

KAJIAN AWAL METABOLOMIK PADA EKSTRAK METANOL DAGING BUAH LIMAU KUIT DENGAN ANALISIS GC-MS TIDAK TERTARGET

Initial Metabolomics Study on Methanol Extract of Limau Kuit Fruit Flesh Using Untargeted GC-MS

Azidi Irwan^{1,*}, Ahmad Budi Junaidi¹

¹ Program Studi Kimia Fakultas MIPA Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru-Kalsel, Indonesia

*Corresponding author: airwan@ulm.ac.id

Abstrak. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji kandungan zat pada daging buah limau kuit pada kondisi tertentu dengan metode Gas Chromatography-Mass Spectrophotometry (GC-MS) tanpa target. Daging buah limau kuit dengan perlakuan segar dan kering dimaserasi dengan pelarut metanol. Sampel buah limau kuit disiapkan dari buah segar yang baru dipetik sebelum pukul 9 pagi. Dilakukan pengupasan untuk memisahkan kulit dan daging buahnya. Diambil daging buahnya dipotong-potong sepanjang ± 1 cm dan dijadikan sampel sebanyak 100 gram. Sampel tersebut kemudian dikeringkan pada suhu 60°C selama tiga hari untuk mengurangi kadar airnya. Setelah itu masing-masing dari sampel daging buah segar dan kering dimaserasi dengan metanol selama 5 hari. Maserat kemudian diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 60°C kurang lebih 1 jam. Ekstrak kental kemudian dilarutkan kembali untuk analisis GCMS. Dari analisis GC-MS tanpa target dihasilkan 10 komponen penyusun pada masing-masing sampel. Pada sampel basah terbaca senyawa-senyawa diduga sebagai berikut: alanilglisina, fosgen, hidrazina, furfural, anhidrida metilmaleat, 1,3,5-triazina-2,4,6-triamina, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-4H-piran-4-on, 5-hidroksimetil-2-furankarboksaldehida, timidin, dan asam butanoat. Sedangkan pada sampel kering diperoleh: asam oksalat, metilsilana, asam karbamat, furfural, 3-metil-2,5-furandion-5-metil-2-furankarboksaldehida, dihidro-3-metilen-2,5-furandion, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-4H-piran-4-on, 5-hidroksimetil-2-furankarboksaldehida, dan asam butanoat. Perlu dilakukan optimasi kondisi preparasi sampel daging buah limau kuit untuk memberikan data ilmiah yang lebih akurat sebagai khazanah lokal Kalimantan.

Kata kunci: limau kuit, maserasi, metanol, metabolomik, GC-M

1. PENDAHULUAN

Sampai saat ini identitas yang akurat tentang tanaman limau kuit masih simpang siur. Belum banyak penelitian tentang tanaman limau kuit tetapi beberapa penelitian telah memberikan nama ilmiah untuk limau kuit seperti *Citrus hystrix* D.C. (Ariyani *et al.*, 2018), dan *Citrus amblycarpa* Hassk. Ochse (Puslit Biologi LIPI, 2017). *Citrus hystrix* D.C. adalah nama yang sudah sangat terkenal untuk jeruk purut, sedangkan *Citrus amblycarpa* Hassk. Ochse adalah nama untuk jeruk limau atau jeruk limo. Sementara secara morfologis limau kuit berbeda dengan jeruk purut dan jeruk limau.

Limau kuit diyakini merupakan jeruk khas lokal Kalimantan Selatan dan Desa Sungai Tuan Kecamatan Astambul adalah salah satu sentra produksi buah limau kuit. Pencarian data ilmiah limau kuit telah dilakukan seperti taksonomi, penyebaran geografis, pemanfaatan, budidaya tanaman, dan sebagainya. Banyak hal tentang limau kuit belum diketahui, di antaranya adalah dari aspek metabolomik (*metabolomic*). Metabolomik merupakan bidang baru dari penelitian "*omics*" dengan menggunakan teknologi-teknologi analisis yang rumit untuk mengidentifikasi jenis, lokasi, dan jumlah metabolit terutama dalam bentuk molekul-molekul ber-BM

rendah pada waktu atau kondisi khusus dalam tubuh makhluk hidup atau produknya (Ramaden, 2009; Putri *et al.*, 2013a; Kosmides *et al.*, 2013; Clish, 2015). Pendekatan metabolomik mencakup penentuan sistem secara simultan dan menyeluruh terhadap metabolit pada waktu atau kondisi tertentu (Hall, 2006). Berbagai instrument sekarang telah dikembangkan untuk keperluan tersebut seperti *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR), *Supercritical Fluid Chromatography Mass Spectrometry* (SFCMS), *Capillary Electrophoresis Mass Spectrometry* (CEMS), *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LCMS), *High Performance Liquid Chromatography* (LCMS), dan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GCMS) (Putri *et al.*, 2013b).

