



## Effect of the Extraction Methods on Identification Of Caffeine in the Extract From Dragon Fruit Peel

Reza Pratama Saputra<sup>1</sup>, Nurlita Julianti<sup>1</sup>, Azhari Firmansyah<sup>1</sup>, Rhamal Amir<sup>1</sup>, Aden Dhana Rizkita<sup>1</sup>, Sintia Ayu Dewi<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup> Program Studi Sarjana farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Bogor Husada

<sup>2</sup> Graduate Institute of Pharmacognosy, College of Pharmacy, Taipei Medical University

\*2 Correspondence author : [sintiaayudewi@gmail.com](mailto:sintiaayudewi@gmail.com)

### Info Artikel

Diterima : 12-10-2023

Disetujui : 28-10-2023

Dipublikasikan : 30-11-2023

### Keywords:

*Buah naga, kafein, hplc, klt, ekstraksi*

### Abstrak

Buah naga (*Hylocereus* sp.) merupakan sejenis buah yang berlimpah di Indonesia. Kulit buah naga telah menarik perhatian dalam industri makanan dan minuman berkat kandungan nutrisi yang melimpah serta potensi manfaatnya terhadap kesehatan. Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi metode ekstraksi yang optimal guna mengisolasi senyawa kafein dari kulit buah naga. Berbagai metode, termasuk maserasi, perkolasi, refluks, dan fraksinasi, digunakan dalam eksperimen ini. Analisis senyawa dilakukan menggunakan teknik kromatografi Plat KLT Silika Gel GF 254 serta HPLC dengan parameter laju alir 2 ml/menit, tekanan pompa 75 kgf/cm<sup>2</sup>, temperatur oven 45°C, temperatur maksimum 85°C, panjang gelombang 275 nm, dan mode aliran eluen isokratik. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode maserasi, perkolasi, dan refluks efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa dari kulit buah naga, termasuk kafein yang memiliki waktu retensi sekitar 0,7 menit. Kemudian didapatkan kadar kafein pada masing-masing ekstrak metode maserasi, perkolasi dan refluks dengan memasukkan luas area pada rumus  $y = bx + a$  menjadi  $x$  (kadar kafein yang dicari) =  $(y - a) / b$ . Kadar kafein pada metode maserasi adalah 85.16 ppm, kadar kafein dari metode perkolasi adalah 65.37 ppm dan kadar kafein pada sampel metode refluks adalah sebesar 82.86 ppm

### Abstract

Dragon fruit (*Hylocereus* sp.) is a fruit abundant in Indonesia. The skin of dragon fruit has attracted attention in the food and beverage industry due to its rich nutritional content and potential health benefits. The aim of this research is to identify the optimal extraction method for isolating caffeine compounds from dragon fruit skin. Various methods, including maceration, percolation, reflux, and fractionation, were employed in this experiment. Compound analysis was carried out using Thin-Layer Chromatography on Silica Gel GF 254 plates and High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) with the following parameters: flow rate of 2 ml/minute, pump pressure of 75 kgf/cm<sup>2</sup>, oven temperature of 45°C, maximum temperature of 85°C, wavelength of 275 nm, and an isocratic elution mode. The results of the study demonstrated that the methods of maceration, percolation, and reflux were effective in extracting various compounds from dragon fruit skin, including caffeine with a retention time of approximately 0.7 minutes. Then, the caffeine content in each of the maceration, percolation, and reflux extraction methods was determined by inserting the area under the curve into the equation  $y = bx + a$  to obtain the value of  $x$  (the desired caffeine content), calculated as  $x$  (caffeine content) =  $(y - a) / b$ . The caffeine content in the maceration method was 85.16 ppm, the caffeine content from the percolation method was 65.37 ppm, and the caffeine content in the reflux method sample was 82.86 ppm.

## Pendahuluan

Buah naga adalah buah yang ketersediaannya melimpah di Indonesia. Akan tetapi, buah naga bukanlah buah asli Asia Tenggara. Di Asia Tenggara, budidaya buah naga ada Indonesia, Vietnam, Malaysia, dan Filipina (Primus, 2022). Buah naga punya runutan sejarah dari kawasan Amerika tengah dan Amerika Latin. Kulit buah naga *Hylocereus sp.* telah menjadi bahan alami yang semakin populer dalam industri makanan dan minuman karena memiliki kandungan nutrisi yang kaya dan bermanfaat untuk dapat meningkatkan kesehatan jantung, menjaga kulit yang sehat, mendukung penurunan berat badan, meningkatkan sistem kekebalan tubuh kita, dan membuat tubuh menjadi segar, termasuk senyawa bioaktif seperti alkaloid. Penelitian tentang perbedaan karakteristik ekstrak kulit buah naga merah yang diperoleh dari metode ekstraksi maserasi dan digesti ditemukan bahwa kulit buah naga merah mengandung alkaloid, terpenoid, flavonoid, dan senyawa lainnya (Saepudin, 2020). Studi lain mengidentifikasi senyawa kimia dalam ekstrak metanol buah naga merah menggunakan kromatografi gas dan ditemukan kandungan alkaloid, flavonoid, steroid, fenolat, dan terpenoid (Laurencia, 2018). Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa buah naga merah *Hylocereus polyrhizus* memang mengandung alkaloid, beserta senyawa lainnya.

Kafein merupakan senyawa turunan dari sejenis alkaloid yang terdapat pada kopi dan teh. Kafein memiliki efek farmakologis yang bermanfaat secara klinis, seperti stimulasi sistem saraf pusat, yang menghilangkan kelelahan, kelaparan dan kantuk, juga meningkatkan konsentrasi dan memperkuat kontraksi jantung. Karena efek farmakologis ini, kafein sering ditambahkan ke minuman energi kemasan. Namun, konsumsi kafein yang berlebihan dapat menyebabkan jantung berdebar-debar, sakit kepala, gelisah dan gelisah, tangan gemetar, gelisah, kehilangan ingatan dan gangguan tidur, serta gangguan perut dan pencernaan karena keasaman senyawa tersebut (Abriyani, 2022).

