



Variasi Konsentrasi Senyawa Fitokimia Sirih Merah Dan Pelarut Heksana Menggunakan Gas Chromatography – Mass Spectrometry

Ardiansyah*, Ardian Trio Wicaksono

Tadris Kimia, Universitas Islam Negeri Antasari Banjarmasin, Indonesia

*e-mail: ansyahardi2001@gmail.com

Info Artikel

Genesis Artikel:

Received: 12 Desember 2023

Accepted: 24 Juli 2024

Published: 26 Juli 2024

Keywords:

GC-MS; GC-MS analysis; red betel

Kata Kunci:

Analisis GC-MS; GC-MS; Sirih Merah

DOI: 10.18592/ak.v3i2.11752

ABSTRACT

This study aims to optimize the method of determining phytochemical compounds in red betel (*Piper crocatum*) using maceration technique with n-hexane solvent and Gas Chromatography - Mass Spectrometry (GC-MS) through various concentration variations. Red betel is known to have phytochemical compounds that have potential in the development of extraction methods. In-depth analysis is needed for a more comprehensive understanding of the chemical composition of this plant, especially considering variations in concentration in the sample. Research on the phytochemical composition of red betel becomes very important in an effort to understand its potential in health and other herbal products. Red betel leaves were pulverized and extracted with n-hexane solvent through maceration method. Furthermore, concentration variations (volume/volume) were carried out on the resulting extract solution. Then, GC-MS analysis was carried out on each concentration variation to obtain a phytochemical compound profile. The results showed that maceration method with n-hexane solvent was effective in extracting phytochemical compounds from red betel. The right concentration variation is 400/1000 to 600/1000. Concentration variation in GC-MS analysis provides additional information on the response of compounds to changes in concentration thus enriching our understanding of the chemical composition of this plant. These results are expected to support further understanding of the utilization of betel nut.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk optimalisasi metode penetapan senyawa fitokimia dalam sirih merah (*Piper crocatum*) menggunakan teknik maserasi dengan pelarut n-heksana dan Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) melalui berbagai variasi konsentrasi. Sirih merah dikenal memiliki senyawa fitokimia sehingga berpotensi dalam pengembangan metode ekstraksi. Diperlukan analisis yang mendalam untuk pemahaman yang lebih komprehensif terhadap komposisi kimia tanaman ini terutama mempertimbangkan variasi konsentrasi dalam sampel. Penelitian terhadap komposisi fitokimia dalam sirih merah menjadi sangat penting dalam upaya memahami potensinya pada kesehatan dan produk

herbal lainnya. Daun sirih merah dihaluskan dan diekstraksi dengan pelarut n-heksana melalui metode maserasi. Selanjutnya dilakukan variasi konsentrasi (volume/volume) pada larutan ekstrak yang dihasilkan. Kemudian, dilakukan analisis GC-MS pada setiap variasi konsentrasi untuk memperoleh profil senyawa fitokimia. Hasil penelitian menunjukkan bahwa metode maserasi dengan pelarut n-heksana efektif dalam mengekstraksi senyawa-senyawa fitokimia dari sirih merah. Variasi konsentrasi yang tepat pada 400/1000 sampai dengan 600/1000. Variasi konsentrasi dalam analisis GC-MS memberikan informasi tambahan mengenai respons senyawa-senyawa terhadap perubahan konsentrasi sehingga memperkaya pemahaman kita tentang komposisi kimia tanaman ini. Hasil ini diharapkan dapat mendukung pemahaman lebih lanjut tentang pemanfaatan sirih merah secara optimal dalam bidang penelitian, praktikum, farmasi dan produk kesehatan berbasis herbal.

© 2024 Tadris Biologi, Tadris Fisika, Tadris Kimia, FTK UIN Antasari Banjarmasin.