GCMS sangat cocok dan secara luas digunakan untuk meneliti senyawaan ber-BM rendah dan volatil dari berbagai jenis tumbuhan dan juga turunan-turunannya seperti kopi (Choi *et al.*, 2010; Jumhawan *et al.*, 2013), kentang (Uri *et al.*, 2014), *clary sage*, lavender, jeruk lemon, dan jeruk lainnya (Wu *et al.*, 2014). Analisis GCMS tidak tertarget (*untargeted* GCMS) dianggap handal untuk menjelaskan sidik jari metabolit dari jeruk limau sehingga dapat digunakan sebagai informasi awal untuk penelitian lebih lanjut untuk berbagai keperluan ilmiah atau pun praktis

(Budiarto *et al.*, 2017). Secara umum tumbuhan jeruk mengandung minyak atsiri sehingga jeruk memiliki aroma-aroma yang khas dan bervariasi. Oleh karena itu diduga metabolit yang dihasilkan nantinya banyak mengandung molekul-molekul yang mudah menguap yang umumnya adalah dari golongan terpena dan turunannya. Akan tetapi diharapkan juga akan ditemukan penyusun lainnya seperti asam-asam karboksilat (asam lemak), ester, vitamin-vitamin, dan lain-lainnya.

Pada penelitian ini akan dilakukan ekstraksi terhadap sampel buah limau kuit dengan metode maserasi menggunakan metanol. Ekstrak yang diperoleh kemudian dianalisis dengan GCMS tidak tertarget/tanpa target. Sampel buah limau kuit diambil dari desa Sungai Tuan, Kecamatan Astambul, Kabupaten Banjar.

2. METODE

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan: pisau, gunting, timbangan, alat maserasi, instrument GC-MS Shimadzu QP2010S, dan peralatan gelas. Sedangkan bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah limau kuit, metanol p.a, dan akuades dari Kecamatan Astambul, Kabupaten Banjar-Kalsel.

2.2. Prosedur Kerja

2.2.1. Preparasi Sampel Kulit dan Daging Buah Limau Kuit

Sampel buah limau kuit disiapkan dari buah segar yang baru dipetik sebelum pukul 9 pagi. Dilakukan pengupasan untuk memisahkan kulit dan daging buahnya. Diambil daging buahnya dipotong-potong sepanjang ± 1 cm dan dijadikan sampel sebanyak 100 gram. Sampel tersebut kemudian dikeringkan pada suhu 60°C selama tiga hari untuk mengurangi kadar airnya. Setelah itu dimaserasi dengan metanol selama 5 hari. Maserat kemudian diuapkan dengan rotary evaporator pada suhu 60°C kurang lebih 1 jam. Ekstrak kental kemudian dilarutkan kembali untuk analisis GCMS.

2.2.2. Analisis Komponen Ekstrak dengan GC-MS

Penentuan metabolit dilakukan dengan menggunakan alat GC-MS berupa data senyawa kimia dan konsentrasi dari masing-masing senyawa yang dianalisis secara deskriptif.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Identitas Limau Kuit

Limau kuit diduga memiliki kesamaan dengan limau *Sundai* atau *Sunday* dari Sumatera Barat atau asam/jeruk *Jungga* dari Sumatera Utara. Sementara nama latinnya belum diperoleh. Dari situs Wikipedia dikatakan bahwa asam *Jungga* disebutkan sejenis jeruk purut (*Citrus hystrix* DC). Pencirian klasifikasi limau kuit belum dapat dilakukan karena setiap komponen tanaman: buah, daun, dan batang, terutama bunga belum dapat dikirimkan secara serentak untuk determinasi yang lengkap.

