

Optimasi Metode Penetapan Senyawa Eugenol dalam Minyak Cengkeh Menggunakan *Gas Chromatography – Mass Spectrum* dengan Variasi Suhu Injeksi

Mailinda Ayu Hana Margareta^{1,2,3,*}, Surjani Wonorahardjo^{1,2,3}

- ¹Laboratorium Mineral dan Material Maju, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Malang, Jawa Timur 65145
²Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Malang, Malang, Jawa Timur 65145
³Pusat Unggulan IPTEK Perguruan Tinggi - *Centre Of Advance Materials and Renewable Energy*, Universitas Negeri Malang, Malang, Jawa Timur 65145

*email korespondensi: mailinda@um.ac.id

Received: 12 Juni 2023; **Revised:** 6 Juli 2023; **Accepted:** 12 Agustus 2023; **Published:** 24 Agustus 2023

ABSTRAK

Tanaman cengkeh merupakan salah satu tanaman asli yang tumbuh di Indonesia. Tanaman ini memiliki banyak manfaat, salah satunya dapat digunakan sebagai bahan dasar minyak atsiri yaitu minyak cengkeh yang dapat digunakan sebagai bahan baku dalam beberapa industri. Dalam minyak cengkeh komponen utamanya adalah eugenol yang juga digunakan sebagai parameter penentuan kualitas dari minyak cengkeh. Penentuan senyawa eugenol dapat dilakukan menggunakan metode kromatografi, salah satu pengaplikasian kromatografi yaitu pada alat *Gas Chromatography – Mass Spectrum* atau disebut GC-MS. Dalam penentuan profil eugenol menggunakan GC-MS dibutuhkan pemrograman suhu yang merupakan salah satu parameter penting dalam pemisahan senyawa dengan metode kromatografi. Terkait dengan hal tersebut maka dilakukan pengembangan metode pengujian menggunakan GC-MS dalam penentuan profil senyawa eugenol dengan variasi suhu injeksi, sehingga dapat diperoleh hasil maksimal dalam penentuan eugenol menggunakan GC-MS dengan kondisi pengujian yang optimal. Dari ketiga variasi suhu injeksi untuk penentuan kadar eugenol dengan alat GC-MS, metode yang paling optimal adalah suhu injeksi 200 °C. Metode tersebut paling optimal karena menghasilkan nilai yang paling mendekati kadar sesungguhnya larutan baku eugenol yang sudah diketahui kadarnya. Metode yang paling optimal kemudian digunakan untuk penentuan kadar eugenol pada minyak cengkeh komersial dan hasil menunjukkan kadar eugenol sebesar 21% yang berarti minyak cengkeh tersebut berkualitas rendah.

Kata-kata kunci: eugenol; GC-MS; minyak cengkeh; optimasi; suhu injeksi

PENDAHULUAN

Tanaman cengkeh merupakan tanaman rempah asli Indonesia dan mempunyai banyak manfaat. Tanaman cengkeh (*Eugenia aromaticum*) merupakan salah satu tanaman perkebunan yang dapat digunakan sebagai penghasil minyak atsiri yang bermanfaat sebagai bahan baku dalam industri farmasi (Munawaroh, 2010) maupun industri makanan, dan penggunaan terbanyaknya adalah sebagai bahan baku rokok (Putri et al., 2014). Minyak atsiri yang diperoleh dari daun cengkeh disebut minyak cengkeh. Standar mutu minyak atsiri bunga cengkeh menurut Standar Nasional Indonesia (SNI): 06-4267-1996 disajikan pada **Tabel 1**.

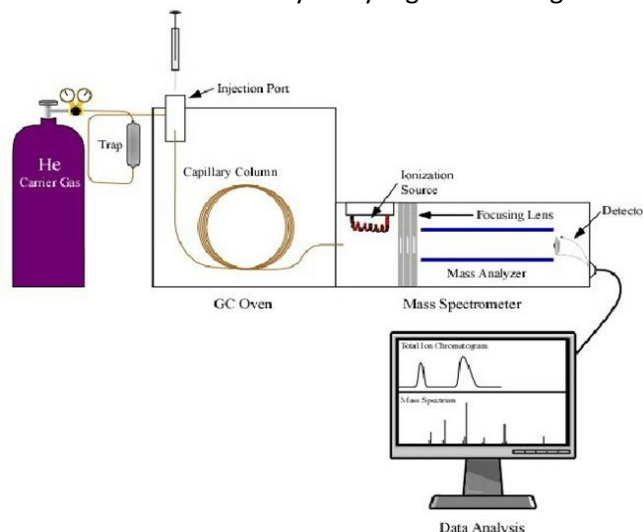
Tabel 1. Standar Mutu Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Menurut SNI: 06-4267-1996 (*SNI 06-4267-1996 Minyak Bunga Cengkeh - [PDF Document]*, n.d.)

