

IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI TOKSISITAS HASIL FRAKSINASI EKSTRAK KULIT BUAH NAGA MERAH (*Hylocereus polyrhizus*)**Yuli Yana^{1,*}, Arief Adhiksana², dan Cindi Amborowati³**^{1,2,3}Program Studi Petro dan Oleo Kimia, Jurusan Teknik Kimia, Politeknik Negeri Samarinda, Samarinda, Indonesia

*) Email : yanayuli_96@yahoo.co.id

(Received : xx yy zzzz; Revised: xx yy zzzz; Accepted: xx yy zzzz)

Abstrak

Kalimantan Timur, khususnya Tana Paser merupakan salah satu penghasil buah naga khususnya buah naga merah (*Hylocereus polyrhizus*). Besarnya minat konsumen terhadap buah naga merah mengakibatkan banyaknya limbah kulit buah naga yang tidak dimanfaatkan. Beberapa penelitian menunjukkan ekstrak kulit buah naga merah memiliki sifat toksik yang dapat diaplikasikan terhadap sel kanker. Maka dalam penelitian ini dilakukan proses ekstraksi dan fraksinasi yang kemudian dilanjutkan dengan uji fitokimia dan uji BSLT dengan tujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder pada fraksi ekstrak air, fraksi ekstrak etil asetat dan fraksi ekstrak n-heksana dengan metode uji fitokimia dan untuk mengetahui toksisitas pada fraksi ekstrak air, fraksi ekstrak etil asetat dan fraksi ekstrak n-heksana dilakukan dengan metode uji BSLT. Hasil uji fitokimia menunjukkan ekstrak fraksi air kulit buah naga mengandung alkaloid, fenolik dan saponin. Ekstrak fraksi etil asetat kulit buah naga mengandung fenolik dan flavonoid. Fraksi n-heksana kulit buah naga mengandung triterpenoid. Hasil uji BSLT menunjukkan nilai LC₅₀ pada ekstrak fraksi air adalah 451,855 ppm, ekstrak fraksi etil asetat adalah 374,024 ppm, dan ekstrak fraksi n-heksana adalah 312,176 ppm yang secara keseluruhan tergolong toksik moderat (sedang). Efektivitas toksisitas tertinggi ditunjukkan pada ekstrak fraksi n-heksana dengan golongan senyawa metabolit sekunder triterpenoid.

Kata kunci : Ekstrak Kulit Buah Naga Merah, Metabolit Sekunder, Toksisitas.**Abstract**

East Kalimantan, especially the cities of Tana Paser, is one of the producers of dragon fruit, especially red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). The amount of consumer interest in red dragon fruit results in a large amount of dragon fruit peel waste that is not utilized. Several studies have shown that red dragon fruit skin extract has toxic properties that can be applied to cancer cells. So in this study, the extraction and fractionation process was carried out which was then continued with phytochemical tests and BSLT tests with the aim of knowing secondary metabolites in the aqueous extract fraction, ethyl acetate extract fraction and n-hexane extract fraction with phytochemical test methods and to determine the toxicity of the fraction. Aqueous extract, ethyl acetate extract fraction and n-hexane extract fraction were carried out using the BSLT test method. The results of the phytochemical test showed that the aqueous fraction extract of dragon fruit peel contained alkaloids, phenolics and saponins. The extract of the ethyl acetate fraction of dragon fruit peel contains phenolics and flavonoids. Fraksi n-hexane dragon fruit peel contains triterpenoids. The results of the BSLT test showed that the LC₅₀ value of the aqueous fraction extract was 451.855 ppm, the ethyl acetate fraction extract was 374.024 ppm, and the n-hexane fraction extract was 312.176 ppm which overall was classified as moderately toxic. The highest toxicity effectiveness was shown in the n-hexane fraction extract with triterpenoid secondary metabolite compounds.

Keywords: Red Dragon Fruit Peel Extrac, Secondary Metabolites, Toxicity.

PENDAHULUAN

Para petani buah naga di Kalimantan Timur khususnya Tana Paser memiliki permintaan lebih dari 1.000 ton per bulan. Hal ini menunjukkan besarnya minat konsumen terhadap buah naga. Bagian yang dapat dimakan adalah daging buahnya. Kulit buah naga tidak dapat dikonsumsi dan hingga sekarang, tidak ada pemanfaatan kulit buah naga. Karena itu, kulit buah naga menjadi limbah organik pada masyarakat. Padahal kulit buah naga mengandung beberapa senyawa seperti vitamin B1, vitamin B2, dan vitamin C, protein, lemak, karbohidrat, serat kasar, flavonoid, tiamin, niasin, pyridoxine, kobalamin, glukosa, fenol, betasianin, polifenol, karoten, fosfor, besi, dan fitoalbumin. Banyaknya senyawa aktif yang terkandung didalam kulit buah naga tersebut memberikan gambaran adanya potensi ekstrak kulit buah naga memiliki sifat toksisitas.