Berdasarkan pernyataan tersebut buah naga dan kafein memiliki beberapa persamaan yang memungkinkan terdapat senyawa kafein di dalam buah naga. Penggunaan kulit buah naga sebagai bahan baku untuk ekstraksi kafein menarik minat peneliti dan industri karena kulit buah ini sering kali dianggap sebagai limbah yang dapat dimanfaatkan. Ekstraksi kafein dari kulit buah naga tidak hanya memberikan manfaat ekonomi, tetapi juga potensi manfaat kesehatan, mengingat sifat stimulan kafein yang telah terbukti dapat meningkatkan kewaspadaan dan mengurangi kelelahan.

Pengaruh metode ekstraksi pada penetapan kadar kafein dari ekstrak kulit buah naga dapat sangat signifikan. Metode ekstraksi yang digunakan dapat mempengaruhi rendemen ekstraksi, selektivitas ekstraksi, serta kemurnian dan keberlanjutan kafein yang diekstraksi.

Metode ekstraksi padat-cair solid-liquid extraction telah banyak digunakan dalam penelitian untuk mengekstraksi kafein dari berbagai sumber alami, termasuk kulit buah naga. Metode ini melibatkan penggunaan pelarut organik atau air untuk melarutkan kafein dari matriks padat kulit buah naga. Namun, faktor-faktor seperti jenis pelarut, rasio pelarut-sampel, suhu ekstraksi, dan waktu ekstraksi dapat mempengaruhi hasil ekstraksi kafein.

Pada penelitian ini, kami akan mempelajari pengaruh metode ekstraksi pada penetapan kadar kafein dari ekstrak kulit buah naga. Dengan membandingkan efisiensi dan hasil ekstraksi kafein menggunakan metode ekstraksi yang berbeda, diharapkan kami dapat memperoleh pemahaman yang lebih baik tentang metode ekstraksi yang optimal untuk penentuan kadar kafein dari ekstrak kulit buah naga. Informasi ini akan bermanfaat dalam pengembangan produk-produk berbasis kulit buah naga yang mengandung kafein, serta meningkatkan kualitas lingkungan, sehingga tidak dapat berfungsi sebagaimana mestinya (Fakhrudin, *et al.*; 2008).

## Metode

### Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah Timbangan Analitik (Osuka), Oven (KIA), Pisau, Refluks, Perkolator, Toples Kaca, Gelas Ukur (PM dan Pyrex), Beaker glass (Approx), Waterbath (B-One), Corong Pisah (Pyrex), Corong Glass (Pyrex), Statif, Spatel Logam, Batang Pengaduk, HPLC (Shimadzu), Plat KLT Silika Gel GF 254, Pipa Kapiler, Blender Simplisia (Cosmos), Sinar UV (RRC) dan Magnetic stirrer (SSM 79-1).

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah Simplisia Kulit Buah Naga, Metanol, Aquadest, N-Heksana, N-Butanol, Asam Format, FeCl<sub>3</sub> 5%, Etil Asetat, Toluena dan Asam Asetat Glisial.

## **Prosedur Kerja**

### **Preparasi sampel**

Siapkan buah naga segar, dilakukan sortasi basah pada buah naga dengan memisahkan kulit dari daging buah, Cuci kulit buah naga menggunakan air mengalir, Rajang/Potong kulit buah naga menjadi bagian-bagian kecil menggunakan pisau, Timbang kulit buah naga yang sudah dirajang, Masukkan sebagian kulit buah naga ke dalam oven untuk dikeringkan, Sebagian kulit buah naga yang lain dibagi dua untuk langsung di ekstraksi dengan metode maserasi dan refluks.

### **Ekstraksi**

Hasil preparasi tersebut dilanjutkan unntuk tahapan ekstraksi menggunakan variasi metode maserasi, perkolasi dan refluks, adapun rinciannya dapat dilihat pada prosedur kerja dibawah ini

### **Maserasi**

Kulit buah naga yang sudah kering dihaluskan menjadi serbuk menggunakan blender, Masukkan serbuk kulit buah naga ke dalam toples kaca kapasitas 6 liter, Tambahkan metanol sebanyak 5850 ml ke dalam toples kaca hingga simplisia terendam, Tutup toples kaca dengan penutup, Tunggu dan Rendam selama 4-5 hari, Hasil ekstraksi kulit buah naga diambil dan diuapkan hingga kental dengan waterbath.

### **Perkolasi**

Siapkan alat dan bahan, Masukkan kulit buah naga segar yang sudah dirajang sebanyak 870 gram ke dalam alat perkolator, Tambahkan pelarut metanol dengan perbandingan 1:5, Tunggu selama 4 hari, Hasil ekstraksi kemudian diuapkan hingga menjadi ekstrak kental menggunakan waterbath.

### **Refluks**

Siapkan alat dan bahan, Haluskan kulit buah naga segar sebanyak 870 gram menggunakan blender, Bungkus sedikit demi sedikit sampel menggunakan kertas saring, Masukkan ke dalam alat refluks, Tambahkan pelarut metanol ke dalam tabung refluks yang terdapat sampel, Nyalakan alat refluks, Tunggu ekstraksi selesai yang ditandai dengan pelarut sudah tidak berwarna lagi, Ulangi langkah-langkah diatas sampai sampel kulit buah naga habis dan Hasil ekstraksi kemudian diuapkan dengan waterbath hingga menjadi ekstrak kental.

### **Fraksinasi**

Fraksinasi N-Heksana Ektrak Kulit Buah Naga (Maserasi). Siapkan alat dan bahan, Masukkan ekstrak metanol kulit buah naga (metode maserasi) ke dalam corong pisah sebanyak 500 ml, Tambahkan pelarut N-Heksana sebanyak 1500 ml, Lakukan pengocokan pada corong pisah untuk membuat larutan tercampur, Diamkan corong pisah hingga membentuk 2 fase. Keluarkan fase polar yang ada di bagian bawah, Kemudian keluarkan fase non polar ( N-Heksana ) dari corong pisah dan tampung dalam wadah, kemudian beri label identitas dan Larutan ekstrak fase polar diuapkan kembali dengan waterbath hingga menjadi ekstrak kental.