Parameter mutu minyak atsiri bunga cengkeh	Karakteristik
Warna	Tak berwarna hingga kuning muda
Bobot jenis (25 °C)	1,030 - 1,060 kg/m ³
Indeks bias (25 °C)	1,527 - 1,535
Eugenol total (b/b)	80 - 95%

Eugenol merupakan salah satu kandungan terbesar yang terdapat pada minyak cengkeh. Pemisahan eugenol dari minyak cengkeh dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti ekstraksi dengan basa maupun dengan destilasi fraksinasi. Banyaknya kandungan eugenol pada minyak cengkeh digunakan

sebagai penentu kualitas minyak cengkeh tersebut, semakin tinggi kandungan eugenol maka semakin tinggi kemurnian minyak cengkeh tersebut. Eugenol mempunyai nama IUPAC 2-metoksi-4-(2-propenil) fenol dan mempunyai titik didih 254°C (“Eugenol,” 2022) dan bersifat volatil sehingga senyawa ini dapat ditentukan menggunakan metode kromatografi gas. Prinsip pemisahan dalam kromatografi gas yaitu dengan cara partisi dari komponen-komponen senyawa berdasarkan titik didih dan kepolaran komponen-komponen senyawanya dengan menggunakan fase gas sebagai fase gerak (Harnani et al., 2010; Riyanto, 2013).

GC-MS adalah metode yang digunakan untuk pemisahan dan digunakan untuk mengidentifikasi suatu komponen dalam suatu campuran sampel yang umumnya berupa senyawa-senyawa yang mudah menguap. GC-MS terdiri dari dua buah alat yaitu kromatografi gas dan spektrometri massa sebagai detektor. GC-MS bertujuan sebagai alat pemisah berbagai komponen pada suatu sampel yang pemisahannya tergantung dari titik didih senyawa yang ada pada suatu sampel yang dianalisis dan interaksi antara analit dengan fase diam maupun gerak. Prinsip kerja dari alat kromatografi gas ini adalah sampel cairan diinjeksikan ke dalam injektor yang nantinya akan diuapkan. Sampel yang sudah diuapkan tersebut kemudian dibawa oleh gas pembawa menuju kolom tempat terjadinya pemisahan. Senyawa dengan titik didih yang tinggi memiliki waktu retensi yang lama dibandingkan dengan senyawa yang memiliki titik didih lebih rendah. Prinsip kerja spektrometri massa adalah menembak bahan yang sedang dianalisis dengan berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu spektrum fragmen ion positif (Harnani et al., 2010). Fragmen ion positif tersebut nantinya akan berkelompok sesuai dengan massanya sehingga nantinya diperoleh berat molekul dari senyawa yang terkandung.



Gambar 1. Skema alat GC-MS (Wu et al., 2012)

GC-MS dapat dilakukan untuk analisa kualitatif dengan membandingkan waktu retensi dengan standar yang tersedia di *library* dan analisa kuantitatif dengan cara perhitungan relatif dan tinggi atau luas puncak kromatogram dengan larutan baku yang dianalisis. Pengujian menggunakan GC-MS dipengaruhi oleh beberapa hal salah satunya mengenai temperatur, seperti temperatur injeksi, temperatur kolom, dan temperatur *ion source*. Temperatur injeksi umumnya diatur 50°C diatas suhu senyawa yang akan dianalisis. Apabila suhu injeksi terlalu rendah akan menyebabkan hilangnya keefisienan akibat penginjeksian namun bila suhu injeksi terlalu tinggi maka akan menyebabkan peruraian sampel karena panas. Temperatur atau suhu injeksi sampel dalam pemisahan dengan GC-MS mempengaruhi volatilitas sampel. Sampel dengan volatilitas tinggi dapat dilakukan analisis dengan suhu rendah, namun bila sampel tersebut dilakukan analisis dengan suhu tinggi maka akan menyebabkan beberapa komponen dalam sampel tersebut terurai. Penelitian mengenai pengaruh suhu injeksi menggunakan GC-MS sebelumnya telah dilakukan mengenai analisis rasa kopi menggunakan *Temperatur Programmable Injection* yang menunjukkan adanya pengaruh temperatur injeksi pada profil senyawa yang diperoleh dan kestabilannya (Aprilia et al., 2023).

Untuk pengujian senyawa eugenol menggunakan GC-MS pada penelitian sebelumnya digunakan suhu injektor 260°C dengan suhu detektor 300 °C (Athar et al., 2013). Dalam penentuan senyawa eugenol menggunakan GC-MS belum dilakukan penelitian mengenai pengaruh suhu injeksi sehingga belum diperoleh suhu optimal injeksi untuk penentuan senyawa tersebut. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui pengaruh suhu injeksi pada penentuan senyawa eugenol menggunakan GC-MS sehingga nantinya diperoleh suhu injeksi yang optimal.

