

Bab VI Hasil dan Pembahasan

VI.1 Peparasi Sampel

VI.1.1 Pemilihan Bahan Baku

Bahan baku yang digunakan dalam penelitian yang dilakukan yaitu menggunakan biji lada putih yang di ambil dari 4 asal yang berbeda yaitu pulau kalimantan, pulau Sumatra, pulau Sulawesi dan pulau Jawa yang diambil melalui pembelian online, lada putih yang digunakan adalah biji lada putih yang sudah terpisah dari kulit biji lada putih.

VI.1.2 Determinasi Tanaman

Lada putih yang digunakan pada tiap pulau yaitu dengan jenis *Piper nigrum L.* yang dibuktikan melalui hasil determinasi tanaman lada putih yang dilakukan di Sekolah Ilmu Teknologi Hayati Institut Teknologi Bandung. Determinasi dilakukan untuk mengidentifikasi kebenaran jenis tanaman yang akan digunakan sebagai bahan penelitian. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

VI.2 Penyulingan Minyak Atsiri Lada Putih

Minyak atsiri lada putih merupakan salah satu minyak atsiri yang dihasilkan melalui proses penyulingan. Proses penyulingan minyak atsiri berwarna jernih dan bau khas minyak lada. Penyulingan minyak atsiri lada putih ini dilakukan dengan menggunakan metode destilasi uap air. Cara ini mirip dengan sistem rebus, hanya saja bahan baku dan air tidak bersinggungan langsung karena dibatasi

dengan saringan diatas air. Cara ini cukup banyak dilakukan pada dunia industri karena cukup membutuhkan sedikit air sehingga bisa menyingkat waktu proses produksi. Selain itu metode ini memiliki keunggulan lain seperti adanya peristiwa hidrodifusi dimana uap air akan masuk kedalam jaringan sel tanaman lalu mengakibatkan pecahnya dinding sel tanaman sehingga minyak yang terkandung didalam tanaman akan terdorong keluar. Campuran uap air dan minyak atsiri lada putih akan mengalir ke kondensor sehingga terjadi pengembunan dan dihasilkan destilat yang langsung terukur pada tabung berskala. Penyulingan minyak atsiri dilakukan selama 6 jam. Lamanya penyulingan tergantung dari kondisi bahan baku, namun sebagai patokannya dapat dilihat jika kondensat terlihat jernih atau tanpa minyak maka proses penyulingan dapat dihentikan Hasil yang di peroleh tergantung dari sampel itu sendiri serta dapat dipengaruhi oleh sistem uap pada alat destilasi yang kurang maksimum. Alat destilasi uap air yang digunakan sepeeti pada lampiran 2 Gambar 1.

VI.3 Sistem Alat Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (KG-SM).

Kondisi system kromatografi gas spektrometri massa untuk analisis komponen minyak atsiri lada putih berdasarkan literatur penelitian sebelumnya yang dapat dilihat pada tabel VI.1.

Tabel VI.1
Sistem Alat Kromatografi Gas - Spektrometri Massa

No	Kondisi	Keterangan
1	<u>KG</u>	
	Merk alat	<i>Agilent Technologies 7890A</i>
	Kolom	Kolom kapiler HP-5MS, panjang 30 m, diameter dalam 0,25 mm, dan ketebalan lapisan film 0,25 μm yaitu Poli fenil metil siklosan.
	Gas pembawa	Helium, dengan tekanan 100 Kpa dan laju alir 1 $\mu\text{L}/\text{menit}$
	Detektor	MS
	Volume injeksi	1 μL
	Teknik injeksi	Split
	Split ratio	25 : 1
	Program suhu :	
	Suhu injektor	250 $^{\circ}\text{C}$
	Suhu awal	40 $^{\circ}\text{C}$
	Laju kenaikan suhu	10 $^{\circ}\text{C}/\text{menit}$
	Suhu akhir	280 $^{\circ}\text{C}$
	Suhu intersep	280 $^{\circ}\text{C}$
	Suhu detector	250 $^{\circ}\text{C}$
2	<u>MS</u>	
	Merek alat	<i>Agilent Technologies 5975C</i>
	Kisaran massa	40 - 550
	Resolusi	1188