PENDAHULUAN

Sirih merah (*Piper crocatum*) merupakan tanaman herbal yang telah lama dimanfaatkan secara tradisional di Provinsi Kalimantan Selatan karena potensinya dalam bidang kesehatan. Sirih merah dikenal mengandung beragam senyawa fitokimia, termasuk alkaloid, flavonoid, tannin, dan senyawa-senyawa lainnya yang memiliki aktivitas biologis bermanfaat (Gong dkk., 2021; Lister dkk., 2019; Stianto dkk., 2018; Suri dkk., 2021). Antioksidan sirih merah dapat menunjukkan efektivitasnya dalam mengurangi stres oksidatif sehingga mendukung penggunaannya dalam pengobatan tradisional untuk meningkatkan kesehatan secara keseluruhan (Fatmawaty dkk., 2019). Penelitian terhadap komposisi fitokimia dalam sirih merah menjadi sangat penting dalam upaya memahami potensi kesehatan dan aplikasinya dalam pengembangan produk-produk berbasis herbal .

Heksana merupakan pelarut non polar yang bersifat stabil dan mudah menguap, bersifat selektif dalam melarutkan dan mengekstrak zat dalam jumlah besar (Munawaroh dkk., 2010). Selain itu, heksana dapat memisahkan antara minyak dengan pelarutnya sehingga dapat diketahui dengan jelas perbedaan antara minyak dan pelarut yang digunakan (Hadi, 2012).

Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) merupakan teknik analisis yang sangat berguna untuk mengidentifikasi dan mengukur senyawa-senyawa kimia kompleks dalam sampel (Nuriah dkk., 2023). Dalam konteks sirih merah, analisis GC-MS dapat memberikan informasi yang rinci mengenai profil fitokimia tanaman ini. Namun, untuk memastikan hasil analisis yang akurat dan dapat diandalkan, perlu dilakukan optimasi metode analisis, terutama dengan mempertimbangkan variasi konsentrasi dalam sampel (Puspita dkk., 2019).

Variasi konsentrasi senyawa fitokimia dalam sirih merah dapat mempengaruhi intensitas puncak yang dihasilkan oleh GC-MS (Madhumita dkk., 2019). Konsentrasi yang digunakan dalam analisis fitokimia dengan GC-MS dapat bervariasi secara signifikan tergantung pada karakteristik sampel dan tujuan spesifik dari analisis tersebut sehingga tidak ada konsentrasi universal yang berlaku untuk semua jenis analisis fitokimia menggunakan GC-MS. Sebagai contoh penelitian oleh Enerijiofi dkk. yang menggunakan ekstrak daun Moringa oleifera

dengan konsentrasi hingga 50 mg/mL untuk analisis fitokimia menggunakan GC-MS (Enerijiofi dkk., 2021). Sedangkan dari penelitian yang lainnya menggunakan ekstrak daun *Jacaranda mimosifolia* dengan konsentrasi 1/100 (v/v) yang diinjeksikan ke dalam sistem GC-MS (Naz dkk., 2020).

Konsentrasi yang terlalu rendah membuat intensitas yang dihasilkan terlalu rendah sehingga sulit untuk dianalisis. Sedangkan konsentrasi terlalu tinggi dapat menyebabkan kolom tersumbat sehingga membuat alat instrumen sering memerlukan perawatan (Tian dkk., 2014). Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan variasi volume pelarut pada penetapan senyawa fitokimia dalam sirih merah menggunakan GC-MS dengan melakukan variasi konsentrasi. Hasil analisis dapat mencerminkan secara akurat kandungan fitokimia dalam berbagai tingkat konsentrasi, sehingga memberikan gambaran yang lebih lengkap dan akurat tentang komposisi kimia tanaman ini (Granquist dkk., 2019).

Keberhasilan optimasi metode analisis GC-MS ini akan membawa dampak positif pada pemahaman tentang profil fitokimia sirih merah (Irawan dkk., 2024). Selain itu, metode dengan variasi konsentrasi senyawa juga dapat meningkatkan validitas hasil penelitian dan praktikum, membuka potensi aplikasi lebih lanjut dalam pengembangan produk-produk herbal atau farmasi berbasis sirih merah (Januarti dkk., 2019). Oleh karena itu, penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan penting dalam pengembangan ilmu pengetahuan dan pemanfaatan optimal sumber daya alam.