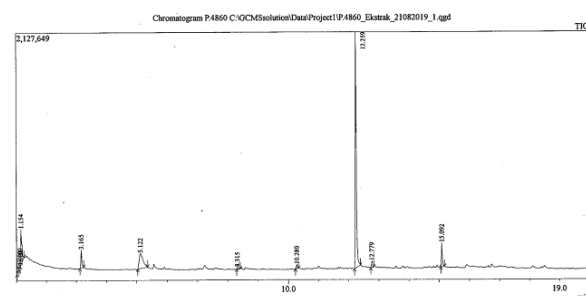
Nama-nama lain yang didapat mengikuti nama yang biasa diberikan oleh masyarakat setempat, yaitu: *unte Sira* di Dairi (Batak Toba), *unte Rihit* di Kotanopan sampai Rao (Mandailing), dan *unte Jungga* (Simalungun). Bagi orang Batak limau ini biasa digunakan untuk memfermentasi daging ikan Mas pada masakan khas "naniura". Limau ini bahkan pernah diekspor ke Jepang yang digunakan untuk olahan makanan ikan "sashimi" dan limau ini dihargai relatif mahal (mencapai Rp. 15.000,-per buah) (Alneedy, 2011).

3.2. Hasil Maserasi Daging Buah Limau Kuit

Maserasi dilakukan dengan perendaman sampel dengan perbandingan berat sampel (gram) dan volume (mL) pelarut metanol dengan perbandingan 1:10. Maserasi dilaksanakan selama 2x5 hari dengan setiap lima hari pelarut diganti.

Setelah 2x5 hari maserat dikumpulkan dan diuapkan dengan *Rotary Evaporator* pada suhu 60°C selama 1 jam, hasilnya berupa ekstrak pekat.

Ekstrak yang diperoleh kemudian dianalisis dengan GCMS. Gambar 1 menunjukkan kromatogram untuk sampel basah atau segar daging buah limau.



Gambar 1. Kromatogram ekstrak sampel basah daging buah limau kuit.

Dari kromatogram tampak komponen yang terbaca tidak banyak, hanya terbaca 10 puncak.

Sebagian besar menunjukkan puncak-puncak dengan intensitas yang tidak besar, hanya satu puncak yang menonjol pada waktu retensi 12,259 menit.

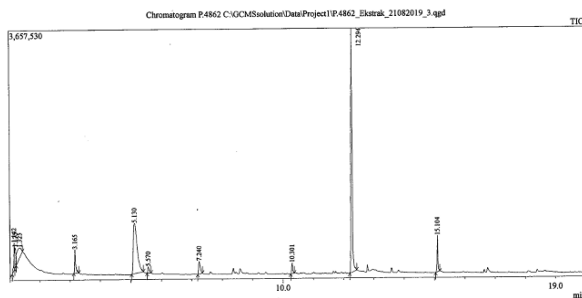
Selengkapnya puncak-puncak tersebut dijabarkan pada Tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1. Kandungan senyawa dalam ekstrak dari sampel segar daging buah limau kuit

Nomor Puncak	Waktu Retensi	Luas Area (%)	SI (%)*	Rumus Molekul	Berat Molekul	Perkiraan Senyawa
1	-	-	93	C ₅ H ₁₀ N ₂ O ₃	44	alanilglisina
2	1,101	86734	74	CCl ₂ O	98	fosgen
3	1,155	641057	92	CH ₆ N ₂	46	hidrazina
4	3,165	155512	98	C ₅ H ₄ O ₂	96	furfural
5	5,125	381754	96	C ₅ H ₄ O ₃	112	anhidrida metilmaleat
6	8,322	15292	80	C ₃ H ₆ N ₆	126	1,3,5-triazina-2,4,6-triamina
7	10,276	23563	91	C ₆ H ₈ O ₄	144	2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-4H-piran-4-on
8	12,259	1030466	96	C ₆ H ₆ O ₃	126	5-hidroksimetil-2-furankarboksaldehida
9	12,776	23030	79	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₅	242	timidin
10	15,093	119535	80	C ₅ H ₈ O ₃	116	asam butanoat

Keterangan: SI = *Similarity Index*

Sedangkan Gambar 2 menunjukkan kromatogram untuk ekstrak sampel kering daging buah limau kuit.



Gambar 2. Kromatogram ekstrak sampel kering daging buah limau kuit.

Dari kromatogram pada Gambar 2 tampak komponen yang terbaca juga 10 puncak. Sebagian besar menunjukkan puncak-puncak dengan intensitas yang tidak besar, hanya satu puncak yang menonjol pada waktu retensi 12,294 menit. Selengkapnya puncak-puncak tersebut dijabarkan pada Tabel 2 di bawah ini.