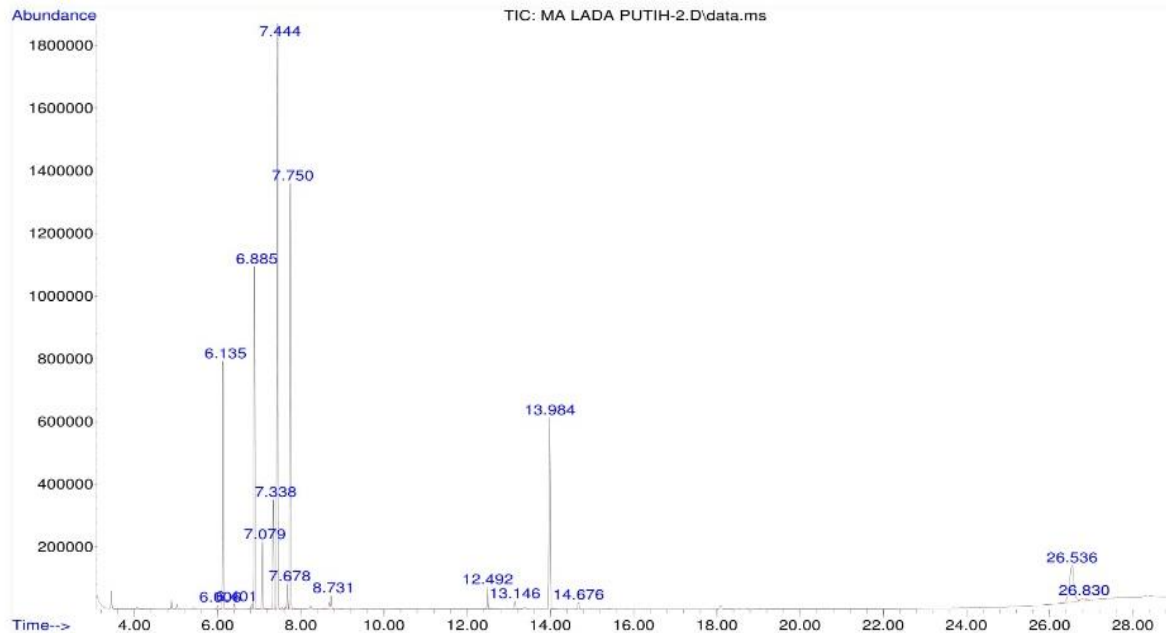
Analisis komponen minyak atsiri dapat dilakukan dengan menggunakan metode *Kromatografi Gas Spektometri Massa* (KG-MS). Metode KG-MS merupakan metode yang paling banyak digunakan untuk mengidentifikasi komponen beberapa minyak atsiri dari beberapa jenis tanaman dan memberikan hasil yang baik. Pada penelitian ini digunakan alat GC dengan merek *Agilent Technologies* 7890A yang digabungkan dengan alat MS dengan merek *Agilent Technologies* 5975C dan dilengkapi dengan *agilent Tecnologies* 7693 *Autosampler* yang merupakan alat injeksi otomatis yang dioperasikan melalui computer. Fase gerak atau gas pembawanya yang digunakan yaitu gas helium karena tujuan awalnya adalah untuk membawa solut ke kolom.

Prinsip dari kromatografi gas-spektometri massa dimana minyak atsiri lada putih hasil destilasi diinjeksikan pada alat KG-SM. Minyak atsiri lada putih kemudian diuapkan dan mengalami pemisahan menjadi fragmen-fragmen dalam campurannya dengan kromatografi gas. Hasil injeksi fragmen-fragmen tersebut akan terbaca oleh detector dalam bentuk *peak* yang mempunyai waktu retensi yang berbeda. Waktu retensi adalah waktu dimana *peak* muncul setelah melewati kolom KG dihitung sejak injeksi sampel. Perbedaan waktu retensi dari tiap senyawa disebabkan oleh perbedaan pemisahan komponen karena perbedaan interaksi tiap senyawa dengan kolom dan suhu yang digunakan. Dan tiap komponen dapat dibuat spektrum massa dengan ketelitian yang lebih tinggi. Hasil pemisahan dengan kromatografi gas dihasilkan