Berdasarkan pembahasan yang disampaikan sebelumnya, maka tujuan dari penelitian ini adalah penentuan konsentrasi melalui variasi pelarut senyawa fitokimia dalam sirih merah (*Piper crocatum*) dan pelarut n-heksana menggunakan teknik maserasi dengan Gas Chromatography – Mass Spectrometry (GC-MS) untuk mengoptimalkan metode penetapan senyawa fitokimia dalam sirih merah menggunakan GC-MS dengan melakukan variasi konsentrasi.

METODE

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sirih merah, metanol, dan heksana. Langkah pertama daun sirih merah dicuci, kemudian dipotong dan dijemur di bawah sinar matahari selama 2 hari. Kemudian daun dihaluskan hingga menjadi serbuk. 2,5 g serbuk daun sirih merah dan selanjutnya dimaserasi dengan 100 mL metanol selama 7 hari. Selanjutnya campuran daun sirih merah disaring dan filtrat diekstraksi dengan n-heksana dengan perbandingan 1:1 kemudian dipisahkan dengan corong pisah. Ekstrak n-heksana daun sirih merah diencerkan dengan n-heksana. Perbandingan volume seperti terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perbandingan Volume Ekstrak Daun Sirih Merah dan Heksana

Label	Volume ekstrak daun sirih merah (μL)	Volume heksana (μL)
A1	200	800
A2	400	600
A3	600	400

Setiap sampel diuji dengan GC-MS (Thermo Scientific). Kolom kapiler TG1-MS (30 m 0,25 mm 0,25 mm) digunakan pada kondisi berikut: suhu oven diprogram dari 70°C selama 10 menit, kemudian secara bertahap dinaikkan menjadi 290°C selama 3 menit; suhu injector 250°C; gas pembawa Helium, laju alir 1 mL/menit; volume sampel yang disuntikkan adalah 0,4 mL; split rasio 1:60; energi ionisasi 70 eV; Waktu berjalan 40 menit (Barupal dkk., 2019). Hasil dari setiap sampel dianalisis dan dibandingkan area setiap puncak hasil GC-MS untuk mendapatkan kondisi yang tepat.

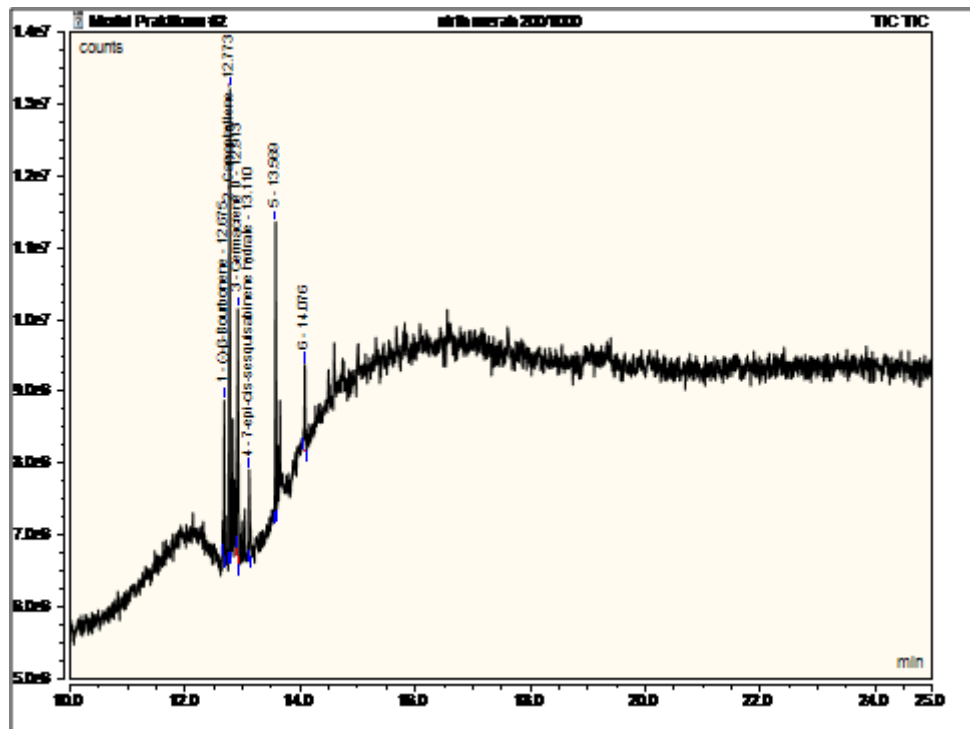
HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil dari pengukuran dengan GC-MS terhadap A1, A2, A3 dapat dilihat secara berturut-turut pada Gambar 1, Gambar 2, Gambar 3, dan Gambar 4.