EKSPERIMEN

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah *Eugenol for synthesis Merck*, minyak cengkeh komersial, *Acetone Pro Analysis*, dan alkohol teknis.

Instrumen

Peralatan yang digunakan untuk penelitian ini adalah GC-MS Shimadzu QP – 2010 Plus dengan kolom RTX-5MS (Crossbond 5% diphenyl/ 95% dimetyl Polysiloxane, 30 m x 0.25 mm dan ketebalan 0.25 μ m), pipet volume (1, 5, dan 10 mL), pipet ukur 1 mL, labu takar 25 dan 50 mL, Erlenmeyer, pipet tetes, dan *beaker glass*.

Prosedur Kerja

1. Pembuatan Larutan Standar Eugenol

Standar eugenol berupa cairan dengan berat jenis 1.066 g/mL dan kemurnian 99%. Larutan baku standar eugenol dibuat dengan mengambil 0,25 mL eugenol kemudian dilarutkan dengan *acetone* P.A. sampai 25 mL yang kemudian diperoleh larutan eugenol dengan konsentrasi 1% (b/v) (Athar et al., 2013). Dari larutan baku tersebut kemudian dibuat larutan standart dengan konsentrasi 0,2; 0,1; 0,08; dan 0,05 % (b/v).

2. Pengujian Deret Standar Eugenol dengan Variasi Suhu Injeksi dengan Alat GC-MS

Analisis dilakukan menggunakan Shimadzu GC-MS QP 2010 Plus dengan kolom RTX-5MS kecepatan alir gas helium sebagai gas pembawa diatur 112,2 mL/ menit dengan suhu ion source 200 °C (Corporation, 2006). Deret standart eugenol yang sudah dibuat dilakukan pengujian dengan GC-MS dengan mode injeksi split, dengan pengaturan suhu sebagai berikut:

Tabel 2. Program suhu pengujian

Kecepatan (°C/ menit)	Suhu (°C)	Penahanan (menit)
-	125	1
4	140	1
4	150	1
5	175	1

Kemudian untuk suhu injeksi divariasi 200 °C, 254 °C, dan 280 °C. Dua mikroliter (2,0 μ L) dari tiap konsentrasi larutan standar baku eugenol disuntikkan ke dalam kolom. Persamaan kurva baku diperoleh melalui program regresi linier dengan memplotkan konsentrasi eugenol baku (% b/v) versus luas area *peak* eugenol dan ditetapkan koefisian korelasinya.

3. Pengukuran Larutan Baku Eugenol

Dalam setiap proses pengujian GC-MS jumlah sampel yang diinjeksikan adalah 2 μ L. Dengan digunakannya 3 variasi suhu injeksi maka diperoleh 3 persamaan kurva baku. Dari ketiga persamaan tersebut diperoleh 3 metode pengujian untuk penentuan eugenol. Dengan ketiga metode tersebut dilakukan penentuan kadar eugenol dengan larutan baku eugenol yang sudah diketahui kadarnya yaitu 0,08 % (b/v) dan dari ketiga hasil tersebut dipilih satu metode yang paling mendekati konsentrasi sesungguhnya kadar eugenol pada larutan baku tersebut untuk penentuan kadar eugenol pada minyak cengkeh.

4. Penentuan Kadar Eugenol pada Minyak Cengkeh

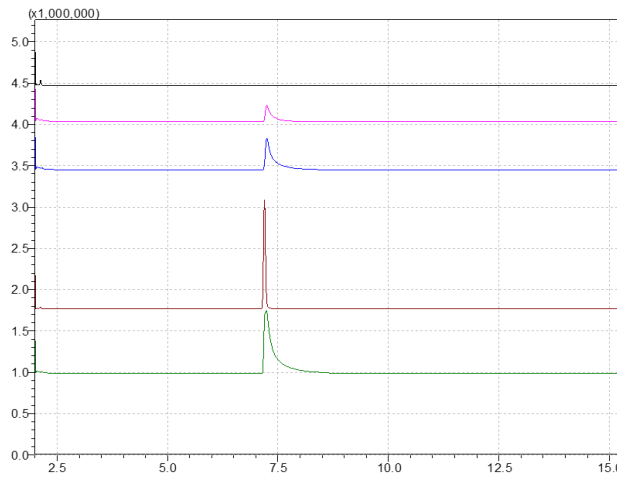
Dari 3 metode yang dibuat dipilih 1 metode yang optimal. Minyak cengkeh yang digunakan merupakan minyak cengkeh yang dijual dipasaran. Larutan minyak cengkeh dibuat dengan mengencerkan minyak cengkeh menggunakan pelarut *acetone* P.A. sampai faktor pengenceran 1250 kali. Kemudian larutan tersebut diuji dengan metode yang menunjukkan hasil paling mendekati nilai kadar larutan baku yang diuji. Pengujian minyak cengkeh dilakukan sebanyak 3 kali (triplo).