Fraksinasi Etil Asetat Ektrak Kulit Buah Naga (Maserasi). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental kulit buah naga dari sisa fraksinasi n-heksana sebelumnya, Masukkan ke dalam beaker glass, Tambahkan aquadest sebanyak 500 ml, aduk sampai larut menggunakan batang pengaduk, Masukkan larutan ke dalam corong pisah, Tambahkan pelarut etil asetat sebanyak 1500 ml ke dalam corong pisah, Tutup corong pisah, lakukan pengocokan hingga dua fase tercampur, sambil dikeluarkan gas pada corong pisah, Diamkan corong pisah hingga terjadi pemisahan menjadi 2 fase (fase polar dan non polar), Keluarkan fase polar yang ada dibagian bawah, tampung dengan wadah dan Keluarkan fase non polar (Etil Asetat) dari corong pisah, tampung dengan wadah, kemudian beri label identitas.

Fraksinasi N-Heksana Ektrak Kulit Buah Naga (Perkolasi). Siapkan alat dan bahan, Masukkan ekstrak metanol kulit buah naga (metode perkolasi) ke dalam corong pisah sebanyak 500 ml, Tambahkan pelarut N-Heksana sebanyak 1500 ml, Tutup corong pisah, Lakukan pengocokan pada corong pisah untuk membuat larutan tercampur, sambil dikeluarkan gas pada corong pisah, Diamkan corong pisah hingga membentuk 2 fase, Keluarkan fase polar (Metanol) yang ada di bagian bawah, Kemudian keluarkan fase non polar ( N-Heksana ) dari corong pisah dan tampung dalam wadah, kemudian beri label identitas dan Larutan ekstrak fase polar diuapkan kembali dengan waterbath hingga menjadi ekstrak kental.

Fraksinasi Etil Asetat Ektrak Kulit Buah Naga (Perkolasi). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental kulit buah naga dari sisa fraksinasi n-heksana (fase polar), Masukkan ke dalam beaker glass, Tambahkan Aquadest sebanyak 500 ml, aduk sampai larut menggunakan batang pengaduk, Masukkan larutan ke dalam corong pisah, Tambahkan pelarut etil asetat sebanyak 1500 ml ke dalam corong pisah,

Tutup corong pisah, lakukan pengocokan hingga dua fase tercampur, sambil dikeluarkan gas pada corong pisah, Diamkan corong pisah hingga terjadi pemisahan menjadi 2 fase (fase polar dan non polar), Keluarkan fase polar (Aquadest) yang ada dibagian bawah, tampung dengan wadah dan Keluarkan fase non polar (Etil Asetat) dari corong pisah, tampung dengan wadah, kemudian beri label identitas.

Fraksinasi N-Heksana Ekstrak Kulit Buah Naga (Refluks). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental kulit buah naga dari hasil ekstraksi metode refluks, Masukkan ke dalam beaker glass, Tambahkan Metanol sebanyak 500 ml, aduk sampai larut menggunakan batang pengaduk, Masukkan larutan ke dalam corong pisah, Tambahkan pelarut N-Heksana sebanyak 900 ml ke dalam corong pisah, Tutup corong pisah, lakukan pengocokan hingga dua fase tercampur, sambil dikeluarkan gas pada corong pisah, Diamkan corong pisah hingga terjadi pemisahan menjadi 2 fase (fase polar dan non polar), Keluarkan fase polar (Metanol) yang ada dibagian bawah, tampung dengan wadah, Keluarkan fase non polar (N-Heksana) dari corong pisah, tampung dengan wadah, kemudian beri label identitas.

Fraksinasi Etil Asetat Ekstrak Kulit Buah Naga (Refluks). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental kulit buah naga dari sisa fraksinasi n-heksana sebelumnya, Masukkan ke dalam beaker glass, Tambahkan aquadest sebanyak 500 ml, aduk sampai larut menggunakan batang pengaduk, Masukkan larutan ke dalam corong pisah, Tambahkan pelarut etil asetat sebanyak 1500 ml ke dalam corong pisah, Tutup corong pisah, lakukan pengocokan hingga dua fase tercampur, sambil dikeluarkan gas pada corong pisah, Diamkan corong pisah hingga terjadi pemisahan menjadi 2 fase (fase polar dan non polar), Keluarkan fase polar (Aquadest) yang ada dibagian bawah, tampung dengan wadah dan Keluarkan fase non polar (Etil Asetat) dari corong pisah, tampung dengan wadah, kemudian beri label identitas.

### **Identifikasi senyawa menggunakan KLT KLT**

KLT Fraksi N-Heksana Ekstrak Kulit Buah Naga (Maserasi). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental fraksi n-heksana kulit buah naga, Masukkan ke dalam beaker glass 50 ml, Larutkan dengan n-heksana, aduk sampai larut dengan batang pengaduk, Buat fase gerak/eluen dengan komposisi N-Butanol, N-Heksana dan Asam Format dengan perbandingan 2:2:1, Masukkan fase gerak ke dalam chamber, Buat larutan semprot  $\text{FeCl}_3$  5% untuk mendeteksi bercak pada plat KLT nanti, Siapkan plat KLT dari silika gel dengan ukuran P:10 cm x L:3 cm, Sampel ditotol dengan pipa kapiler pada plat KLT sampai pekat, Masukkan plat KLT ke dalam chamber hingga eluen mencapai garis batas atas, Kemudian deteksi bercak dengan sinar UV, catat hasil, Untuk melihat bercak lebih jelas/tanpa menggunakan sinar UV dapat dilakukan penyemprotan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  5%.

KLT Fraksi Etil Asetat Ekstrak Kulit Buah Naga (Maserasi). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental fraksi etil asetat kulit buah naga, Masukkan ke dalam beaker glass 50 ml, Larutkan dengan etil asetat, aduk sampai larut dengan batang pengaduk, Buat fase gerak/eluen dengan komposisi pelarut Toluena, Etil Asetat dan Asam Format dengan perbandingan 2:2:1, Masukkan fase gerak ke dalam chamber, Buat larutan semprot  $\text{FeCl}_3$  5% untuk mendeteksi bercak pada plat KLT nanti, Siapkan plat KLT dari silika gel dengan ukuran P:10 cm x L:3 cm, Sampel ditotol dengan pipa kapiler pada plat KLT sampai pekat, Masukkan plat KLT ke dalam chamber hingga eluen mencapai garis batas atas, Kemudian deteksi bercak dengan sinar UV, catat hasil dan Untuk melihat bercak lebih jelas/tanpa menggunakan sinar UV dapat dilakukan penyemprotan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  5%.