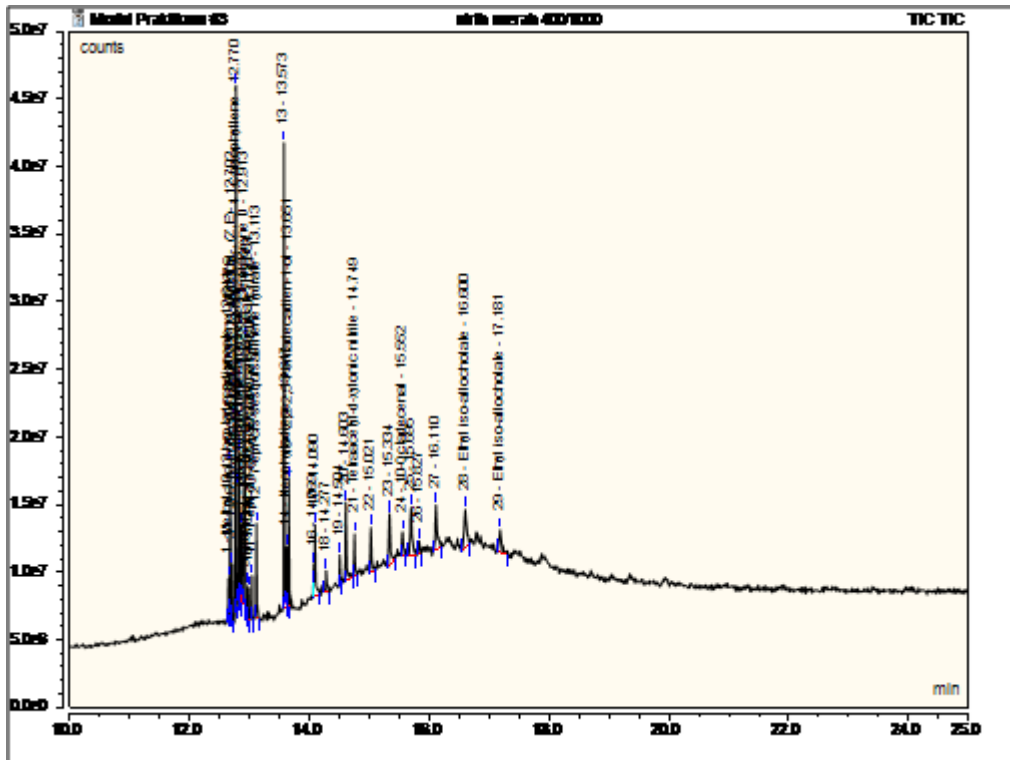
Spektrum GC-MS dari berbagai variasi konsentrasi menghasilkan puncak-puncak utama yang dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Puncak Utama Spektrum GC-MS Variasi Konsentrasi