HASIL DAN DISKUSI

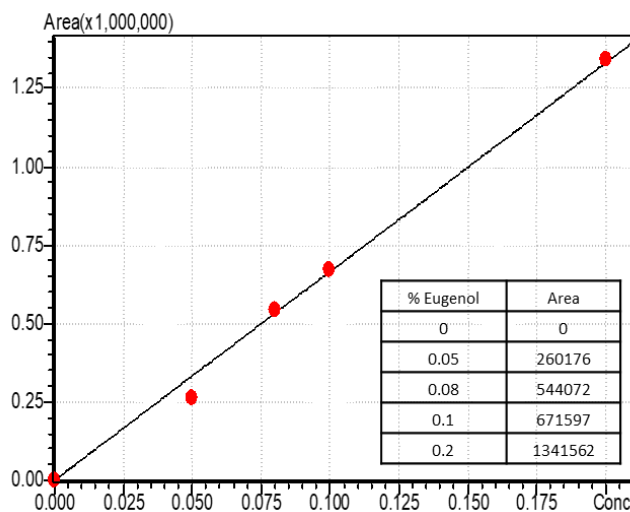
Dalam alat GC-MS, proses pemisahan komponen eugenol terjadi pada bagian GC sedangkan bagian MS digunakan untuk penentuan senyawa eugenol pada larutan standar baku yang digunakan yang sudah dipisahkan komponen-komponennya pada GC dan menghasilkan fragmen-fragmen ion yang kemudian dihasilkan spektrum massa. Penentuan senyawa eugenol dilakukan dengan membandingkan kromatogram yang diperoleh dengan senyawa referensi standar pada *WILLEY 8 library* dan dari hasil tersebut diperoleh bahwa eugenol menunjukkan hasil fragmentasi (m/z) 164 yang merupakan ion molekuler yang stabil dan sesuai dengan massa molekul relatifnya. Dalam penelitian ini digunakan kolom RTX - 5MS yang umumnya digunakan untuk pengujian pada sampel obat, pengotor pada pelarut dan minyak esensial, sehingga kolom jenis ini memang sesuai untuk penentuan senyawa eugenol pada minyak atsiri cengkeh. Dari pengujian larutan baku eugenol tersebut diperoleh persamaan regresi linear kurva baku antara konsentrasi dan luas area dari *peak* eugenol. Hasil Pengujian yang diperoleh digunakan untuk membuat kurva kalibrasi antara konsentrasi larutan baku dan luas area *peak* eugenol. Untuk mengetahui suhu optimal dalam injeksi sampel yang mengandung eugenol maka dilakukan variasi suhu injeksi pada pengujian GCMS yaitu suhu 200, 254, dan 280 °C.

1. Pengujian dengan Suhu Injeksi 200 °C

Dalam pengujian suhu injeksi 200 °C puncak eugenol muncul pada menit 7,25 dengan nilai m/z 164 dengan nama lain *PHENOL, 2-METHOXY-3-(2-PROPENYL)* diperoleh rumus regresi linear $Y = 6655461.047721^x$ dengan nilai $R^2 = 0,9978$ yang sudah memenuhi untuk standar regresi.



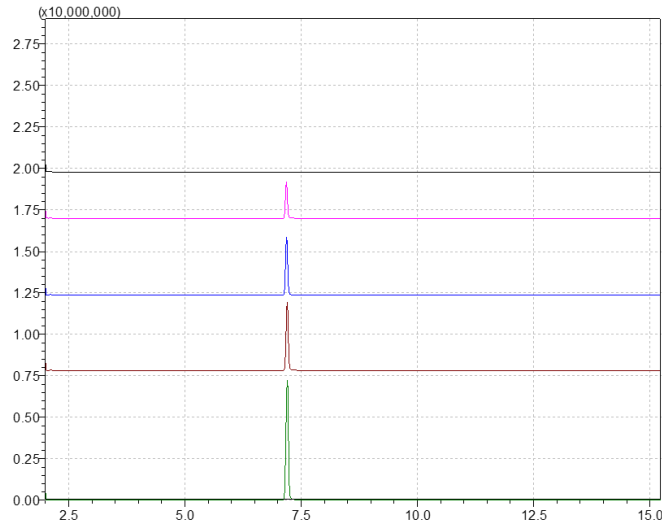
Gambar 2. Kromatogram deret larutan baku suhu injeksi 200 °C