Penelitian yang berjudul “Uji Sitotoksitas Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) Terhadap Kultur Sel Fibroblas” Menunjukkan bahwa kultur sel fibroblas BHK-21 yang diberi ekstrak kulit buah naga dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, 90%, 100% menunjukkan semakin besar persentase kulit buah naga makin kecil nilai *optical density*. Hal ini menunjukkan makin besar konsentrasi makin kecil jumlah sel yang hidup maka hal ini menunjukkan ekstrak kulit buah naga memiliki efek toksik terhadap sel fibroblas BHK-21 (Karimah, 2018). Berdasarkan penelitian tersebut perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan melakukan fraksinasi atau isolasi senyawa untuk mengetahui golongan senyawa aktif yang memiliki efek toksik tersebut.

METODOLOGI

1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah botol maserasi, gelas kimia, pipet tetes, corong pisah, botol semprot, batang pengaduk, tabung reaksi, corong pemisah, kertas saring, lampu, dan evaporator. Bahan yang digunakan adalah kulit buah naga, telur artemia salina leach, etanol 96%, etil asetat 70%, N-heksana, garam laut, aquadest, serbuk magnesium, pereaksi dragendrof, asam asetat glasial, asam sulfat, FeCl_3 10%, dan HCl pekat

2. Persiapan dan ekstraksi sampel

Sampel dikumpulkan dan dilakukan sortasi basah antara buah dan kulit buah naga. Selanjutnya kulit buah naga dicuci dengan air bersih. Setelah itu dilakukan perajangan dan dikeringkan disinari matahari secara tidak langsung dengan ditutup kain hitam. Setelah dikeringkan kemudian dihaluskan menggunakan blender. Kulit buah naga yang sudah halus ditimbang sebanyak 141 gram. Kemudian dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 5 hari. Sampel diekstraksi hingga larutan ekstrak tidak berwarna, Selanjutnya ekstrak etanol disaring dan dipekatkan dengan menggunakan destilasi dan diperoleh ekstrak etanol pekat.

3. Fraksinasi sampel

Disuspensikan ekstrak pekat etanol dengan menggunakan air dan dimasukkan ke dalam corong pisah. Kemudian ditambahkan pelarut n-heksana dengan perbandingan volume n-heksana dan air suspensi sebesar 1:1. Setelah itu dilakukan pengocokan dan didiamkan hingga terbentuk dua fase. Diambil fase bagian bawah dengan cara membuka keran corong pisah. Pemisahan tersebut dilakukan berulang kali sehingga didapatkan dua fraksi yaitu fraksi air dan fraksi n-heksana. Hal yang sama dilakukan pada fraksi air untuk mendapatkan fraksi etil asetat. Setelah itu dilakukan proses pemekatan ketiga fraksi tersebut dengan menggunakan evaporator

4. Analisis Fitokimia

Analisa skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak pekat n-heksana dari kulit buah naga sebagai uji pendahuluan. Analisa skrining meliputi uji golongan senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, triterpenoid, fenolik, dan saponin.

5. Ananlisi Kualitatif (Uji Toksisitas Metode BSLT)

Analisa kualitatif diawali dengan penetasan Telur *Artemia Salinayaitu* dengan cara memasukkan 19 gram garam laut kedalam 500 ml air laut kemudian diaduk hingga larut sempurna. Kemudian telur sebanyak 0,3 gram direndam didalam 500 ml air laut yang telah dibuat. Setelah 48 jam perendaman, telur menetas dan menghasilkan larva yang dapat digunakan untuk pelaksanaan uji.