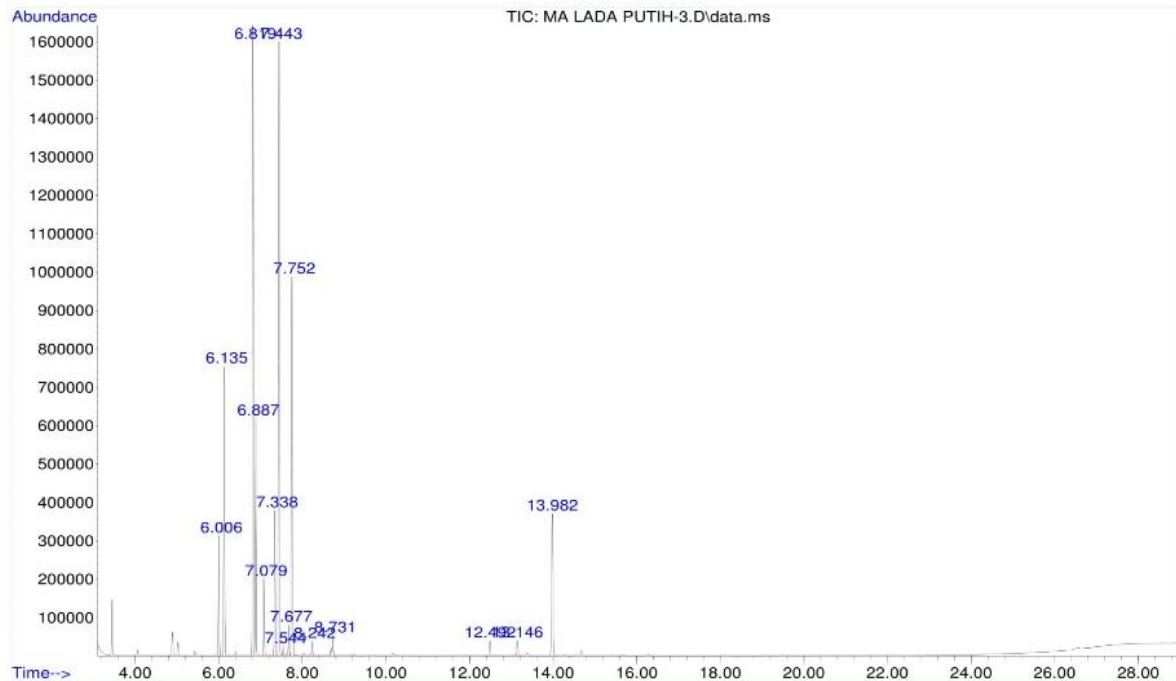
kromatogram sedangkan hasil pemeriksaan spektrometri massa menghasilkan senyawa – senyawa yang disebut spektogram.

VI.4 Analisis Komponen Minyak Atsiri Lada Putih.

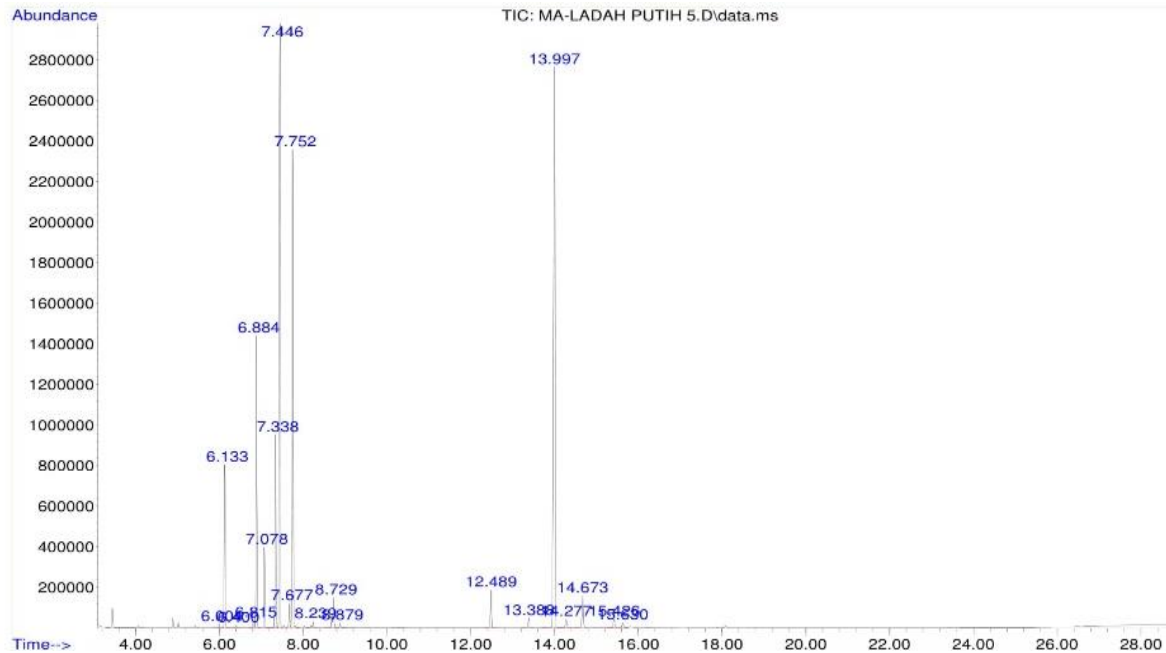
Hasil analisis komponen minyak atsiri lada putih (*Piper nigrum L*) dari 4 sampel biji lada putih yang berasal dari pulau Kalimantan, Pulau Sumatra, Pulau Sulawesi, dan Pulau Jawa dengan menggunakan metode KG-SM menghasilkan suatu kromatogram sebagai berikut :