KLT Fraksi N-Heksana Ekstrak Kulit Buah Naga (Perkolasi). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental fraksi n-heksana kulit buah naga, Masukkan ke dalam beaker glass 50 ml, Larutkan dengan n-heksana, aduk sampai larut dengan batang pengaduk, Buat fase gerak/eluen dengan komposisi N-Butanol, N-Heksana dan Asam Format dengan perbandingan 2:2:1, Masukkan fase gerak ke dalam chamber, Buat larutan semprot  $\text{FeCl}_3$  5% untuk mendeteksi bercak pada plat KLT nanti, Siapkan plat KLT dari silika gel dengan ukuran P:10 cm x L:3 cm, Sampel ditotol dengan pipa kapiler pada plat KLT sampai pekat, Masukkan plat KLT ke dalam chamber hingga eluen mencapai garis batas atas, Kemudian deteksi bercak dengan sinar UV, catat hasil dan Untuk melihat bercak lebih jelas/tanpa menggunakan sinar UV dapat dilakukan penyemprotan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  5%.

KLT Fraksi Etil Asetat Ekstrak Kulit Buah Naga (Perkolasi). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental fraksi etil asetat kulit buah naga, Masukkan ke dalam beaker glass 50 ml, Larutkan dengan etil asetat, aduk sampai larut dengan batang pengaduk, Buat fase gerak/eluen dengan komposisi pelarut Toluena, Etil Asetat dan Asam Format dengan perbandingan 2:2:1, Masukkan fase gerak ke dalam chamber, Buat larutan semprot  $\text{FeCl}_3$  5% untuk mendeteksi bercak pada plat KLT nanti, Siapkan plat KLT dari silika gel dengan ukuran P:10 cm x L:3 cm, Sampel ditotol dengan pipa kapiler pada plat KLT sampai pekat, Masukkan plat KLT ke dalam chamber hingga eluen mencapai garis batas atas, Kemudian deteksi bercak dengan sinar UV,

catat hasil dan Untuk melihat bercak lebih jelas/tanpa menggunakan sinar UV dapat dilakukan penyemprotan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  5%.

KLT Fraksi N-Heksana Ekstrak Kulit Buah Naga (Refluks). Siapkan alat dan bahan, Ambil ekstrak kental fraksi n-heksana kulit buah naga metode refluks, Masukkan ke dalam beaker glass 50 ml, Larutkan dengan n-heksana, aduk sampai larut dengan batang pengaduk, Buat fase gerak/eluen dengan komposisi pelarut N-Butanol, N-Heksana dan Asam Format dengan perbandingan 2:2:1, Masukkan fase gerak ke dalam chamber, Buat larutan semprot  $\text{FeCl}_3$  5% untuk mendeteksi bercak pada plat KLT nanti, Siapkan plat KLT dari silika gel dengan ukuran P:10 cm x L:3 cm, Sampel ditotol dengan pipa kapiler pada plat KLT sampai pekat, Masukkan plat KLT ke dalam chamber hingga eluen mencapai garis batas atas, Kemudian deteksi bercak dengan sinar UV, catat hasil, Untuk melihat bercak lebih jelas/tanpa menggunakan sinar UV dapat dilakukan penyemprotan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  5%.

### **Analisa Senyawa Menggunakan HPLC**

#### **Pembuatan Larutan Standar**

Larutkan kafein murni sebanyak 6 mg dalam 100 ml pelarut Metanol dan Asam Asetat Glasial (perbandingan 95:5) untuk membuat konsentrasi 60 ppm, larutkan 7 mg dalam 100 ml untuk konsentrasi 70 ppm, larutkan 8 mg dalam 100 ml pelarut untuk membuat konsentrasi 80 ppm dan larutkan 9 mg kafein murni dalam pelarut untuk membuat konsentrasi 90 ppm.

#### **Pembuatan Larutan Sampel**

Buat sampel dari fraksi etil asetat kental dari 3 metode ekstraksi (maserasi, perkolasi dan refluks) dengan konsentrasi 80 ppm, diambil masing-masing ekstrak kental sebanyak 8 mg lalu dilarutkan menggunakan pelarut metanol dan asam asetat glasial (95:5) sebanyak 100 ml.

#### **Optimasi Instrumen HPLC**

Nyalakan instrumen HPLC, Pasang selang untuk fase gerak pada wadah pelarut metanol dan asam asetat glasial, Setting HPLC dari komputer dengan laju alir 2 ml/menit, tekanan pompa 75 kgf/cm<sup>2</sup>, temperatur oven 45o C, temperatur maksimal 85o C, panjang gelombang 275 nm dan mode alir eluen isokratik, Start proses HPLC, optimasi dilakukan hingga mendapatkan base line yang baik.

#### **Analisis Standar kafein dan Sampel Fraksi Kulit Buah Naga**

Masukkan masing-masing standar dan sampel kafein ke dalam wadah tabung kecil melalui syringe filter 0,45 mikro menggunakan suntikan, Tutup tabung menggunakan penutup, Nyalakan instrumen HPLC (High Performance Liquid Chromatography), Masukkan standar dan sampel ke dalam tempat inject sampel, Start proses HPLC, tunggu selama beberapa menit, Interpretasikan hasil kromatogram dari standar kafein. Seta interpretasikan hasil kromatogram sampel dibandingkan dengan kromatogram standar kafein (lihat waktu retensi nya).

### **Hasil dan Pembahasan**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas kafein dan kandungan alkaloid total ekstrak metanol kulit buah naga merah (*hylocereus polyrhizus*), untuk melakukan analisis kandungan kafein digunakan metode *High Performance Liquid Chromatography* atau HPLC. Penelitian ini akan mencakup pengembangan metode analisis yang efisien dan valid untuk mengukur kandungan kafein dalam berbagai jenis metode ekstraksi.