Langkah kedua yaitu pelaksanaan uji toksisitas. Sampel berupa fraksi air ekstrak kulit buah naga ditimbang sebesar 0,1 gram encerkan dengan 100 ml air laut yang telah dibuat sehingga didapat konsentrasi 1000 ppm. Kemudian diencerkan masing-masing dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400 dan 500 ppm. Dimasukkan larva udang sebanyak 10 ekor larva udang tambahkan sebanyak 5 ml larutan uji pada masing-masing konsentrasi. dilakukan pengamatan selama 24 jam dengan mencatat kematian larva udang. Uji dilakukan masing-masing 2 kali. Hal yang sama dilakukan pada fraksi etil asetat dan n-heksana.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pada penelitian ini berupa hasil uji fitokimia dan uji toksisitas pada fraksi ekstrak kulit buah naga yang dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia

No.	Uji metabolit sekunder	Hasil (+/-)		
		Fraksi Air	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n Heksanaa
1.	Alkaloid	+	-	-
2.	Steroid	-	-	-
3.	Triterpenoid	-	-	+
4.	Fenolik	+	+	-
5.	Flavonoid	-	+	-
6.	Saponin	+	-	-

Keterangan : (+) = Mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) = Tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Tabel 2. Hasil Uji Toksisitas Fraksi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah

Fraksi ekstrak	Nilai LC ₅₀ (ppm)	Kategori Toksik
Air	451,855	Moderat (sedang)
Etil asetat	374,024	Moderat (Sedang)
N- heksana	312,176	Moderat (Sedang)

Pada hasil penelitian yang berjudul Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Fraksi Ekstrak Kulit Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*) yang bertujuan untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder pada fraksi ekstrak air, etil asetat dan N-heksana dengan metode uji fitokimia, dan untuk mengetahui sifat toksisitas pada fraksi ekstrak air, etil asetat dan N-heksana dengan metode uji BSLT.

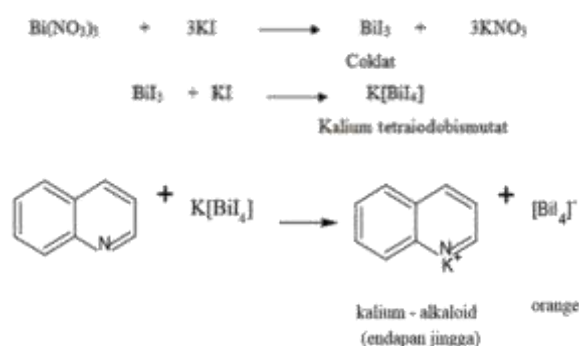
Langkah pertama yang dilakukan adalah pembuatan ekstrak kulit buah naga dengan metode maserasi. Keuntungan dari ekstraksi maserasi ini adalah cara pengerjaannya sederhana dan alat yang digunakan mudah untuk didapat. Sampel kulit buah naga yang terkumpul sebanyak 7,5 kg Kemudian dibuat menjadi serbuk simplisia kulit buah naga. Pada proses ini dilakukan tahap pengeringan untuk menghilangkan kadar air dengan menggunakan sinar matahari. Serbuk kulit buah naga yang diperoleh sebanyak 141 gram.

Pada proses penjemuran sampel dilapisi dengan kain berwarna hitam yang berfungsi sebagai penghalang sinar matahari agar tidak langsung mengenai sampel kulit buah naga sehingga kerusakan senyawa-senyawa aktif karena cahaya dapat diminimalkan. Setelah proses pengeringan dilakukan proses pembuatan serbuk dengan tujuan memperbanyak luas permukaan agar pelarut lebih mudah menembus

dinding sel, sehingga zat aktif pada sampel kulit buah naga akan terlarut pada pelarut secara maksimal. Serbuk kulit buah naga yang diperoleh sebanyak 141 gram. Kulit buah naga dilakukan perendaman dengan menggunakan pelarut etanol. Berdasarkan (Hasanah & Noviana, 2020). Pelarut etanol memiliki sifat non toksik, aman dan mampu menarik senyawa yang ada pada simplisia lebih banyak. Setelah proses perendaman selama 5 hari ekstrak di filtrasi dan dipekatkan dengan menggunakan metode evaporasi untuk menghilangkan etanol. Massa ekstrak kasar yang didapat adalah 13,842 gram dan rendemen ekstrak kulit buah naga merah yang didapatkan adalah 9,8170%.

Pada tahap selanjutnya yaitu proses fraksinasi. Metode yang digunakan pada tahap ini pemisahan dengan corong pisah adalah untuk memisahkan zat atau senyawa tertentu dalam sampel berdasarkan kelarutan dalam pelarut tertentu yang memiliki perbedaan fase. Pelarut yang digunakan pada proses pemisahan ini adalah air, etil asetat dan n-heksana. Dimana masing-masing pelarut memiliki nilai indeks kepolaran yaitu air (10,2), etil asetat (4,4) dan n-heksana (0,1).

