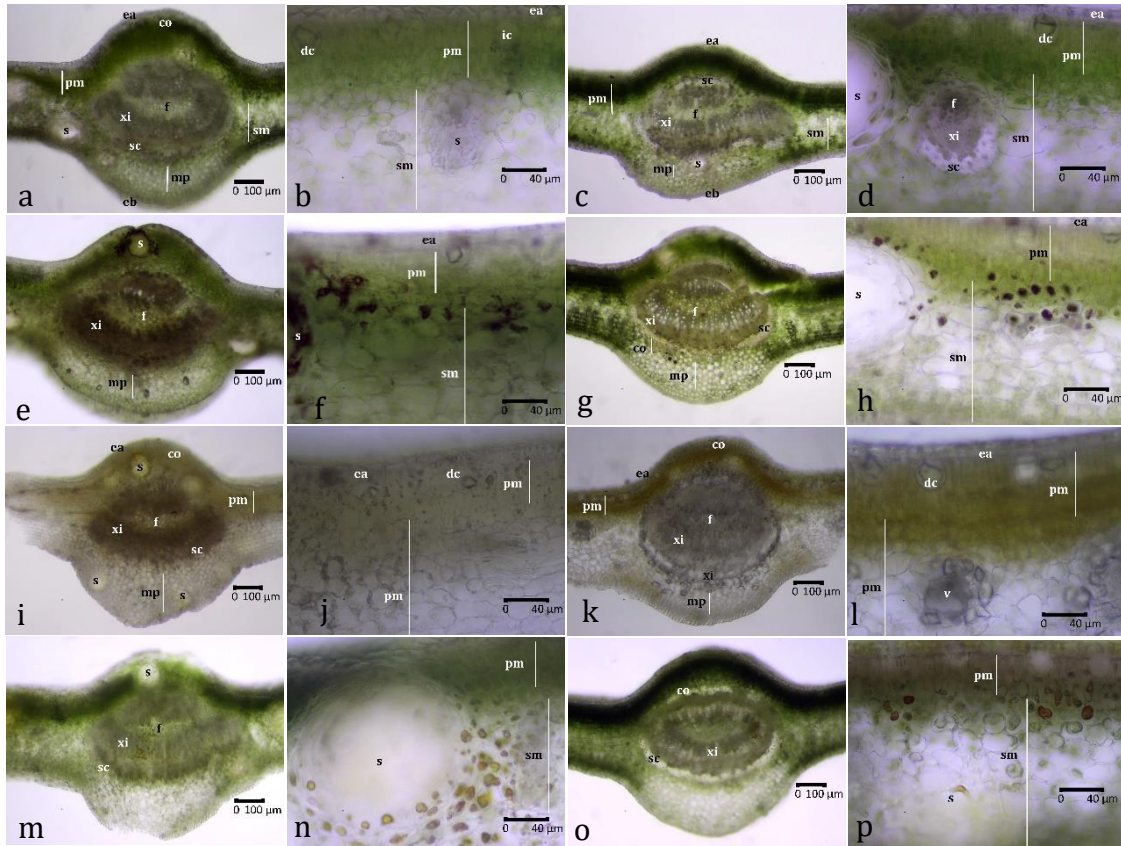
Hasil histokimia senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid daun semuanya positif yang menandakan ketiga senyawa ini terdapat pada bagian daun muda dan tua *C. nobilis* (**Gambar 1.**). Penampang melintang daun tua dan segar bagian ibu tulang daun dan lamina dijadikan sebagai acuan untuk melihat perubahan warna dan letak distribusi senyawa. Daun muda segar (1a-b) memiliki warna hijau yang lebih terang dibandingkan daun tua segar (1c-1d). Berkas pembuluh memiliki tipe kolateral, terlihat jelas pada ibu tulang daun berwarna kehitaman, dan dapat dibedakan antara xilem dan floem. Berkas pembuluh dikelilingi oleh jaringan sklerenkim. Bagian lamina terdiri dari dua lapis jaringan palisade yang tersusun rapat dan mengandung banyak klorofil. Jaringan spons pada beberapa bagian rapat dan pada bagian lainnya renggang serta terdapat aerenkim. Jaringan sekretori membentuk rongga sekretori yang di sekitar rongga tersebut terdapat sel-sel sekretori. Letak rongga sekretori tersebar di seluruh bagian daun baik pada lamina maupun ibu tulang daun.