#### **Ekstraksi Sampel kulit buah naga**

Ekstraksi dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan kandungan metabolit sekunder dari campurannya dengan menggunakan pelarut yang sesuai. Pemilihan metode ekstraksi didasarkan pada sifat bahan dan senyawa yang akan dipisahkan. Penelitian ini menggunakan beberapa metode ekstraksi yakni maserasi, refluks dan perkolasi.

Sebelum dilakukan ekstraksi, dilakukan sortasi basah terlebih dahulu pada sampel dengan cara memisahkan kulit dari daging buah, kemudian cuci kulit buah naga menggunakan air mengalir, setelah itu rajang/potong kulit buah naga menjadi bagian-bagian kecil menggunakan pisau dan timbang kulit buah naga yang sudah dirajang. Setelah ditimbang, masukkan sebagian kulit buah naga ke dalam oven untuk dikeringkan, sebagian kulit buah naga yang lain dibagi dua untuk langsung di ekstraksi dengan metode maserasi dan refluks. Didapatkan bobot sampel pada Tabel 1.

**Tabel 1.** Data Sampel Kulit Buah Naga

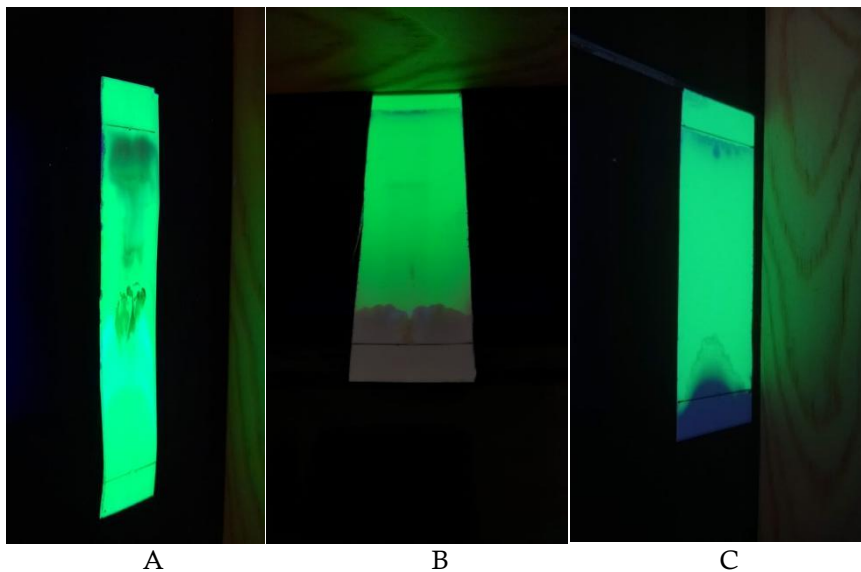
No	Deskripsi	Jumlah
1.	Bobot kulit	7940 g
2.	Ekstrak kental	
	a. Maserasi	77,05 g
	b. Refluks	10 g
	c. Perkolasi	10 g

Berdasarkan Tabel 1, Didapatkan bobot sampel kulit buah naga yaitu 7,94 g. Sampel yang di ekstraksi adalah kulit buah naga dalam bentuk serbuk maupun dalam bentuk rajangan. Kulit buah naga dalam bentuk serbuk digunakan untuk metode maserasi, Proses maserasi adalah suatu sediaan cair yang dibuat dengan cara merendam bahan nabati menggunakan pelarut bukan air atau pelarut setengah air seperti etanol encer selama waktu tertentu. Pada ekstraksi dengan metode maserasi didapatkan bobot ekstrak kental yaitu 77,05 g. Untuk kulit buah naga dalam bentuk rajangan digunakan untuk metode refluks dan perkolasi, metode refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dengan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dan adanya pendingin balik dan metode perkolasi adalah penyarian dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Pada ekstraksi dengan metode refluks dan metode perkolasi didapatkan bobot ekstrak kental yang sama yaitu 10g.

Setelah didapatkan ekstrak kental dari ketiga metode ekstraksi tersebut, sampel di lakukan fraksinasi dengan pelarut yang sesuai. Fraksinasi merupakan teknik pemisahan dan pengelompokan kandungan kimia yang terdapat dalam ekstrak dengan mempertimbangkan kepolarannya. Dalam proses fraksinasi, digunakanlah dua jenis pelarut yang memiliki tingkat kepolaran yang berbeda dan tidak dapat bercampur.

#### Analisis KLT ekstrak kulit buah naga

Setelah mendapatkan hasil dari fraksinasi tersebut, kemudian masing-masing larutan dilakukan proses KLT. Pada proses KLT, dilakukan dengan cara menyiapkan alat dan bahan, lalu mengambil ekstrak kental fraksi dari masing-masing metode, masukkan ke dalam beaker glass 50 ml, larutkan dengan pelarut, aduk sampai larut dengan batang pengaduk, buat fase gerak/eluen dengan komposisi yang sesuai dengan asing-masing pelarut, masukkan fase gerak ke dalam chamber, buat larutan semprot  $\text{FeCl}_3$  5% untuk mendeteksi bercak pada plat KLT nanti, siapkan plat KLT dari silika gel dengan ukuran p:10 cm x l:3 cm, kemudian sampel ditotol dengan pipa kapiler pada plat KLT sampai pekat, masukan plat KLT ke dalam chamber hingga eluen mencapai garis batas atas, kemudian deteksi bercak dengan sinar UV, catat hasil, untuk melihat bercak lebih jelas/tanpa menggunakan sinar UV dapat dilakukan penyemprotan dengan larutan  $\text{FeCl}_3$  5% Hasil pemisahan senyawa menggunakan KLT dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** Hasil Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Dengan Eluen (A) C:M:W 6:4:1, (B) N-BU:N-HE:AF 2:2:1, (C) T:EA:AF 2:2:1