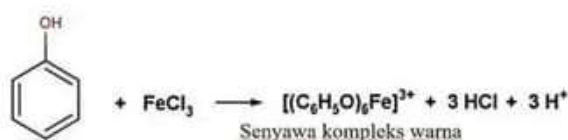
Pada tahap ini didapatkan ekstrak fraksi air sebanyak 61,7511% ekstrak fraksi etil asetat sebanyak 1,9188% dan ekstrak fraksi n-heksana sebanyak 6,7230%. Volume pelarut yang digunakan 1:1, dengan nilai rendemen ekstrak kasar 9,8170% nilai rendemen fraksi air sebesar 61,7511% fraksi etil asetat sebanyak 1,9188% dan fraksi n-heksana sebanyak 6,7230%. Setelah memperoleh ekstrak fraksi air, etil asetat dan n-heksana dilakukan skrining fitokimia dengan tujuan untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam setiap fraksi. Pada fraksi air menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid, fenolik dan saponin. Uji alkaloid pada ekstrak fraksi air menggunakan pelarut pereaksi dragendroff uji ini menghasilkan endapan berwarna jingga yang mengindikasikan adanya senyawa alkaloid dengan mekanisme reaksi pada gambar 1.



Gambar 1. Reaksi Reagen Dragendroff Terhadap Senyawa Alkaloid
Sumber : (Ergina, dkk, 2014)

Endapan ini merupakan hasil reaksi antara senyawa alkaloid bereaksi dengan dragendroff . Pada reaksi ini terjadi pergantian ligan dimana nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas pada alkaloid membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion K⁺ dari kalium tetraiodobismutat menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Haryati, N.A., 2015).

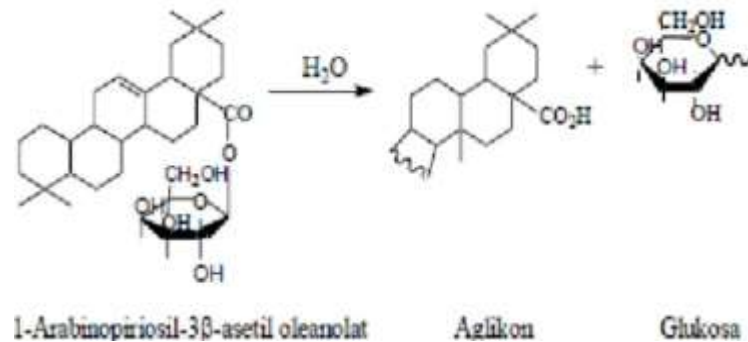
Pada uji fenolik menggunakan larutan FeCl₃ 10% menghasilkan larutan berwarna hijau. Uji fenolik pada ekstrak fraksi air menggunakan larutan FeCl₃ 10% menghasilkan larutan berwarna hijau yang mengindikasikan adanya senyawa fenolik dengan mekanisme reaksi pada gambar 2.



Gambar 1. Reaksi FeCl₃ Terhadap Senyawa Fenolik
Sumber : (Xia, et.al., 2010)

Warna hijau tersebut diakibatkan karena adanya FeCl_3 bereaksi dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol.

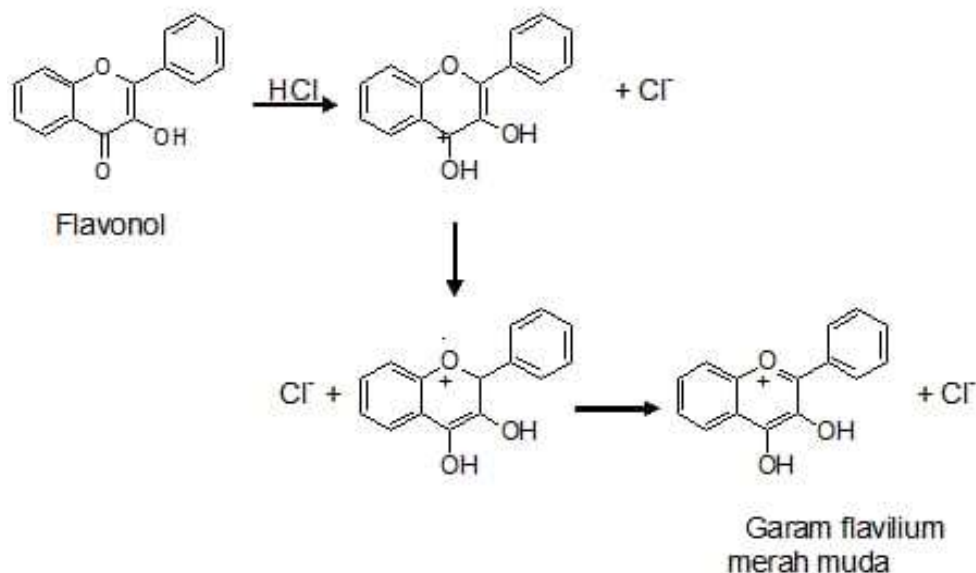
Pada uji saponin dilakukan pengocokkan sehingga menghasilkan busa karena saponin dapat menurunkan tegangan permukaan air, sehingga akan mengakibatkan terbentuknya buih pada permukaan air setelah dikocok. Setelah dikocok ditambahkan HCl pekat untuk melihat kestabilan busa yang mengindikasikan adanya senyawa saponin dengan mekanisme reaksi pada gambar 3.