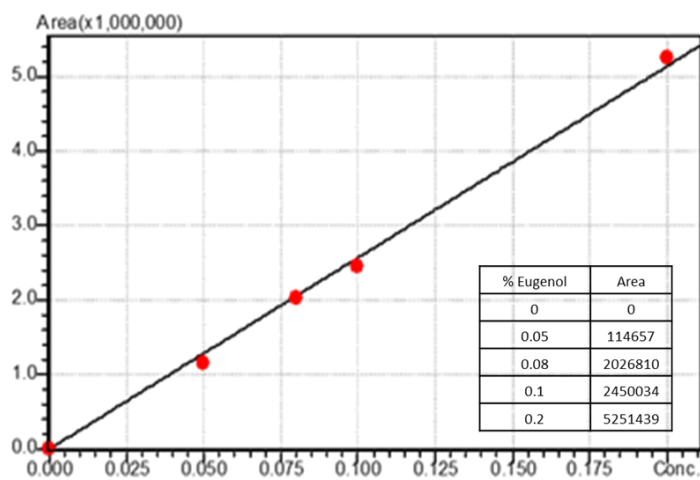
Gambar 3. Kurva regresi deret larutan baku suhu injeksi 200 °C

2. Pengujian dengan Suhu Injeksi 254 °C

Dalam pengujian suhu injeksi 254 °C puncak eugenol muncul pada menit 7,202 dengan nilai m/z 164 dengan nama lain *PHENOL, 2-METHOXY-3-(2-PROPENYL)* diperoleh rumus regresi linear $Y = 25717807.022935^x$ dengan nilai $R^2 = 0,9990$ yang sudah memenuhi untuk standar regresi.



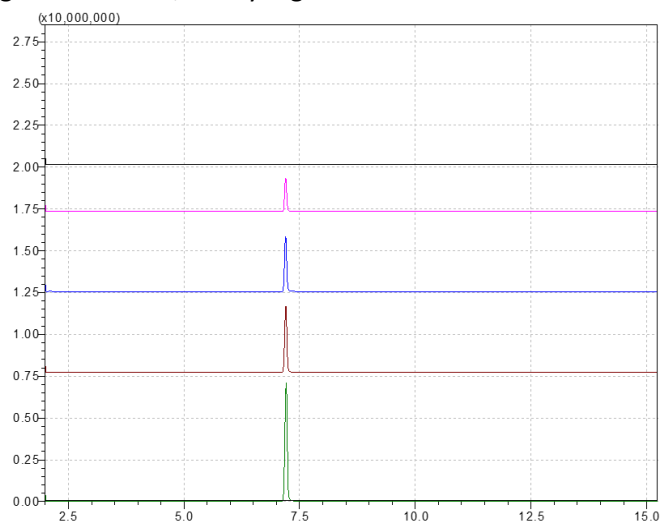
Gambar 4. Kromatogram deret larutan baku suhu injeksi 254 °C



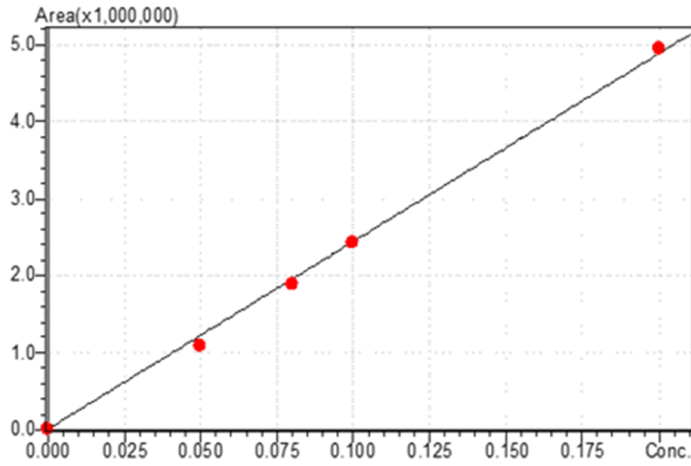
Gambar 5. Kurva regresi deret larutan baku suhu injeksi 254 °C

3. Pengujian dengan Suhu Injeksi 280 °C

Dalam pengujian suhu injeksi 280 °C puncak eugenol muncul pada menit 7,2 dengan nilai m/z 164 dengan nama lain *PHENOL, 2-METHOXY-3-(2-PROPENYL)* diperoleh rumus regresi linear $Y = 24390845.918229^X$ dengan nilai $R^2 = 0,9993$ yang sudah memenuhi untuk standar regresi.