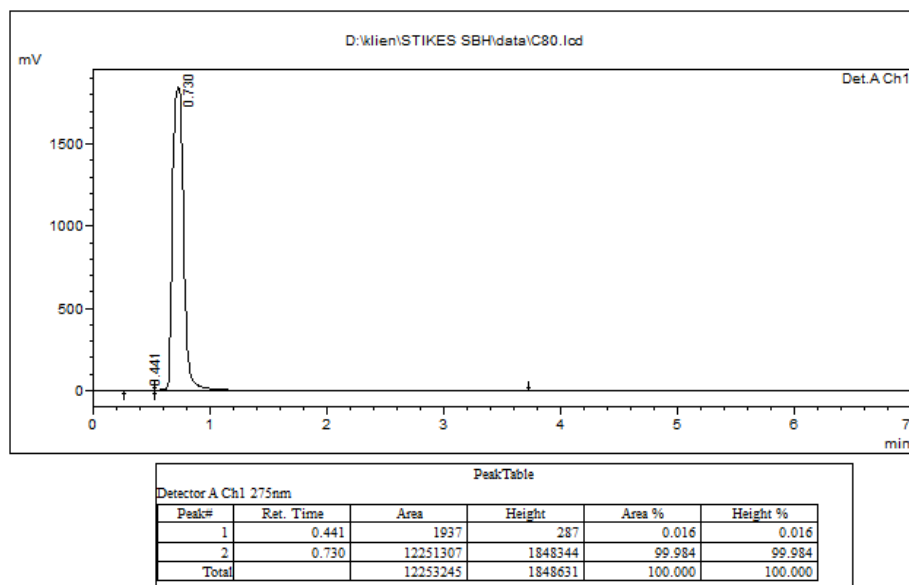
Berdasarkan Gambar 1, analisis KLT dilakukan untuk mengetahui jumlah fraksi komponen senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak kulit buah naga. Analisis KLT dilakukan menggunakan beberapa kombinasi eluen yang dimaksudkan untuk melihat adanya senyawa yang mengandung flavonoid pada sampel. Pengamatan dilakukan dengan sinar UV menggunakan panjang gelombang 254 nm. Pengamatan UV dengan menggunakan Panjang gelombang 254 nm akan menghasilkan noda yang berpendar, dengan latar belakang terang, sehingga menghasilkan bercak noda yang dapat berpendar dapat dilihat secara visual. Hal tersebut disebabkan oleh adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor yang terikat oleh aoksokrom pada bercak oda.

Bercak-bercak noda yang dihasilkan dengan menggunakan beberapa kombinasi eluen kurang optimal dilihat pada sinar UV gelombang 254 nm. Hal tersebut kemungkinan terjadi karena adanya pengaruh penggunaan sampel yang terlalu banyak, seperti sampel terlalu pekat. Efek tersebut disebut “mengekor”, Efek dari pemberian sampel tanpa pengeringan, pelarut pada selang antara pemberian masing-masing spot, sehingga muncul cincin sampel.

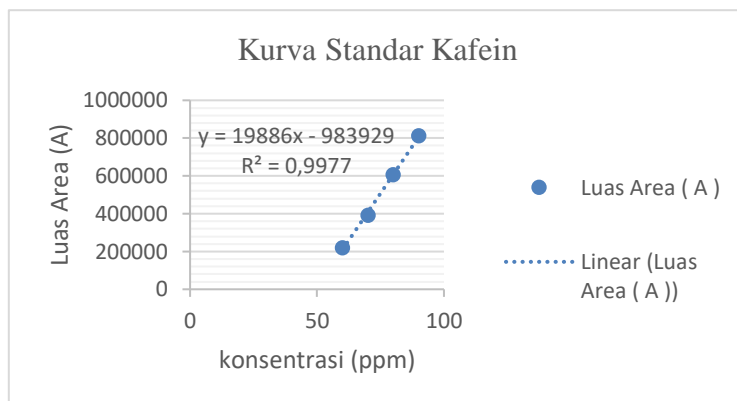
### Analisis Kandungan Kafein Kulit Buah Naga Menggunakan HPLC

Setelah melakukan semua proses, yang terakhir dilakukan pada penelitian ini adalah melakukan analisis kandungan kafein pada ketiga fraksi dari 3 metode ekstrak yang berbeda menggunakan metode Kromatografi cair kinerja Tinggi (HPLC) yang merupakan sistem pemisahan dengan kecepatan dan efisiensi yang tinggi. Ini didukung oleh sistem pompa tekanan super tinggi, kemajuan dalam teknologi kolom, dan detektor yang sangat sensitif dan beraneka ragam. HPLC mampu menganalisis berbagai sampel secara kualitatif maupun kuantitatif, baik dalam komponen tunggal maupun campuran.

Pada proses HPLC yang dilakukan adalah menyiapkan alat dan bahan, kemudian membuat pelarut atau eluen dengan komposisi metanol dan asam asetat glasial dengan perbandingan 95:5, larutkan dengan magnetic stirer. Siapkan standar kafein dengan konsentrasi 80 ppm menggunakan pelarut metanol dan asam asetat glasial (95:5). Masukkan ke dalam wadah tabung kecil melalui syringe filter 0,45 mikro menggunakan suntikan. Tutup tabung menggunakan penutup. Nyalakan instrumen HPLC (High Performance Liquid Chromatography). Masukkan standar ke dalam tempat inject sampel. Pasang selang untuk fase gerak pada wadah pelarut metanol dan asam asetat glasial. Setting HPLC dari komputer dengan laju alir 2 ml/menit, tekanan pompa 75 kgf/cm<sup>2</sup>, temperatur oven 45° C, temperatur maksimal 85° C, panjang gelombang 275 nm dan mode alir eluen isokratik. Mulai proses HPLC dan Interpretasikan hasil kromatogram kafein didapatkan kromatogram dari standar kafein 80 ppm yaitu muncul pada waktu retensi 0,730 menit dapat dilihat pada Gambar 2. dan kurva kalibrasi standar kafein sebesar 0,9977 yang menandakan bahwa standar tersebut sudah valid untuk menjadi acuan untuk melihat kadar kafein pada sampel dan kurva regresi linear dapat dilihat pada Gambar 3.