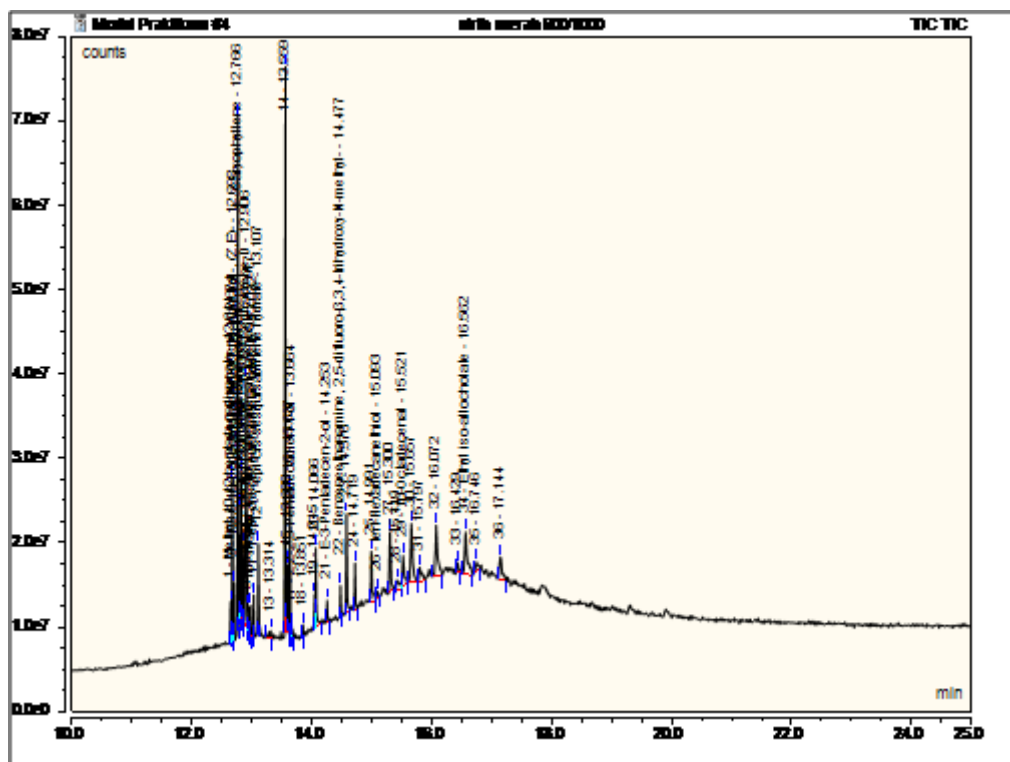
Label	Nama Senyawa Puncak
A1	(-)- β -Bourbonene, Caryophyllene, Germacrene D, dan 7-epi-cis-sesquisabinene hydrate
A2	(-)- β -Bourbonene, 1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (Z,E)-, 10-Octadecenal, 7-epi-cis-sesquisabinene hydrate, Caryophyllene, cis- α -Bisabolene, cis- β -Farnesene, Ethyl iso-allocholate, Germacrene D, Methyl 10,12-heptadecadiynoate, Methyl 4,7,10,13-hexadecatetraenoate, Neophytadiene, Retinal, Tetraacetyl-d-xylonic nitrile, Z,Z-2,5-Pentadecadien-1-ol.
A3	(-)- β -Bourbonene, 1,3,6,10-Dodecatetraene, 3,7,11-trimethyl-, (Z,E)-, 10-Octadecenal, 7-epi-cis-sesquisabinene hydrate, Benzeneethanamine, 2,5-difluoro- β ,3,4-trihydroxy-N-methyl-, Caryophyllene, cis- α -Bisabolene, cis- β -Farnesene, E-3-Pentadecen-2-ol, Ethyl iso-allocholate, Germacrene D, Methyl 10,12-heptadecadiynoate, Methyl 4,7,10,13-hexadecatetraenoate, Retinal, tert-Hexadecanethiol, Z,Z-2,5-Pentadecadien-1-ol