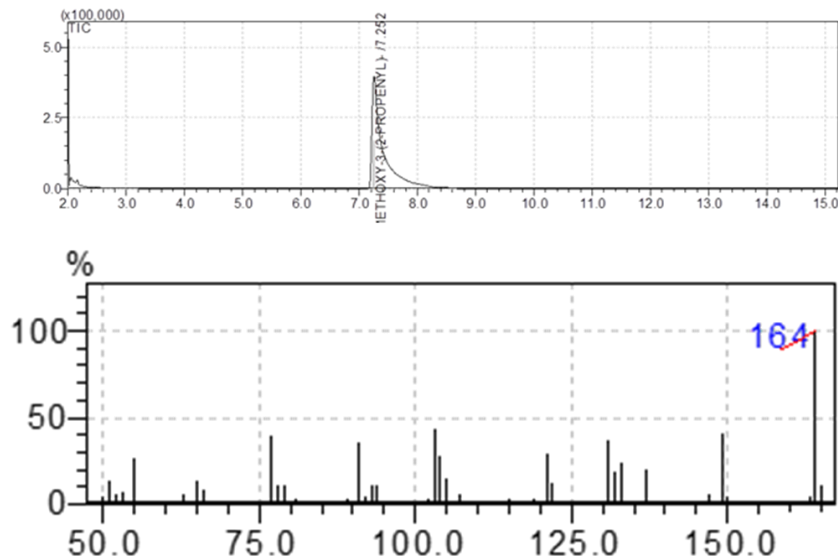
Gambar 6. Kromatogram deret larutan baku suhu injeksi 280 °C



Gambar 7. Kurva regresi deret larutan baku suhu injeksi 280 °C

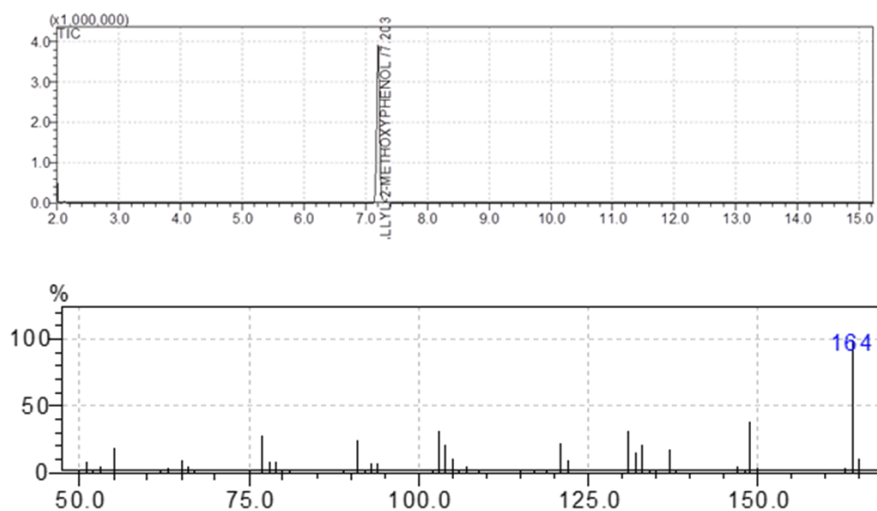
4. Penentuan Kadar Larutan Baku Eugenol

Dari ketiga hasil metode variasi suhu injeksi pengujian GC-MS dilakukan pengujian larutan baku eugenol yang sudah diketahui kadarnya 0,08%. ketiganya dilakukan dengan menggunakan volume yang sama.



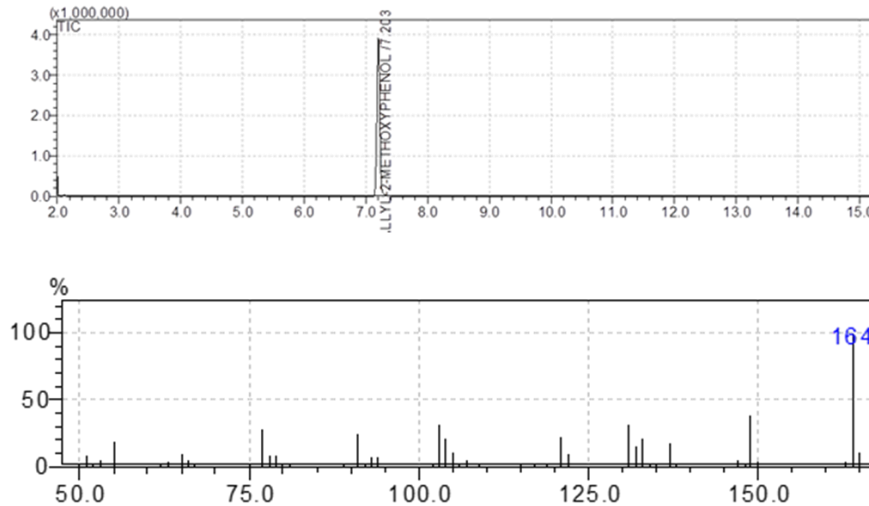
Gambar 8. Hasil Kromatogram dan MS larutan baku 0,08% suhu injeksi 200 °C

Pada suhu injeksi 200 °C, larutan baku Eugenol yang sudah diketahui kadarnya 0,08% ketika dilakukan pengujian hasil yang diperoleh yaitu 0,08442% yang mendekati nilai sesungguhnya larutan baku tersebut.