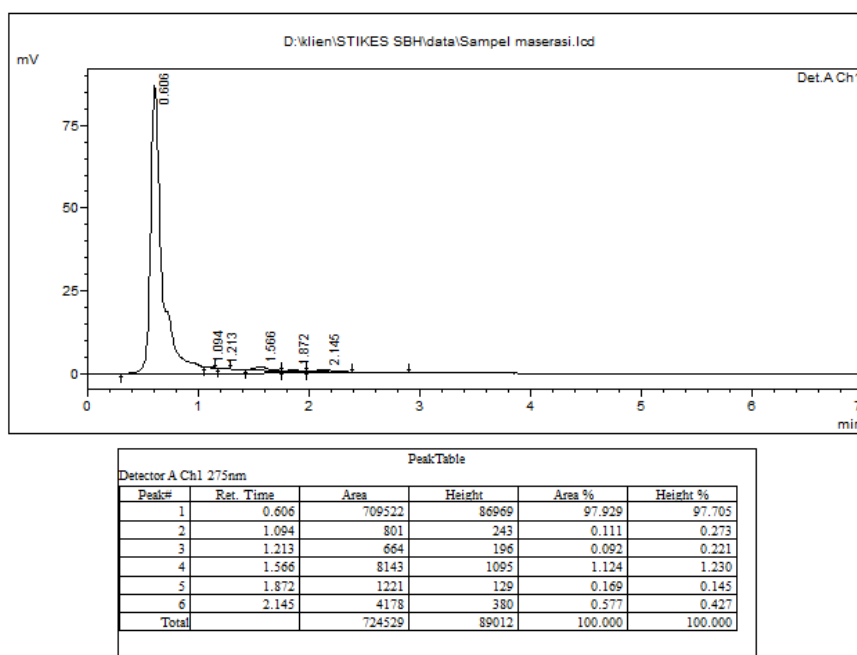
**Gambar 2.** Kromatogram Kafein Konsentrasi 80 ppm



**Gambar 3.** Kurva Regresi Linear Dari Standar Larutan Kafein konsentrasi

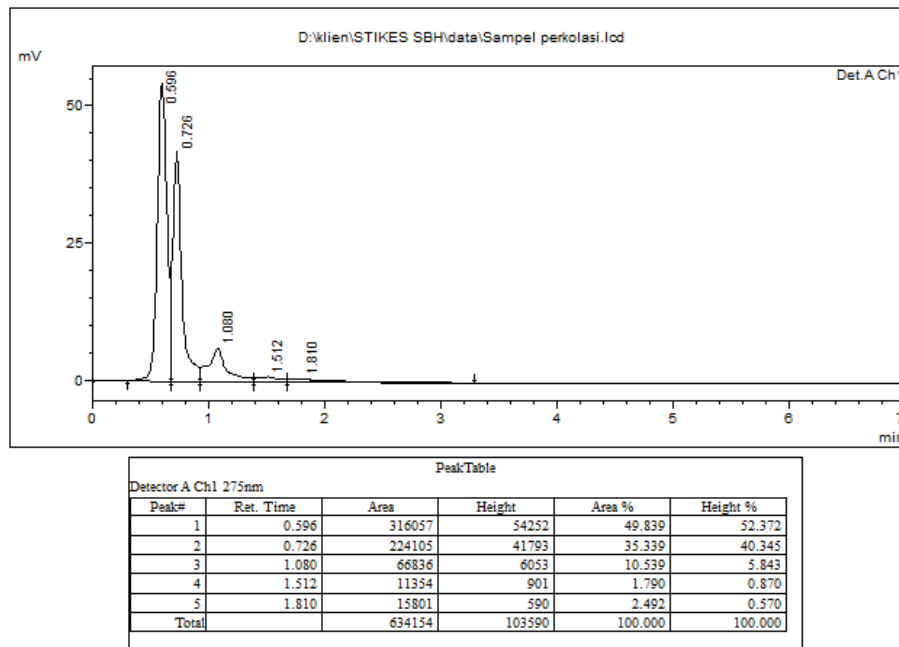
Selanjutnya dilakukan analisis HPLC pada sampel dari fraksi etil asetat kental dari 3 metode ekstraksi (maserasi, perkolasi dan refluks) dengan konsentrasi 80 ppm menggunakan pelarut metanol dan asam asetat glasial (95:5), Masukkan masing-masing sampel ke dalam wadah tabung kecil melalui syringe filter 0,45 mikro menggunakan suntikan, Tutup tabung menggunakan penutup, Nyalakan instrumen HPLC, Masukkan sampel ke dalam tempat inject sampel, Pasang selang untuk fase gerak pada wadah pelarut metanol dan asam asetat glasial, Setting HPLC dari komputer dengan laju alir 2 ml/menit, tekanan pompa 75 kgf/cm<sup>2</sup>, temperatur oven 45°C, temperatur maksimal 85°C, panjang gelombang 275 nm dan mode alir eluen isokratik, Start proses HPLC, tunggu selama beberapa menit, Interpretasikan hasil kromatogram sampel.

Didapatkan data kromatogram sampel dari masing-masing metode ekstraksi, pada sampel kulit buah naga metode maserasi ada 6 puncak lihat Gambar 4 yang muncul dengan waktu retensi 0,606 ; 1,094 ; 1,213 ; 1,566 ; 1,872 ; dan 2,145. Bila dibandingkan dengan kromatogram kafein ada waktu retensi yang sama. Kemudian pada sampel kulit buah naga metode perkolasi didapatkan 5 puncak (Gambar 5) yang muncul dengan waktu retensi 0,596 ; 0,726 ; 1,080 ; 1,512 dan 1,810. Pada data tersebut ada waktu retensi yang sama pada sampel kulit buah naga dengan metode ekstrak perkolasi dengan standar kafein yaitu 0,730. Dan pada hasil kromatogram sampel kulit buah naga metode ekstraksi refluks ada 6 puncak (Gambar 6) yang muncul dengan waktu retensi 0,607 ; 1,101 ; 1,569 ; 1,863 ; 2,125 dan 3,067. Ditemukan waktu retensi yang sama pada metode ini dengan standar kafein.