Keberadaan fenol ditandai dengan perubahan warna jaringan menjadi hijau tua hingga kehitaman seperti pada daun muda dan daun tua *C. nobilis* (1e-1h). Daun muda dan daun tua tidak memiliki perbedaan signifikan secara tampilan akibat perubahan warna satu sama lain. Fenol pada daun muda dan tua ditemukan di jaringan yang sama, yaitu pada rongga sekretori, jaringan parenkim ibu tulang daun, dalam jumlah kecil pada epidermis atas.

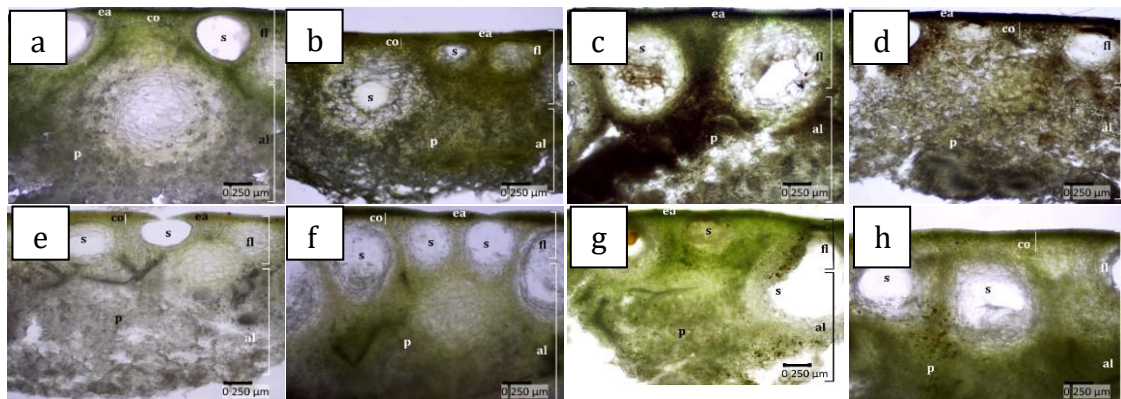
Perubahan warna hijau kekuningan pada daun muda dan tua mengindikasikan keberadaan senyawa flavonoid (1i-1l). Daun tua menunjukkan warna hijau kekuningan yang lebih gelap dan area lebih luas dibandingkan pada daun muda. Distribusi senyawa flavonoid pada daun muda dan tua sama, yaitu pada jaringan palisade, parenkim ibu tulang daun, palisade bagian atas, dan beberapa jaringan spons serta parenkim ibu tulang daun di sekitar rongga sekretori. Distribusi ini berkesesuaian dengan lokasi akumulasi dari senyawa flavonoid pada sebagian tanaman yaitu pada bagian mesofil [21].

Terpenoid diindikasikan oleh perubahan warna jaringan daun muda dan tua menjadi kuning kecoklatan (1m-1p). Daun muda dan tua memiliki distribusi terpenoid kurang lebih sama yaitu terkonsentrasi pada sel-sel sekretori, jaringan palisade, dan spons yang berada di sekitar rongga sekretori, serta pada pembuluh vaskular xilem dan floem ibu tulang daun. Senyawa terpenoid tidak ditemukan pada

jaringan epidermis manapun. Sel sekretori pada rongga sekretori menyintesiskan terpenoid sebagai konstituen dari minyak atsiri. Hal ini sejalan dengan riset terkait kandungan limbah daun *C. limon* telah diteliti yang menunjukkan banyaknya jenis senyawa volatil seperti limonen, geranial, dan neral dari limbah daun jeruk [22].