Gambar 1. Spektrum GC-MS Sirih Merah A1 (Volume Ekstrak Daun Sirih Merah 200 μ L dan Volume Heksana 800 μ L)



Gambar 2. Spektrum GC-MS Sirih Merah A2 (Volume Ekstrak Daun Sirih Merah 400 μ L dan Volume Heksana 600 μ L)



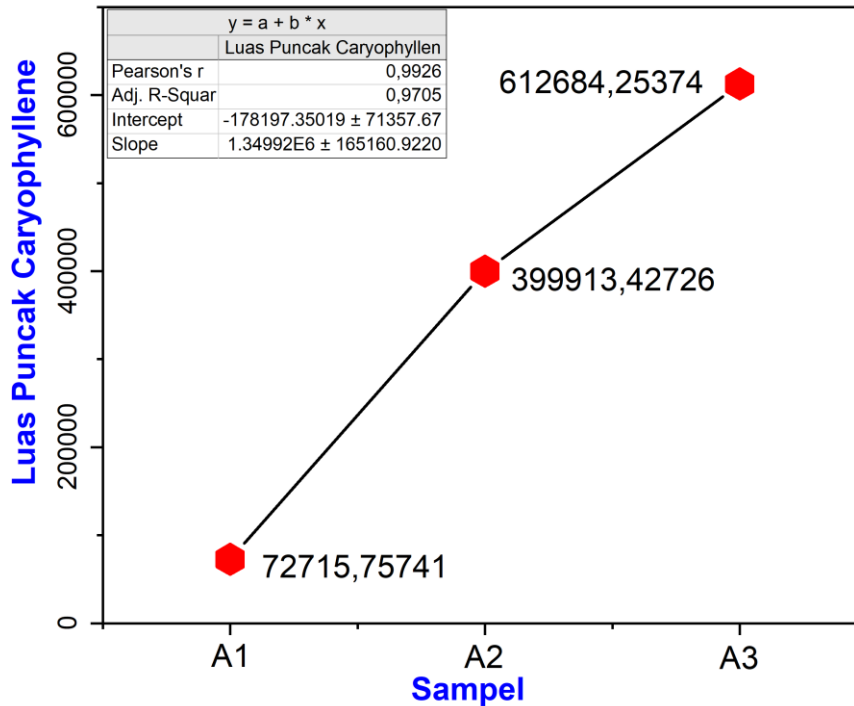
Gambar 3. Spektrum GC-MS Sirih Merah A3 (Volume Ekstrak Daun Sirih Merah 600 μ L dan Volume Heksana 400 μ L)

Melihat dari profil spektrum yang dihasilkan, sampel A1 mendeteksi senyawa yang paling sedikit. Hal ini dimungkinkan karena konsentrasi sampel A1 yang kurang pekat.

Sehingga konsentrasi 200/1000 tidak menjadi pertimbangan untuk sebagai konsentrasi yang tepat.

Spektrum-spektrum hasil pengukuran GC-MS didapatkan bahwa sirih merah mengandung senyawa khas yaitu Caryophyllene (Purnama dkk., 2023). Senyawa ini merupakan minyak atsiri yang bermanfaat bagi kesehatan berupa antibakteri, antioksidan, antiinflamasi, antijamur dan kemampuan pembunuh serangga (Al-Tae dkk., 2019; Keylla da Conceição Machado dkk., 2018).

Perbandingan luas puncak Caryophyllene dalam berbagai sampel dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Spektrum GC-MS Sirih Merah A1

Grafik perbandingan luas puncak caryophyllene mengikuti grafik regresi linier dengan nilai r^2 sebesar 0,9705. Hal ini menandakan bahwa semakin tinggi konsentrasi, semakin luas juga puncak yang dihasilkan oleh GC-MS. Dengan demikian, konsentrasi (volume/volume) 400/1000 sampai dengan 600/1000 dapat dijadikan pilihan penetapan konsentrasi sampel menggunakan GC-MS karena menghasilkan banyak puncak untuk diidentifikasi. Jika kondisi dikontrol dengan baik, luas puncak bervariasi secara linear terhadap konsentrasi (Skoog dkk., 2014).