Gambar 2. Reaksi HCl Terhadap Senyawa Saponin
Sumber : (Marliana, dkk, 2015)

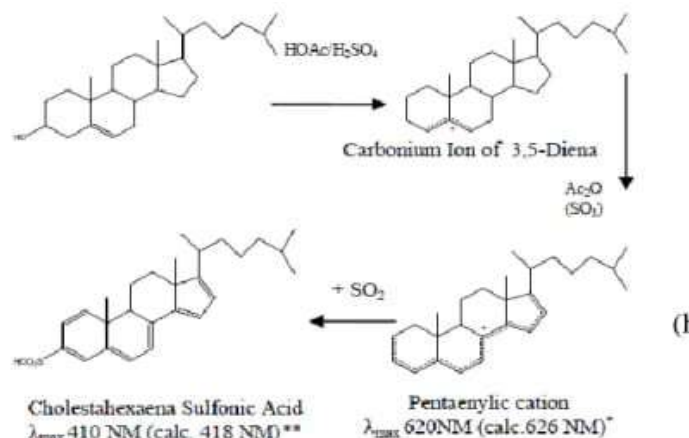
Pada fraksi etil asetat positif pada fenolik dan flavonoid. Uji fenolik menggunakan larutan FeCl_3 10% menghasilkan larutan berwarna hitam. Warna hitam tersebut diakibatkan karena adanya FeCl_3 bereaksi dengan gugus hidroksil yang ada pada senyawa fenol.

Pada uji flavonoid menggunakan 2 mg serbuk Mg dan HCl pekat menghasilkan warna merah kecoklatan, penambahan HCl pekat digunakan menghidrolisis flavonoid menjadi aglikonnya, yaitu dengan menghidrolisis O-glikosil. Warna merah kecoklatan mengindikasikan adanya senyawa flavonoid dengan mekanisme reaksi pada gambar 4.



Gambar 3. Reaksi HCl dan serbuk Mg Terhadap Senyawa flavonoid
Sumber : (Tandi, dkk., 2020)

Pada fraksi n-heksana positif pada uji triterpenoid. Pada uji triterpenoid menunjukkan terbentuknya endapan berwarna merah kecoklatan dengan penambahan larutan asam asetat glasial dan H_2SO_4 , reaksi triterpenoid dengan pereaksi liebermann menghasilkan warna merah kecoklatan yang mengindikasikan adanya senyawa saponin dengan mekanisme reaksi pada gambar 5. berikut:



Gambar 4. Reaksi Triterpenoid dengan Peraksi Liebermann-burchard
Sumber (Novitasari, dkk, 2016)

Hal ini didasari oleh kemampuan senyawa triterpenoid membentuk warna oleh H_2SO_4 dalam pelarut asam asetat glasial.

Selanjutnya uji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan larva *artemia salina leach*. Larva udang dalam percobaan ini adalah karena larva udang merupakan *general bioassay* sehingga semua zat dapat menembus masuk menembus dinding sel larva tersebut. *Bioassay* adalah suatu pengujian tentang toksisitas pada suatu produk dalam rangka pencarian produk alam yang potensial yang biasanya menggunakan makhluk hidup sebagai sampel. Larutan ekstrak fraksi air, etil asetat dan n-heksana dibuat dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm dan 500 ppm. Masing-masing larutan diuji dengan 10 ekor larva selama 24 jam. Setelah 24 jam diamati jumlah larva yang mati pada tiap larutan dan dihitung persen kematian yang didapat, hasil persen kematian udang setiap larutan ditentukan untuk mendapatkan nilai probit, konsentrasi larutan yang digunakan dilogartimkan yang kemudian dihubungkan dengan nilai probit sehingga didapat hubungan antara nilai log konsentrasi dan nilai probit yang menghasilkan persamaan regresi linier $y = ax + b$.