**Gambar 1. Pengamatan irisan melintang daun *C. nobilis* bagian ibu tulang daun dan bagian lamina. (a-b) Penampang melintang daun muda segar, (c-d) penampang melintang daun tua segar, (e-f) reaksi positif senyawa fenol pada daun muda, (g-h) reaksi positif senyawa fenol pada daun tua, (i-j) reaksi positif senyawa flavonoid pada daun muda, (k-l) reaksi positif senyawa flavonoid pada daun tua, (m-n) reaksi positif senyawa terpenoid pada daun muda, (o-p) reaksi positif senyawa terpenoid pada daun tua. Keterangan: (pm) mesofil palisade, (sm) mesofil spons, (s) rongga sekretori, (co) kolenkim, (sc) sklerenkim, (mp) parenkim ibu tulang daun, (ea) epidermis atas, (eb) epidermis bawah, (f) floem, (xi) xilem, (dc) kristal oksalat, (ic) kristal idioblas, (v) berkas pembuluh.**



**Gambar 2. Pengamatan irisan melintang kulit buah *C. nobilis*.** (a) Penampang melintang kulit muda segar, (b) penampang melintang kulit tua segar, (c) reaksi positif senyawa fenol pada kulit muda dan kulit tua (d), (e) reaksi positif senyawa flavonoid pada kulit muda dan kulit tua (f), (g) reaksi positif senyawa terpenoid pada kulit muda dan kulit tua (h). Keterangan: (fl) flavedo, (al) albedo, (s) rongga sekretori, (p) parenkim, (co) kolenkim, (ea) epidermis atas.

Histokimia kulit muda maupun tua menunjukkan hasil positif untuk keberadaan senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid (**Gambar 2.**). Kulit muda (2a) memiliki warna hijau yang lebih terang dibandingkan kulit tua (2b). Kulit *C. nobilis* dibedakan menjadi dua lapisan yaitu lapisan flavedo atau eksokarp dan lapisan albedo atau mesokarp. Flavedo mencakup bagian terluar yang berpigmen (*colored flavedo*), kutikula, epidermis, jaringan kolenkim yang tersusun rapat, dan 3 hingga 5 lapis parenkim. Albedo mencakup beberapa lapisan parenkim hingga lapisan serabut terluar dan beberapa berkas pembuluh. Rongga sekretori tersebar pada kedua lapisan kulit [23].

Fenol terdistribusi di keseluruhan lapisan kulit muda dan tua ditandai dengan warna kehitaman (2c-2d). Senyawa ini terkonsentrasi di setiap rongga sekretori. Kulit muda memiliki distribusi fenol pada bagian parenkim di lapisan albedo. Kulit tua memiliki distribusi fenol pada epidermis, kolenkim, dan beberapa lapisan parenkim flavedo.

Hasil positif flavonoid ditandai dengan warna hijau kekuningan. Distribusi flavonoid tidak terkonsentrasi pada jaringan tertentu, namun menyebar ke seluruh bagian lapisan kulit. Kulit tua memiliki warna yang lebih gelap dibandingkan kulit muda dan area yang lebih menyeluruh. Flavonoid terdistribusi pada kulit muda di seluruh lapisan flavedo dan sedikit lapisan parenkim albedo bagian atas. Kulit tua memiliki distribusi flavonoid di kedua lapisan flavedo dan albedo. Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang berperan dalam perlindungan terhadap berbagai cekaman dan memiliki peran penting dalam hal reproduksi dan perkembangan. Kulit tua memiliki kadar flavonoid yang lebih banyak sejalan dengan peran dari flavonoid tersebut untuk melindungi buah dari gangguan ketika sedang matang [24].

Terpenoid positif keberadaannya di kulit muda dan tua. Distribusi terpenoid terkonsentrasi pada rongga sekretori dan jaringan parenkim sekitarnya di kedua lapisan kulit. Kulit muda memiliki distribusi terpenoid hanya pada rongga sekretori dan parenkim sekitarnya. Kulit tua memiliki distribusi terpenoid pada rongga sekretori dan parenkim sekitarnya, serta pada jaringan kolenkim. Terkonsentrasinya distribusi terpenoid di bagian rongga sekretori pada kulit *C. nobilis* sesuai dengan peran dari sel-sel sekretori dalam mensintesis terpenoid sebagai konsituen utama minyak atsiri [25].