SIMPULAN

Konsentrasi (volume/volume) 400/1000 sampai dengan 600/1000 merupakan konsentrasi yang tepat untuk mendeteksi senyawa aktif yang terkandung dalam sirih merah dengan menggunakan alat GC-MS dan kolom TG1-MS. Dengan demikian, dapat disarankan untuk penelitian selanjutnya menggunakan bahan-bahan tradisional lainnya dan dapat dianalisis dengan metode yang sama dalam penelitian ini untuk menentukan konsentrasi yang tepat.

REFERENSI

- Al-Tae, H., Azimullah, S., Meeran, M. F. N., Alaraj Almheiri, M. K., Al Jasmi, R. A., Tariq, S., AB Khan, M., Adeghate, E., & Ojha, S. (2019). β -caryophyllene, a dietary phytocannabinoid attenuates oxidative stress, inflammation, apoptosis and prevents structural alterations of the myocardium against doxorubicin-induced acute cardiotoxicity in rats: An in vitro and in vivo study. *European Journal of Pharmacology*, 858, 172467. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172467>
- Barupal, T., Meena, M., & Sharma, K. (2019). Inhibitory effects of leaf extract of *Lawsonia inermis* on *Curvularia lunata* and characterization of novel inhibitory compounds by GC–MS analysis. *Biotechnology Reports*, 23, e00335. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2019.e00335>
- Enerijiofi, K. E., Akapo, F. H., & Erhabor, J. O. (2021). GC–MS analysis and antibacterial activities of *Moringa oleifera* leaf extracts on selected clinical bacterial isolates. *Bulletin of the National Research Centre*, 45(1), 179. <https://doi.org/10.1186/s42269-021-00640-9>
- Fatmawaty, F., Anggreni, N. G. M., Fadhil, N., & Prasasty, V. D. (2019). Potential In Vitro and In Vivo Antioxidant Activities from *Piper Crocatum* and *Persea Americana* Leaf Extracts. *Biomedical and Pharmacology Journal*, 12(2), 661–667. <https://doi.org/10.13005/bpj/1686>
- Gong, Y., Li, H. X., Guo, R. H., Widowati, W., Kim, Y. H., Yang, S. Y., & Kim, Y. R. (2021). Anti-allergic Inflammatory Components from the Leaves of *Piper crocatum* Ruiz & Pav. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 44(2), 245–250. <https://doi.org/10.1248/bpb.b20-00726>
- Granquist, L., Carlsson, A., Jonson, S., Andersson, K., Karlsson, P., Dahlén, J., & Dunne, S. (2019). Optimization of peak area precision of a GC–MS drug screening method using a nonparametric sign test. *Accreditation and Quality Assurance*, 24(3), 215–226. <https://doi.org/10.1007/s00769-019-01376-w>
- Hadi, S. (2012). Pengambilan Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (Clove Oil) menggunakan Pelarutan-Heksana dan Bezena. *Jurnal Bahan Alam Terbarukan*, 1(2), 25–30.
- Irawan, C., Tambunan, J. A., Rachmy, S., Putri, I. D., Rosalina, & Suhartini. (2024). Phytochemical Analysis of Red Betel (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Stem Extracts and its Antioxidant and Alpha-Glucosidase Inhibitory Potentials. *Tropical Journal of Natural Product Research*, 8(4). <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i4.42>
- Januarti, I. B., Wijayanti, R., Wahyuningsih, S., & Nisa, Z. (2019). Potensi Ekstrak Terpurifikasi Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) Sebagai Antioksidan Dan Antibakteri. *JPSCR : Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 4(2), 60. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v4i2.27206>
- Keylla da Conceição Machado, Muhammad Torequl Islam, Eunüs S. Ali, Razina Rouf, Shaikh Jamal Uddin, Shrabanti Dev, Jamil A. Shilpi, Manik Chandra Shill, Hasan Mahmud Reza, Asish Kumar Das, Subrata Shaw, Mohammad S. Mubarak, Siddhartha Kumar Mishra, & Ana Amelia de Carvalho Melo-Cavalcante. (2018). Phytotherapy Research | Medicinal Chemistry Journal | Wiley Online Library. *A systematic review on the*