Gambar 9. Hasil Kromatogram dan MS larutan baku 0,08% suhu injeksi 254 °C

Pada suhu injeksi 254 °C, larutan baku Eugenol yang sudah diketahui kadarnya 0,08% ketika dilakukan pengujian hasil yang diperoleh yaitu 0,0903% yang berbeda dengan nilai sesungguhnya larutan baku tersebut.

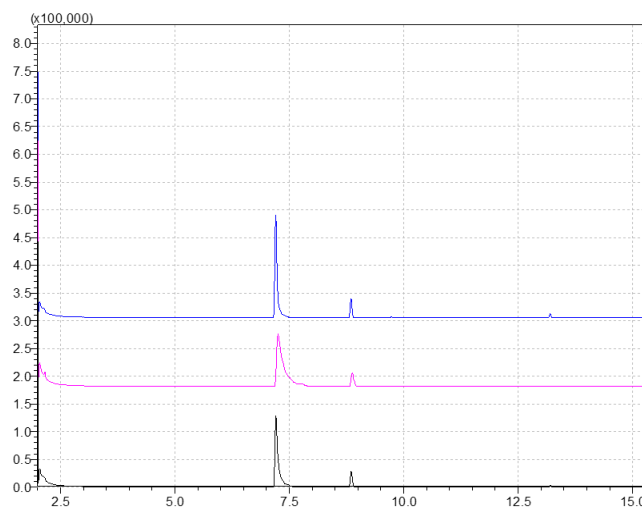


Gambar 10. Hasil Kromatogram dan MS larutan baku 0,08% suhu injeksi 280 °C

Pada suhu injeksi 280 °C, larutan baku Eugenol yang sudah diketahui kadarnya 0,08% ketika dilakukan pengujian hasil yang diperoleh yaitu 0,0923% yang berbeda dengan nilai sesungguhnya larutan baku tersebut. Dari variasi ketiga metode suhu injeksi yang digunakan, suhu injeksi yang menghasilkan nilai yang hampir sama dengan nilai larutan baku eugenol 0,08% adalah metode dengan suhu injeksi 200 °C. Pada suhu injeksi 200 °C menghasilkan nilai yg mendekati nilai sesungguhnya dikarenakan pada suhu injeksi 200 °C merupakan suhu dibawah suhu titik didih eugenol yaitu 254 °C ("Eugenol," 2022) sehingga ketika sampel diinjeksikan belum mengalami peruraian akibat panas dan hasil yang diperoleh optimal ketika mencapai kolom. Pada suhu injeksi 254 dan 280 °C menunjukkan hasil yang berbeda dengan kadar sesungguhnya larutan baku dikarenakan suhu injeksi yang sama atau lebih tinggi dari titik didih eugenol yang dapat menguapkan sampel terlebih dahulu sebelum sampel mencapai kolom dan menyebabkan peruraian.

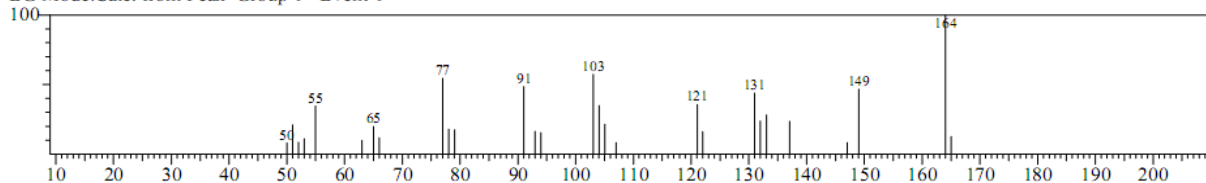
5. Pengujian Minyak Cengkeh

Setelah diperoleh suhu injeksi paling optimal pada suhu 200 °C, maka dilakukan penentuan kadar eugenol pada minyak cengkeh yang ada dipasaran dengan metode tersebut. Sampel berwarna coklat jernih dengan bau khas, sampel kemudian diencerkan menggunakan pelarut Acetone PA dengan faktor pengenceran 1250x.