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil dari penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid terdistribusi pada daun tua dan muda *C. nobilis* pada jaringan mesofil palisade, sekitar rongga jaringan sekretori, jaringan spons, pembuluh vaskular, epidermis, sklerenkim, kolenkim, dan parenkim ibu tulang daun. Distribusi senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid pada kulit tua dan muda ditemukan pada keseluruhan lapisan flavedo dan albedo dengan sedikit perbedaan yaitu, flavonoid dan terpenoid kebanyakan ditemukan pada lapisan albedo,



sedangkan fenol lebih banyak pada keseluruhan lapisan. Fenol dan flavonoid ditemukan terkonsentrasi pada rongga sekretori dan sekitarnya yang tersebar di lapisan flavedo dan albedo. Umur lebih tua pada daun maupun kulit menunjukkan perubahan warna lebih gelap yang mengindikasikan adanya akumulasi senyawa fenol, flavonoid, dan terpenoid.

## DAFTAR RUJUKAN

- [1] Kementerian Pertanian, "Lampiran Surat Keputusan Menteri Pertanian: Deskripsi Jeruk Siem Varietas Banjar No.862/Kpts/TP.240/11/98." 1998.
- [2] D. R. Febrianti, Y. Susanto, R. Niah, and S. Latifah, "Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Siam Banjar (*Citrus reticulata*) terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa*," *J. Pharmascience*, vol. 6, no. 1, p. 10, 2019, doi: 10.20527/jps.v6i1.6070.
- [3] M. Ropiqa, I. Ristia Rahman, H. Kurniawan, and E. Kurnianto, "Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Kulit Jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour. var. *microcarpa*) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus mutans*," *J. Syifa Sci. Clin. Res.*, vol. 5, no. 1, pp. 7–12, 2023.
- [4] D. R. Febrianti, N. Ariani, R. Niah, and R. Jannah, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Jeruk Siam Banjar (*Citrus reticulata*)," *J. Insa. Farm. Indones.*, vol. 2, no. 1, pp. 1–6, 2018, doi: 10.36387/jifi.v2i1.298.
- [5] N. Hidayah, R. K. Dewi, and A. N. Carabelly, "Pengaruh Ekstrak Kulit Jeruk Siam Banjar (*Citrus reticulata*) terhadap Kadar Ion Fosfat pada Gigi Desidui," *Dentin*, vol. 6, no. 1, pp. 13–18, 2022, doi: 10.20527/dentin.v6i1.6228.
- [6] A. Malik, A. Najda, A. Bains, R. Nurzyńska-Wierdak, and P. Chawla, "Characterization of *Citrus nobilis* Peel Methanolic Extract for Antioxidant, Antimicrobial, and Anti-inflammatory Activity," *Molecules*, vol. 26, no. 14, pp. 1–12, 2021, doi: 10.3390/molecules26144310.
- [7] H. H. Al Mamari, *Phenolic Compounds: Classification, Chemistry, and Updated Techniques of Analysis and Synthesis*. London: IntechOpen, 2021.
- [8] G. Gattuso, D. Barreca, C. Gargiulli, U. Leuzzi, and C. Caristi, "Flavonoid Composition of Citrus Juices," *Molecules*, vol. 12, no. 8, pp. 1641–1673, 2007, doi: 10.3390/12081641.
- [9] G. R. Gandhi *et al.*, "Citrus Flavonoids as Promising Phytochemicals Targeting Diabetes and Related Complications: A Systematic Review of In Vitro and In Vivo Studies," *Nutrients*, vol. 12, no. 10, pp. 1–32, 2020, doi: 10.3390/nu12102907.
- [10] A. Masyita *et al.*, "Terpenes and Terpenoids as Main Bioactive Compounds of Essential Oils, Their Roles in Human Health and Potential Application as Natural Food Preservatives," *Food Chem. X*, vol. 13, no. 1, pp. 1–14, 2022, doi: 10.1016/j.fochx.2022.100217.
- [11] M. R. Wick, "Histochemistry as A Tool in Morphological Analysis: A Historical Review," *Ann. Diagn. Pathol.*, vol. 16, no. 1, pp. 71–78, 2012, doi: 10.1016/j.anndiagpath.2011.10.010.
- [12] V. B. Kadam, P. P. Ahire, T. S.S., and S. Fatima, "Histochemical Investigation of Some Medicinal Plants of Genus *Sesbania* in Maharashtra," *Int. J. Pharm. Res. Bio-Science*, vol. 2, no. 4, pp. 172–180, 2014.
- [13] H. Jing, J. Liu, H. Liu, and H. Xin, "Histochemical Investigation and Kinds of Alkaloids in Leaves of Different Developmental Stages in *Thymus quinquecostatus*," *Sci. World J.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–6, 2014, doi: 10.1155/2014/839548.
- [14] G. P. Dewi, E. M. Kuntorini, and E. D. Pujawati, "Struktur Anatomi dan Uji Histokimia Terpenoid dan Fenol Dua Varietas Sirih Hijau (*Piper betle* L.)," *Bioscientiae*, vol. 17, no. 2, pp. 1–14, 2021, doi: 10.20527/b.v17i2.3448.
- [15] E. M. Kuntorini, S. G. Sari, and R. Fariani, "The Morphoanatomy, Histochemistry, and