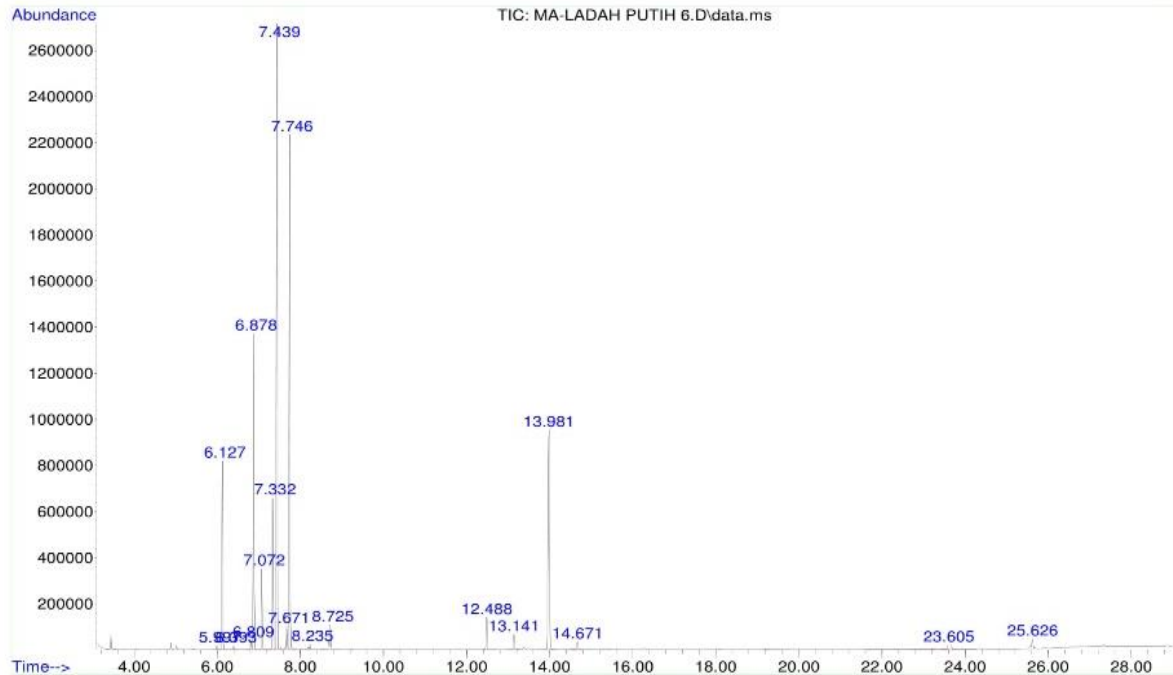
Gambar VI.1: Kromatogram KG Minyak Atsiri Lada Putih Dengan Sampel Biji Lada Putih Kalimantan



Gambar VI.2: Kromatogram KG Minyak Atsiri Lada Putih Dengan Sampel Biji Lada Putih Sumatra



Gambar VI.3: Kromatogram KG Minyak Atsiri Lada Putih Dengan Sampel Biji Lada Putih Sulawesi



Gambar VI.4: Kromatogram KG Minyak Atsiri Lada Putih Dengan Sampel Biji Lada Putih Jawa

Dari analisis komponen minyak atsiri lada putih (*piper nigrum L.*) dengan KG-SM pada 6 sampel diperoleh 22 puncak komponen. Alat KG-SM yang digunakan seperti pada Lampiran 2 Gambar 2. Hasil komponen minyak atsiri lada putih dapat dilihat pada Tabel VI.2 sebagai berikut:

Tabel VI.2
Komponen Minyak Atsiri Lada Putih

No	RT (menit)	Nama	jawa	Sumatra	kalimantan	Sulawesi
			% Area			
1	6,006	<i>1-isopropyl-4-methylbicyclo[3.1.0]hex-2-ene</i>	0,17	3,94	0,18	0,11
2	6,130	<i>alfa pinene</i>	7,83	9,92	10,65	5,20
3	6,401	<i>Camphene</i>	0,19	0,17	0,25	0,12
4	6,817	<i>Sabinene</i>	0,41	21,58	0,14	0,24
5	6,881	<i>2-beta-PINENE</i>	13,03	8,18	14,82	9,48
6	7,079	<i>Beta-Myrcene</i>	3,17	2,53	2,75	2,46
7	7,338	<i>I-Phellandrene</i>	6,28	4,90	4,56	6,26
8	7,435	<i>.DELTA.3 CARENE</i>	27,83	21,39	24,98	21,37
9	7,544	<i>alfa-Humulene (CAS)</i>	0,10	0,32	0,06	0,07
10	7,678	<i>Benzene, 1-methyl-3-(1-methylethyl)-</i>	1,11	1,18	1,19	0,88
11	7,744	<i>dl-Limonene</i>	21,68	15,41	17,86	16,08
12	8,242	<i>y-Terpinene</i>	0,32	0,60	0,10	0,31

13	8,731	<i>Cyclohexene, 1-methyl-4-(methylethylidene)-</i>	1,46	1,00	0,93	1,39
14	8,879	<i>LINALOOL L</i>	0,07	0,07	-	0,23
15	12,492	<i>q-Element (CAS)</i>	1,55	0,61	1,04	1,43
16	13,146	<i>Copaene</i>	0,80	0,69	0,43	-
17	13,388	<i>Beta ELEMENE</i>	0,18	0,15	0,10	0,40
18	13,998	<i>Caryophyllene</i>	13,18	6,99	11,68	30,90
19	14,277	<i>Guaia-1(5),11-diene</i>	-	0,07	-	0,46
20	14,676	<i>Alfa-Humulene</i>	0,53	0,27	0,49	1,66
21	15,426	<i>Beta-Seline (CAS)</i>	0,09	0,05	-	0,53
22	15,630	<i>Alfa-Selinene</i>	0,01	0,00	-	0,36
TOTAL			100	100	100	100

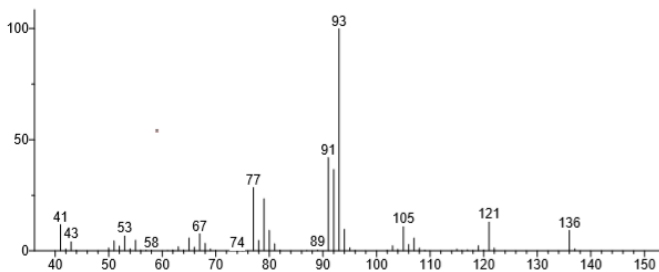
Pada 4 sampel yang di uji komponen minyak atsiri lada putih dari 22 komponen senyawa yang teridentifikasi, terdapat 6 senyawa yang memberikan perbedaan secara signifikan dari segi komposisi komponen senyawa minyak atsiri lada putih yaitu senyawa dengan nomor puncak 2, 4, 5, 8, 11 dan 18 yang dapat dilihat pada tabel VI.3 sebagai berikut:

Tabel VI.3
Komponen Minyak Atsiri Lada Putih

No	RT (menit)	Nama	Area (%)			
			Jawa	Sumatra	Kalimantan	Sulawesi
2	6,130	<i>α-pinene</i>	7,83	9,92	10,65	5,20
4	6,817	<i>Sabinene</i>	0,41	21,58	0,14	0,24
5	6,881	<i>Beta-Pinene</i>	13,03	8,18	14,82	9,48
8	7,435	<i>.DELTA.3 CARENE</i>	27,83	21,39	24,98	21,37
11	7,744	<i>dl-Limonene</i>	21,68	15,41	17,86	16,08
18	13,998	<i>Caryophyllene</i>	13,18	6,99	11,68	30,90

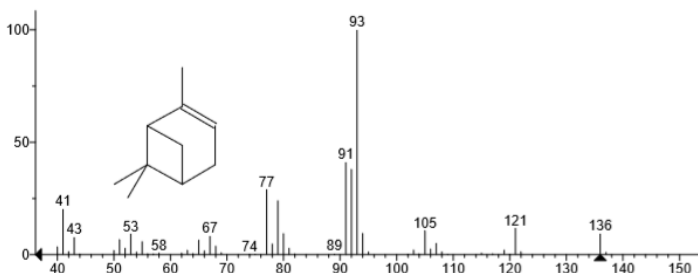
Pada tabel VI.3 pada no puncak 2 yang terbesar berdasarkan komposisi komponen minyak atsiri lada putih dari % area dimiliki oleh sampel asal pulau Kalimantan yaitu sebesar 10,65%. analisis menggunakan spektrometri massa menunjukkan bahwa spektrogram puncak 2 yang mempunyai waktu retensi 6,130 menit pada gambar VI.1.a spektrogram massa senyawa tersebut memiliki kemiripan 15,9% dengan spektrogram massa dari data *library* KG-SM gambar VI.1.b senyawa tersebut teridentifikasi sebagai senyawa *α -Pinene*.