Gambar 11. Kromatogram minyak cengkeh pada suhu injeksi 200 °C

Line#:1 R.Time:7.250(Scan#:631) MassPeaks:28
 RawMode:Averaged 7.242-7.258(630-632) BasePeak:164.05(13122)
 BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Gambar 12. Hasil MS Minyak Cengkeh

Dari kromatogram yang diperoleh menunjukkan puncak Eugenol muncul pada menit 7,25. selain itu juga muncul puncak *BICYCLO [7.2.0] UNDEC-4-ENE, 4,11,11-TRIMETHYL-8-METHYLENE* atau nama lainnya *Beta-caryophyllene* yang merupakan golongan terpena yang sering ditemukan pada tanaman cengkeh atau lada.

Tabel 3. Hasil pengujian konsentrasi minyak cengkeh.

Sampel	% (b/v)
Minyak Cengkeh 1	0.0143
Minyak Cengkeh 2	0.0196
Minyak Cengkeh 3	0.0165

Dari hasil pengujian tersebut diperoleh kadar eugenol minyak cengkeh dengan nilai yang hampir sama, dengan nilai rata-rata sebesar 0,0168 %.

$$\% \text{ Kadar minyak cengkeh} = \% \text{ Area Kromatogram} \times \text{Faktor pengenceran}$$

Untuk kadar eugenol minyak cengkeh apabila dikalikan dengan faktor pengenceran maka kadarnya adalah 21%, yang menunjukkan minyak cengkeh tersebut memiliki kualitas yang rendah karena kadar eugenolnya yang rendah.

KESIMPULAN

Dari ketiga variasi suhu injeksi untuk penentuan kadar eugenol dengan alat GC-MS, metode yang paling optimal adalah suhu injeksi 200 °C karena menghasilkan nilai yang paling mendekati kadar sesungguhnya larutan baku 0,08% yaitu 0,08442%. Penentuan kadar eugenol pada minyak cengkeh komersial dengan metode pengujian GC-MS dengan suhu injeksi 200 °C menunjukkan kadar 21% yang berarti minyak cengkeh tersebut berkualitas rendah.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh dana intenal UM tahun 2023 dengan no kontrak 5.4.910/UN32.20.1/LT/2023. Ucapan terimakasih kami ucapkan kepada lembaga kami Universitas Negeri Malang (UM), Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat UM, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UM, dan Laboratorium Mineral dan Material Maju FMIPA UM.

DAFTAR PUSTAKA

Aprilia, S. A., Wonorahardjo, S., & Utomo, Y. (2023). Analysis of Flavor in Roasted Coffee Using Temperature Programmable Injection (TPI) at GC/MS Method. *EKSAKTA: Journal of Sciences and Data Analysis*, 46–53.

Athar, M. T., Tamboli, E. T., Ansari, S. H., & Ahmad, S. (2013). Quantification of eugenol in hydro-distilled clove oil (*Eugenia caryophyllus*) and its marketed products by validated GC-MS method. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 19(4), 365–376.

Corporation, S. (2006). *Gas Chromatograph/ Mass Spectrometer GCMS-QP2010 System User’s Guide for GCMS solution*.

Eugenol. (2022). In *Wikipedia*. <https://en.wikipedia.org/w/index.php?title=Eugenol&oldid=1126636193>

- Harnani, E. D., Da'i, M., & Munawaroh, R. (2010). *Perbandingan kadar eugenol minyak atsiri bunga cengkeh (Syzygium aromaticum (L.) Meer. & Perry) dari maluku, sumatera, sulawesi, dan jawa dengan metode gc-ms.*
- Munawaroh, R. (2010). Perbandingan Kadar Eugenol Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium Aromaticum* (L.) Meer. & Perry) Dari Maluku, Sumatera, Sulawesi, Dan Jawa Dengan Metode Gc-ms. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 11(1), 25–32.
- Putri, R. L., Hidayat, N., & Rahmah, N. L. (2014). *Pemurnian Eugenol dari Minyak Daun Cengkeh dengan Reaktan Basa Kuat KOH dan Ba(OH)₂ (Kajian Konsentrasi Reaktan).* 3(1).
- Riyanto, F. D. (2013). Penetapan kadar etanol dan profil senyawa yang terdapat dalam hasil produksi “ciu” rumahan dusun Sentul desa Bekonang Kabupaten Sukoharjo dengan metode Kromatografi Gas. *Naskah Skripsi S, 1.*
- SNI 06-4267-1996 *Minyak Bunga Cengkeh*—[PDF Document]. (n.d.). fdokumen.com. Retrieved February 1, 2023, from <https://fdokumen.com/document/sni-06-4267-1996-minyak-bunga-cengkeh.html>
- Wu, S., Lv, G., & Lou, R. (2012). Applications of Chromatography Hyphenated Techniques in the Field of Lignin Pyrolysis. In R. Davarnejad (Ed.), *Applications of Gas Chromatography*. InTech. <https://doi.org/10.5772/32446>