neuroprotective perspectives of beta-caryophyllene, 32, 2376–2388.
<https://doi.org/10.1002/ptr.6199>

- Lister, I. N. E., Ginting, C. N., Girsang, E., Armansyah, A., Marpaung, H. H., Sinaga, A. P. F., Handayani, R. A. S., & Rizal, R. (2019). Antioxidant Properties of Red Betel (*Piper crocatum*) Leaf Extract and Its Compounds. *Journal of Natural Remedies*, 198–205. <https://doi.org/10.18311/jnr/2019/23633>
- Madhumita, M., Guha, P., & Nag, A. (2019). Extraction of betel leaves (*Piper betle* L.) essential oil and its bio-actives identification: Process optimization, GC-MS analysis and antimicrobial activity. *Industrial Crops and Products*, 138, 111578. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111578>
- Naz, R., Roberts, T. H., Bano, A., Nosheen, A., Yasmin, H., Hassan, M. N., Keyani, R., Ullah, S., Khan, W., & Anwar, Z. (2020). GC-MS analysis, antimicrobial, antioxidant, antilipoxygenase and cytotoxic activities of *Jacaranda mimosifolia* methanol leaf extracts and fractions. *PLOS ONE*, 15(7), e0236319. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236319>
- Nuriah, S., Putri, M. D., Rahayu, S., Advaita, C. V., Nurfadhila, L., & Utami, M. R. (2023). Analisis Kualitatif Senyawa Parasetamol Pada Sampel Biologis Menggunakan Metode Gas Chromatography—Mass Spectrometry (GC-MS). *Journal of Pharmaceutical and Sciences*, 6(2), 795–803. <https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v6i2.158>
- Purnama, E. W., Safithri, M., & Andrianto, D. (2023). Clusterization of Red Betel Leaves (*Piper Crocatum*) from Various Regions in Indonesia Based on Secondary Metabolite Fingerprint Analysis and Cytotoxicity Values. *Indonesian Journal of Applied Research (IJAR)*, 4(2), Article 2. <https://doi.org/10.30997/ijar.v4i2.293>
- Puspita, P. J., Safithri, M., & Sugiharti, N. P. (2019). Antibacterial Activities of Sirih Merah (*Piper crocatum*) Leaf Extracts. *Current Biochemistry*, 5(3), 1–10. <https://doi.org/10.29244/cb.5.3.1-10>
- Skoog, D. A., West, D. M., Holler, F. J., & Crouch, S. R. (2014). *Fundamentals of Analytical Chemistry, Ninth Edition* (ninth). Mary Finch.
- Stianto, M., Peristiowati, Y., & Farida, S. (2018). The Benefits of Red Betel Leaf Extract for Perineal Wound Healing in BPM Rini District Kediri. *Journal for Quality in Public Health*, 1(2), 58–66. <https://doi.org/10.30994/jqph.v1i2.18>
- Suri, M. A., Azizah, Z., & Asra, R. (2021). A Review: Traditional Use, Phytochemical and Pharmacological Review of Red Betel Leaves (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav). *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development*, 9(1), 159–163. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v9i1.926>
- Tian, J., Chen, G., & He, Z. (2014). Overcoming Matrix Effects: GC Method Development for the Determination of Triethylamine and Dimethyl Sulfoxide in a Drug Substance. *Journal of Chromatographic Science*, 52(1), 36–41. <https://doi.org/10.1093/chromsci/bms201>