Unknown: Scan 522 (6.130 min): MA LADA PUTIH-2.D\data.ms
Compound in Library Factor = -108



Gambar VI.1.a Spektrogram Massa No Puncak 2

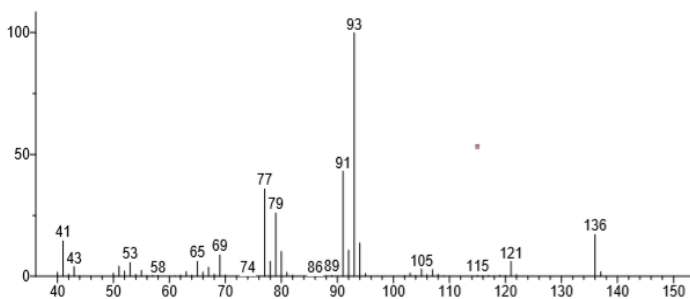
Hit 1 : α -PINENE, (-)-
C10H16; MF: 957; RMF: 957; Prob 15.9%; CAS: 80-56-8; Lib: w9n08; ID: 44918.



Gambar VI.1.b Spektrogram Massa Senyawa α -Pinene Data Library KG-SM

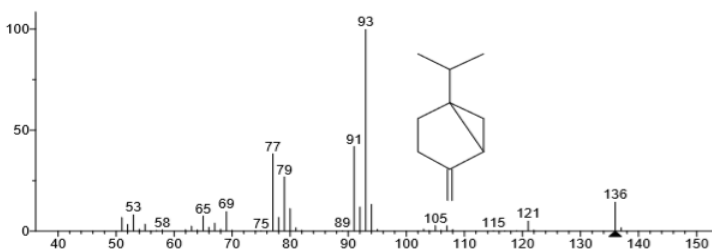
Pada no puncak 4 yang terbesar berdasarkan komposisi komponen minyak atsiri lada putih dari % area dimiliki oleh sampel asal pulau Sumatra yaitu sebesar 21,58%. analisis menggunakan spektrometri massa menunjukkan bahwa spektrogram puncak 4 yang mempunyai waktu retensi 6,817 menit pada gambar VI.2.a spektrogram massa senyawa tersebut memiliki kemiripan 55,5% dengan spektrogram massa dari data library KG-SM gambar VI.2.b senyawa tersebut teridentifikasi sebagai senyawa *Sabinene*.

Unknown: Scan 640 (6.817 min): MA LADA PUTIH-3.D\data.ms
Compound in Library Factor = 102



Gambar VI.2.a Spektrogram Massa No Puncak 4

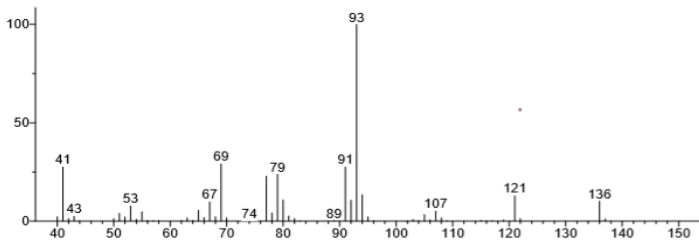
Hit 1 : Sabinene
C10H16; MF: 961; RMF: 962; Prob 55.5%; CAS: 3387-41-5; Lib: w9n08; ID: 44905.



Gambar VI.2.b Spektrogram Massa Senyawa *Sabinene* Data *Library* KG-SM

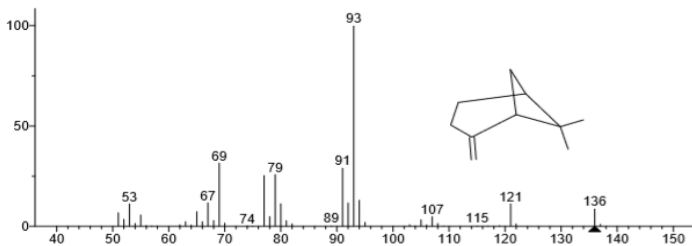
Pada no puncak 5 yang terbesar berdasarkan komposisi komponen minyak atsiri lada putih dari % area dimiliki oleh sampel asal pulau Kalimantan yaitu sebesar 14,82%. Analisis menggunakan spektrometri massa menunjukkan bahwa spektrogram puncak 5 yang mempunyai waktu retensi 6,881 menit pada gambar VI.3.a spektrogram massa senyawa tersebut memiliki kemiripan 42,6% dengan spektrogram massa dari data *library* KG-SM gambar VI.3.b senyawa tersebut teridentifikasi sebagai senyawa 2-*beta*-PINENE.