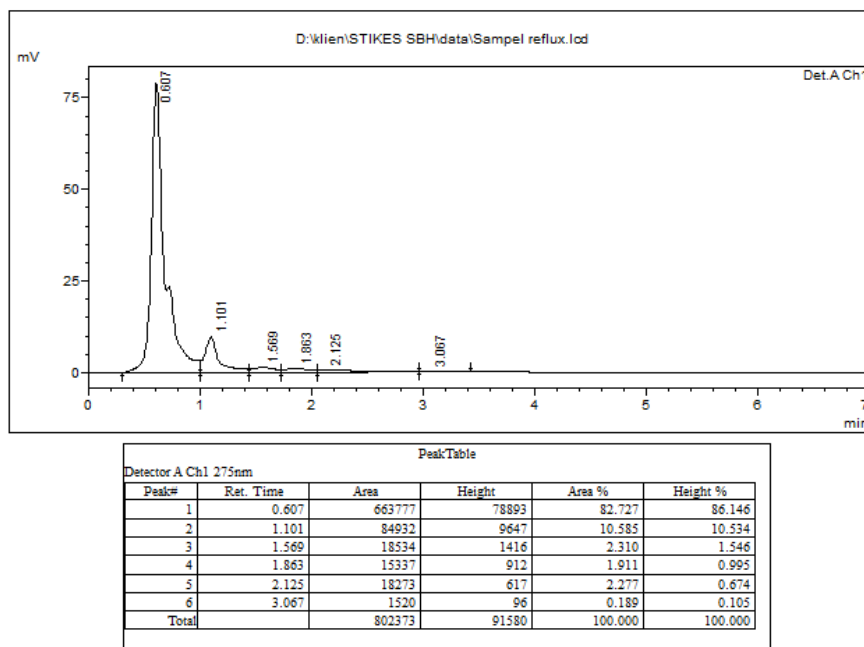


**Gambar 4.** Kromatogram Ekstrak Buah Naga Metode Maserasi





**Gambar 5** Kromatogram Ekstrak Buah Naga Metode Perkolasi



**Gambar 6.** Kromatogram Ekstrak Buah Naga Metode Refluks

Diketahui kulit buah naga mengandung kafein pada waktu retensi rata-rata 0,7 menit. Data luas area dan konsentrasi larutan standar kafein dimasukkan ke dalam rumus regresi linear, didapatkan kurva regresi linear dengan nilai  $r = 0,9977$  (Gambar 6). Kemudian didapatkan kadar kafein pada masing-masing ekstrak metode maserasi, perkolasi dan refluks dengan memasukan luas area pada rumus  $y = bx + a$  menjadi  $x$  (kadar kafein yang dicari) =  $(y - a) / b$ . Kadar kafein pada metode maserasi adalah 85.16 ppm, kadar kafein dari metode perkolasi adalah 65.37 ppm dan kadar kafein pada sampel metode refluks adalah sebesar 82.86 ppm dapat dilihat pada Tabel 2.

**Tabel 2.** Kadar Kafein Pada Ekstrak Kulit Buah Naga

Metode	Luas Area kafein	$x=(y-a)/b$
maserasi	709522	85.16 ppm
perkolasi	316057	65.37 ppm
refluks	663777	82.86 ppm

### Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa untuk mengetahui kandungan senyawa yang ada pada kulit buah naga ini dapat dilakukan dengan metode analisis bahan alam, yang dimulai dengan rangkaian maserasi, fraksinasi, analisis KLT dan HPLC. Di dapatkan kadar kafein pada masing-masing metode ekstrak sampel kulit buah naga yaitu metode maserasi adalah 85.1593 ppm, metode perkolasi adalah 65.37295 ppm dan metode refluks adalah sebesar 82.8589 ppm.

### Daftar Referensi

- Abriyani, Ermi. Dkk. 2022. Analisis Kafein Dalam Kopi Menggunakan Metode Spektrofotometri Uv-Vis. *Journal of Comprehensive Science* Vol. 1 No. 5
- Laurencia, E., & Tjandra, O. 2018. Identifikasi senyawa kimia ekstrak metanol buah naga merah (*hylocereus polyrhiz*) dengan kromatografi gas. In *Tarumanagara Medical Journal* (Vol. 1, Issue 1).
- Mursiti, S., Rizkita, A.D dan Dewi, S.A., 2017, Uji Aktivitas Daun Wani, Iler, dan Mangga sebagai Antidiabetes menggunakan Metode Induksi Streptozotocin, Aloksan, dan TTGO, *Proceeding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia*, 3, 105-109
- Nalina, T. & Z.H.A. Rahim. 2007. The crude aqueous extract of Piper betle L. and its antibacterial effect towards *Streptococcus mutans*. *Jurnal of Biochem & Biotech*, 3(1):10-5
- Primus, Josephus. 2022. "Sejarah Buah Naga, Awalnya Hanya Tanaman Hias", <https://www.kompas.com/stori/read/2022/10/25/233000179/sejarah-buah-naga-awalnya-hanya-tanaman-hias> diakses pada 19 juli 2023.
- Rizkita, A. D., Maulana, I., & Dewi, S. A. (2023). Detection of Flavonoid Compounds of Daruju Root Extract (*Acanthus ilicifolius* Linn) using Thin Layer Chromatography and UV-Vis Spectrophotometry. *Jurnal Sains Dan Kesehatan*, 5(1), 1–5. <https://doi.org/10.25026/jsk.v5i1.1185>
- Rizkita, A.D., Dewi, S.A., Wibowo, E.A.P., Maulana, I. 2021. Isolasi dan Identifikasi Saponin dari Ekstrak *Leunca* (*Solanum ningrum* L) secara Spektrofotometri Infra Merah. *Jurnal Ilmiah Sains*, 21 (2), 166-169.
- Rizkita, A.D.; Cahyono, E.; Mursiti, S. Isolasi dan Uji Antibakteri Minyak Daun Sirih Hijau dan Merah Terhadap *Streptococcus mutans*. *J. Chem. Sci.* **2017**, 6, 279–286
- Rizkita, Aden Dhana, and Sintia Ayu Dewi. "Isolation and Identification of Chemical Components of Winged Bean (*Psophocarpus tetragonolobus* DC) Leaf Diethyl Ether Extract." *Proceeding International Conference on Religion, Science and Education*. Vol. 2. 2023.
- Saepudin, Sulton Ramadhan., Yuliawati, Kiki Mulkiya., & Alhakimi, Thyazen Abdo. 2020. Pengaruh Perbedaan Karakteristik Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus Lemairei* (Hook.) Britton & Rose) yang Diperoleh dari Metode Ekstraksi Maserasi dan Digesti, *Prosiding Farmasi UNISBA*, <https://doi.org/10.29313/.v6i2.24035>