- Phytochemistry of the Leaves and Fruits of *Rhodomyrtus tomentosa*,” *Biodiversitas*, vol. 24, no. 1, pp. 98–105, 2023, doi: 10.13057/biodiv/d240113.
- [16] V. Yadav *et al.*, “Histochemical Techniques in Plant Science: More Than Meets the Eye,” *Plant Cell Physiol.*, vol. 62, no. 10, pp. 1509–1527, 2021, doi: 10.1093/pcp/pcab022.
- [17] S. A. Wilde and G. K. Voigt, *Munsell Color Charts For Plant Tissues*. Winconsin: Soils Department, University of Wisconsin, 1977.
- [18] T. Rahayu, R. I. A. Pratiwi, and N. J. Mubarakati, “Profil Metabolit Daun Kesambi (*Schleichera oleosa*) Berdasarkan Analisis Histokimia dan In Silico,” *Metamorf. J. Biol. Sci.*, vol. 8, no. 1, pp. 156–165, 2021, doi: 10.24843/metamorfosa.2021.v08.i01.p17.
- [19] A. Ni'ma and N. Y. Lindawati, “Analysis of Total Flavanoid Levels of Fennel Leaves (*Foeniculum vulgare*) Ethanol Extract by Spectrophotometry Visibel,” *J. Farm. Sains dan Prakt.*, vol. 8, no. 1, pp. 1–12, 2022, doi: 10.31603/pharmacy.v8i1.4972.
- [20] D. A. Dhale, “Histochemical Investigation of Some Medicinal Plants,” *Adv. Res. Pharm. Biol.*, vol. 1, no. 2, pp. 147–154, 2011.
- [21] M. Berhow, B. Tisserat, K. Kanen, and Carl Vandercook, *Survey of Phenolic Compounds Produced In Citrus*. USA: United States Departement of Agriculture, 1998.
- [22] G. L. Petretto *et al.*, “Waste Citrus limon Leaves as Source of Essential Oil Rich in Limonene and Citral: Chemical Characterization, Antimicrobial and Antioxidant Properties, and Effects on Cancer Cell Viability,” *Antioxidants*, vol. 12, no. 6, pp. 1–21, 2023, doi: 10.3390/antiox12061238.
- [23] L. Patricia, “Lemon Maturation Causes Anatomical and Biochemical Changes at the Flavedo Tissue Level,” 2021.
- [24] M. Addi, A. Elbouzidi, M. Abid, D. Tungmunthum, A. Elamrani, and C. Hano, “An Overview of Bioactive Flavonoids from Citrus Fruits,” *Appl. Sci.*, vol. 12, no. 1, pp. 1–15, 2022, doi: 10.3390/app12010029.
- [25] S. S. Voo, H. D. Grimes, and M. B. Lange, “Assessing the Biosynthetic Capabilities of Secretory Glands in Citrus Peel,” *Plant Physiol.*, vol. 159, no. 1, pp. 81–94, 2012, doi: 10.1104/pp.112.194233.