Unknown: Scan 651 (6.881 min): MA LADA PUTIH-2.D\data.ms
Compound in Library Factor = 120



Gambar VI.3.a Spektrogram Massa No Puncak 5

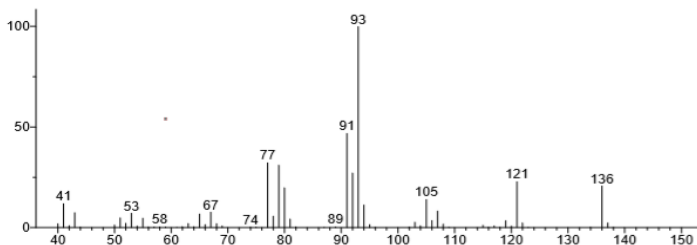
HIT 1 : 2- β -PINENE
C10H16; MF: 961; RMF: 961; Prob 42.6%; CAS: 127-91-3; Lib: w9n08; ID: 44961.



Gambar VI.3.b Spektrogram Massa Senyawa 2- β -PINENE Data
Library KG-SM

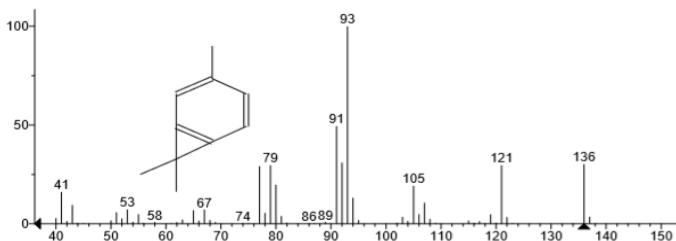
Pada no puncak 8 yang terbesar berdasarkan komposisi komponen minyak atsiri lada putih dari % area dimiliki oleh sampel asal pulau Jawa yaitu sebesar 27,83%. analisis menggunakan spektrometri massa menunjukkan bahwa spektrogram puncak 8 yang mempunyai waktu retensi 7,435 menit pada gambar VI.4.a spektrogram massa senyawa tersebut memiliki kemiripan 28,9% dengan spektrogram massa dari data *library* KG-SM gambar VI.4.b senyawa tersebut teridentifikasi sebagai senyawa *.DELTA.3 CARENE*.

Unknown: Scan 746 (7.435 min): MA-LADAH PUTIH 6.D\data.ms
Compound in Library Factor = 102



Gambar VI.4.a Spektrogram Massa No Puncak 8

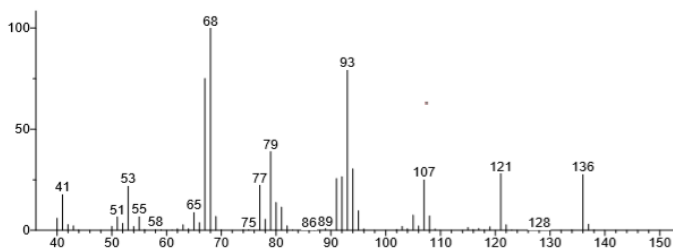
Hit 1 : .DELTA.3 CARENE
C10H16; MF: 962; RMF: 963; Prob 28.9%; CAS: 13466-78-9; Lib: w9n08; ID: 45086.



Gambar VI.4.b Spektrogram Massa Senyawa .DELTA.3 CARENE Data
Library KG-SM

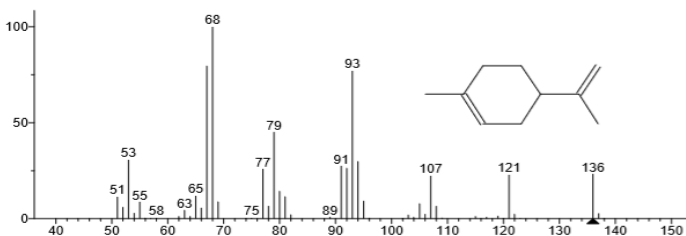
Pada no puncak 11 yang terbesar berdasarkan komposisi komponen minyak atsiri lada putih dari % area dimiliki oleh sampel asal pulau Jawa yaitu sebesar 21,68%. analisis menggunakan spektrometri massa menunjukkan bahwa spektrogram puncak 11 yang mempunyai waktu retensi 7,744 menit pada gambar VI.5.a spektrogram massa senyawa tersebut memiliki kemiripan 27,9% dengan spektrogram massa dari data *library* KG-SM gambar VI.5.b senyawa tersebut teridentifikasi sebagai senyawa *dl-Limonene*.