Tabel 2. Kandungan senyawa dalam ekstrak dari sampel kering buah limau kuit

Nomor Puncak	Waktu Retensi	Luas Area (%)	SI (%)*	Rumus Molekul	Berat Molekul	Perkiraan Senyawa
1	1,142	538936	85	C ₂ H ₂ O ₄	90	asam oksalat
2	-	-	93	CH ₆ Si	46	metilsilana
3	-	-	95	CH ₃ NO ₂	61	asam karbamat
4	3,165	371035	98	C ₅ H ₄ O ₂	96	furfural
5	5,132	2133879	97	C ₅ H ₄ O ₃	112	3-metil-2,5-furandion
6	5,569	129657	96	C ₆ H ₆ O ₂	110	5-metil-2-furankarboksaldehida
7	7,240	255914	94	C ₅ H ₄ O ₃	112	dihidro-3-metilen-2,5-furandion
8	10,302	83772	93	C ₆ H ₈ O ₄	144	2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-4H-piran-4-on
9	12,294	2401339	96	C ₁₀ H ₁₄ N ₂ O ₅	242	5-hidroksimetil-2-furankarboksaldehida
10	15,104	233526	81	C ₅ H ₈ O ₃	116	asam butanoat

Keterangan: SI = *Similarity Index*

4. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan memberikan hasil sebagai berikut:

1. Rendemen metabolit tidak terkuantifikasi karena sulit memisahkan dengan pelarut, sehingga sampel ekstrak yang dianalisis kandungan komponen-komponennya merupakan campuran antara pelarut metanol dan ekstrak. Untuk kepentingan analisis komponen-komponen senyawa yang terkandung di dalam ekstrak hal ini tidak memberikan pengaruh kualitatif.
2. Dihasilkan 10 komponen penyusun pada masing-masing sampel. Pada sampel basah terbaca senyawa-senyawa diduga sebagai berikut: alanilglisina, fosgen, hidrazina, furfural, anhidrida metilmaleat, 1,3,5-triazina-2,4,6-triamina, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-4H-piran-4-on, 5-hidroksimetil-2-furankarboksaldehida, timidin, an asam butanoat. Sedangkan pada sampel kering diperoleh: asam oksalat, metilsilana, asam karbamat, furfural, 3-metil-2,5-furandion-5-metil-2-furankarboksaldehida, dihidro-3-metilen-2,5-furandion, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil-4H-piran-4-on, 5-hidroksimetil-2-furankarboksaldehida, dan asam butanoat.

5. SARAN

Perlu dilakukan optimasi kondisi preparasi sampel untuk memberikan data ilmiah yang lebih akurat tentang jeruk limau kuit yang unik sebagai khazanah lokal Kalimantan.

6. UCAPAN TERIMA KASIH

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam sebagai lembaga yang memberikan dana penelitian ini melalui dana penelitian DIPA FMIPA ULM tahun 2019.

7. DAFTAR PUSTAKA

- Ambarwati, F.E. 2012. *Pengaruh Pemberian Larutan Ekstrak Jeruk Nipis (Citrus aurantifolia) Terhadap Pembentukan Plak Gigi*. Skripsi, Universitas Diponegoro, Diponegoro.
- Ariyani, H., M. Nazemi, Hamidah, & M. Kurniati. 2018. Uji Efektivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Limau Kuit (*Citrus hystrix* C) Terhadap Beberapa Bakteri. *Journal of Current Pharmaceutical Sciences*, **2**(10): 136-141.