Hasil persamaan regresi linier pada fraksi air dapat dilihat pada gambar d.1 dilampiran dengan hasil persamaan regresi linier $y = 0,6033x + 3,398$ sehingga nilai LC_{50} pada fraksi air adalah 451,855 ppm, maka ekstrak fraksi air dapat mematikan larva udang 50% dengan konsentrasi 451,855 ppm. Nilai LC_{50} yang dihasilkan pada fraksi air ini tergolong toksik moderat (sedang). Hasil persamaan regresi linier pada fraksi etil asetat dapat dilihat pada gambar d.2 dilampiran dengan hasil persamaan regresi linier $y = 1,55x + 1,012$ sehingga nilai LC_{50} pada fraksi etil asetat adalah 374,024 ppm, maka ekstrak fraksi etil asetat dapat mematikan larva udang 50% dengan konsentrasi 374,024 ppm. Nilai LC_{50} ini dapat disebut toksik moderat (sedang). Hasil persamaan regresi linier pada fraksi n-heksana dapat dilihat pada gambar d.3 dilampiran dengan hasil persamaan regresi linier $y = 1,6738x + 0,826$ sehingga nilai LC_{50} pada fraksi n heksana adalah 312,176 ppm. Maka ekstrak fraksi n-heksana dapat mematikan larva udang 50% dengan konsentrasi 312,176 ppm. Nilai LC_{50} ini dapat disebut toksik moderat (sedang).

Maka dari ketiga fraksi tersebut dapat dilihat yang memiliki efek toksisitas tertinggi adalah ekstrak fraksi n-heksana yang didalamnya terkandung golongan senyawa metabolit sekunder alkaloid dan triterpenoid.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa golongan senyawa metabolit sekunder pada fraksi ekstrak air kulit buah naga merah yaitu alkaloid, fenolik dan saponin. Pada fraksi ekstrak etil asetat kulit buah naga yaitu fenolik dan flavonoid. Pada fraksi ekstrak n-heksana kulit buah naga yaitu triterpenoid. Nilai LC_{50} pada masing-masing fraksi, pada fraksi ekstrak air adalah 451,855 ppm, fraksi ekstrak etil asetat adalah 374,024 ppm, dan fraksi ekstrak n-heksana adalah 312,176 ppm. Dari ketiga fraksi tersebut yang memiliki efek toksisitas tertinggi adalah n-heksana sebesar 312,176 ppm dengan golongan senyawa metabolit sekunder triterpenoid.

Saran untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan kualitas penelitian agar mengetahui bioaktivitas lainnya yang terkandung dalam kulit buah naga. Serta perlu dilakukannya isolasi senyawa agar diketahui senyawa yang terkandung pada fraksi n-heksana.

DAFTAR PUSTAKA

- Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, P. I. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165–172.
- Haryati, N.A., Chairul S., Erwin. (2015). Uji Toksisitas dan Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Merah Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp). terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Jurnal Kimia Mulawarman*.13 (1): p.35-40
- Hasanah, N., & Novian, D. R. (2020). Analisis Ekstrak Etanol Buah Labu Kuning (*Cucurbita Moschata* D.). *J Para Pemikir*, 9(1), 54-9.
- Karimah. N. H. (2018). *Teknik Kultur Pakan Alami (Thalassiosira Sp)*. Tugas Akhir Di Pt. Esaputlii Prakarsa Utama Kabupaten Barru Sulawesi Selatan.
- Marliana, S. D., Suryanti, V., & SUYONO, S. (2005). The phytochemical screenings and thin layer chromatography analysis of chemical compounds in ethanol extract of labu siam fruit (*Sechium edule* Jacq. Swartz.). *Asian Journal of Natural Product Biochemistry*, 3(1), 26-31.
- Novitasari, A. (2016). Isolasi dan identifikasi saponin pada ekstrak daun mahkota dewa dengan ekstraksi maserasi. *Jurnal sains*, 6(12).
- Tandi, J., Melinda, B., Purwantari, A., & Widodo, A. (2020). Analisis kualitatif dan kuantitatif metabolit sekunder ekstrak etanol buah okra (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) dengan metode spektrofotometri UV-Vis. *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(1), 74-80.
- Xia, E. Q., Deng, G. F., Guo, Y. J. & Li, H. B. (2010). Biological Activities of Polyphenols from Grapes. *Int. J. Mol. Sci.* 11: 622-646.