Unknown: Scan 799 (7.744 min): MA-LADAH PUTIH 6.D\data.ms
Compound in Library Factor = 101



Gambar VI.5.a Spektrogram Massa No Puncak 11

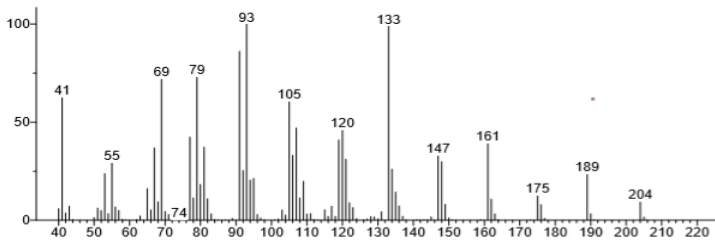
Hit 1 : dl-Limonene
C10H16; MF: 958; RMF: 958; Prob 31.5%; CAS: 138-86-3; Lib: w9n08; ID: 44710.



Gambar VI.5.b Spektrogram Massa Senyawa *dl-Limonene* Data
Library KG-SM

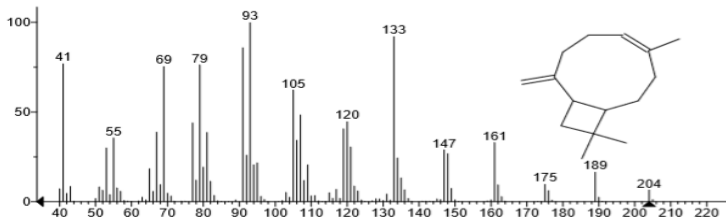
Pada no puncak 18 yang terbesar berdasarkan komposisi komponen minyak atsiri lada putih dari % area dimiliki oleh sampel asal pulau Sulawesi yaitu sebesar 30,90%. analisis menggunakan spektrometri massa menunjukkan bahwa spektrogram puncak 18 yang mempunyai waktu retensi 13,998 menit pada gambar VI.6.a spektrogram massa senyawa tersebut memiliki kemiripan 37,8% dengan spektrogram massa dari data *library* KG-SM gambar VI.6.b senyawa tersebut teridentifikasi sebagai senyawa *Caryophyllene*.

Unknown: Scan 1872 (13.998 min): MA-LADAH PUTIH 5.D\data.ms
Compound in Library Factor = 120



Gambar VI.6.a Spektrogram Massa No Puncak 18

Hit 1 : Caryophyllene
C₁₅H₂₄; MF: 970; RMF: 970; Prob 37.8%; CAS: 87-44-5; Lib: mainlib; ID: 57000.



Gambar VI.6.b Spektrogram Massa Senyawa *Caryophyllene*
Data Library KG-SM

Adanya perbedaan komposisi komponen senyawa minyak atsiri lada putih pada % area yang terdapat pada tiap sampel yang tumbuh di perbedaan tempat yang berbeda ini disebabkan karena adanya perbedaan kondisi lingkungan, serta adanya pengaruh dari durasi dan intensitas stress tanaman, dan juga pengaruh dari genetik tanaman itu sendiri. Hal ini disebabkan karena berbedanya letak geografik suatu pulau, maka menyebabkan perbedaan pula pada faktor-faktor yang mempengaruhi tanaman tersebut dalam menghasilkan metabolit sekunder, baik sebagai senyawa pertahanan bagi tanaman itu sendiri untuk melawan kondisi lingkungan yang tidak sesuai dengannya,

maupun fungsi lain dari senyawa yang dihasilkan tersebut, misalnya dalam bidang medisinal seperti yang telah diteliti melalui pengujian ilmiah *in vitro* dan *in vivo*. Seperti yang telah disebutkan oleh Zhao, (2005) pada artikelnya, akibat pengaruh dari faktor-faktor tersebut, menyebabkan adanya transduksi sinyal yang dikeluarkan oleh tanaman untuk mengeluarkan senyawa untuk melindungi dirinya sendiri yaitu senyawa metabolit sekunder sebagai senyawa pertahanan bagi tanaman tersebut.