- Budiarto, R., R. Poerwanto, E. Santosa, & D Efendi. 2017. The Potential of Limau (*Citrus amblycarpa* Hassk. Ochse) as A Functional Food and Ornamental Mini Tree Based on Metabolomic and Morphological Approaches. *Journal of Tropical Crop Science*, **4**(2): 49-57.
- Choi, M.Y., Choi, W., Park, J.H., Lim, J., & Kwon, S.W. 2010. Determination of coffee origins by integrated metabolomic approach of combining multiple analytical data. *Food Chemistry*, **121**: 1260-1268.
- Clish, C.B. 2015. *Metabolomics: an emerging but powerful tool for precision medicine*. Cold Spring Harbor Molecular Case Studies **1**, 1-6.
- Day, R.A & A.L. Underwood. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Erlangga, Jakarta: 470-501.
- Hall, R.D. 2006. *Plant metabolomics: from holistic hope, to hype, to hot topic*. *New Phytologist*, **169**: 453-468.
- Haq, G. I., A. Permanasari., H. Solihin. 2010. Efektivitas Penggunaan Sari Buah Jeruk Nipis Terhadap Ketahanan Nasi. *Jurnal Saint Teknik Kimia*, **1**: 44-58.
- Hatta, M. 2016. *Mukjizat Herbal dan Khasiatnya dalam Al-Qur'an*. Mirqat, Jakarta.
- Hidayat, F.K. 1999. *Ekstraksi Minyak Atsiri dari Daun Jeruk Purut (Citrus hystrix DC.) pada Skala Pilot-Plant*. Skripsi, Institut Pertanian Bogor, Bogor: 16-41.
- Jumhawan, U., Putri, S.P., Yusianto, Marwanni, E., Bamba, T., & Fukusaki, E. (2013). Selection of discriminant marker for authentication of Asian palm civer coffee (kopi luwak): a metabolomics approach. *Journal of Agriculture Food Chemistry* **61**:7994-8001.
- Kasuan, N., Z. Muhammad, Z. Yusoff, M.H.F. Rahman, M.N. Taib, & Z.A. Haiyee. 2013. Extraction of *Citrus Hystrix* DC. (*Kaffir lime*) Essential Oil Using Automated Steam Distillation Process: Analysis of Volatile Compound. *Malaysian Journal of Analytical Science*. **17**: 359-369.
- Khasanah, L.U., K.R. Utami, & Y.M. Aji. 2015. Pengaruh Perlakuan Pendahuluan Terhadap Karakteristik Mutu Minyak Atsiri Daun Jeruk

- Purut (*Citrus hystrix* DC). *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, **4**: 48-55.
- Ketaren, S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan*. Universitas Indonesia, Jakarta: 77-80.
- Kosmides, A.K., Kamisoglu, K., Calvano, S.E, Corbett, S.A. & Androulakis, I.P. 2013. Metabolomic Fingerprinting: challenges and opportunities. *Critical Review in Biomedical Engineering* **41**: 205–221.
- Munawaroh, S & P.A. Handayani. 2010. Ekstraksi Minyak Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC) dengan Pelarut Etanol dan *n*-Heksana. *Jurnal Kompetensi Teknik* **2**: 73-78.
- Mutmainah, A. 2013. *Senyawa Terpenoid pada Minyak Atsiri*.
<http://atikatulmutmainah24.blogspot.co.id/2013/09/senyawa-terpenoid-pada-minyak-atsiri.html>
(diakses pada tanggal 29 Oktober 2017)
- Panji, T. 2012. *Teknik Spektroskopi untuk Elusidasi Struktur Molekul*. Graha Ilmu, Yogyakarta.
- Putri, S.P., Y. Nakayama, F. Matsuda, T. Uchikata, S. Kobayashi, A. Matsubara, & E. Fukusaki. 2013a. Current metabolomics: practical applications. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 115: 579-589.
- Putri, S.P., S. Yamamoto, H. Tsugawa, & E. Fukusaki. 2013b. Current metabolomics: technological advances. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 116: 9-16.
- Sarrou, E, P. Chatzopoulou, K. Dimassi-Therios, & I. Therios. 2013. Volatile Constituents and Antioxidant Activity of Peel, Flowers and Leaf Oils of *Citrus aurantium* L. Growing in Greece. *Molecules*:**18**: 10639-10647.
- Siska, U.M. 2011. *Beda Jeruk Nipis, Jeruk Lemon, Jeruk Purut, dan Jeruk limau (limo)*.
www.lumalumi.com. (diakses pada tanggal 5 Mei 2016)
- Uri, J., Juhasz, Z., Polgar, Z., 7 Banfalvi, Z. 2014. A GC-MS based metabolomics study on the tubers of commercial potato cultivars upon storage. *Food Chemistry* 159, 287-292.
- Winangsih, E. P., & S. Parman. 2013. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Lempuyang Wangi (*Zingiber aromaticum* L). *Buletin Anatomi dan Fisiologi*. **21**:19-25.
- Wu, P.S., Kuo, Y.T., Chen, S.M., Li, Y., and Lou, B.S. 2014. Gas chromatography-mass spectrometry analysis of photosensitive characteristics in citrus and herb essential oils. *Journal of Chromatography and Separation Techniques*. 6, 1-9.
- Yuliana, S., & S. Satu. 2012. *Panduan Lengkap Minyak Atsiri*. Penebar Swadaya. Jakarta: 10-46.