

Profile of secondary metabolite compounds of n-hexane and ethyl acetate fractions of clove leaves (*Syzygium aromaticum* L.) using LC-HRMS

Profil senyawa metabolit sekunder dari fraksi n-heksana dan etil asetat daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) menggunakan LC-HRMS

Rezky Yanuarty ^{a*}, Siti Nurhaliza ^a, Halik Alamsyah ^a, Joni Tandi ^b, Muthmainah Tuldjanah ^c, Ayu Wulandari ^a, Kevin Maengko ^a, Recky Patala ^e

^aDepartemen Biologi dan Bahan Alam, Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Pelita Mas Palu, Sulawesi Tengah, Indonesia.

^b Departemen Farmakologi, Program Studi S1 Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Pelita Mas Palu, Sulawesi Tengah, Indonesia.

^c Departemen Biologi dan Bahan Alam, Program Studi DIII Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Pelita Mas Palu, Sulawesi Tengah, Indonesia.

^d Departemen Teknologi, Program Studi DIII Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Pelita Mas Palu, Sulawesi Tengah, Indonesia.

^eDepartemen Farmakologi, Program Studi S1 Farmasi, Universitas Tadulako, Sulawesi Tengah, Indonesia.

*Corresponding Authors: rezkyyanuarty@gmail.com

Abstract

The diversity of plants available in nature, the majority have the potential as a source of traditional medicine due to the presence of secondary metabolites in various parts of the plant, especially the leaves. The object of the study was clove leaves (*Syzygium aromaticum* L.), a plant species abundant in secondary metabolites including alkaloids, flavonoids, tannins, saponins, and steroids/triterpenoids. This research aims to compare the profile of secondary metabolites in clove leaves (*Syzygium aromaticum* L.) in the n-hexane and ethyl acetate fractions. The research methodology includes phytochemical screening of secondary metabolites of the n-hexane and ethyl acetate fractions of clove leaves (*Syzygium aromaticum* L.) with dye reagents and LC-HRMS analysis. Phytochemical screening of the n-hexane fraction confirmed the presence of steroids, while the ethyl acetate fraction confirmed flavonoids, tannins, and steroids. The results of identification using the LC-HRMS instrument on the N-Hexane and Ethyl Acetate fractions of clove leaves (*Syzygium aromaticum* L.) using LC-HRMS contained phenolic, flavonoid and phenylpropanoid compounds. In the results of the chromatogram in the N-Hexane fraction, Rhamnetin compound was obtained which had an area percent of 0.362% with the highest area of 10954249. Meanwhile, in the results of the ethyl acetate fraction chromatogram, eugenol compounds were obtained with an area percent of 0.37% with the highest area of 33151358.

Keywords: Clove leaves, Fraction n-hexane, Fraction ethyl acetate, LC-HRMS, Secondary Metabolite.

Abstrak

Keberagaman tanaman yang tersedia di alam, mayoritas memiliki potensi sebagai sumber obat tradisional karena kehadiran metabolit sekunder dalam berbagai bagian tanaman, khususnya daun. Objek penelitian adalah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.), spesies tumbuhan yang berlimpah metabolit sekunder mencakup alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid/triterpenoid. Riset ini bertujuan membandingkan profil metabolit sekunder dalam daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) pada fraksi n-heksana dan etil asetat. Metodologi penelitian meliputi skrining fitokimia metabolit sekunder fraksi n-heksana dan etil asetat daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dengan reagen pewarna dan analisis LC-HRMS. Skrining fitokimia fraksi n-heksana mengkonfirmasi keberadaan steroid, sedangkan fraksi etil asetat mengkonfirmasi flavonoid, tanin, dan steroid. Hasil identifikasi menggunakan instrumen LC-HRMS pada fraksi N-Heksan dan Etil Asetat daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) menggunakan LC-HRMS terdapat senyawa fenolik, flavonoid dan phenilpropanoid. Pada hasil kromatogram pada fraksi N-Heksan diperoleh senyawa Rhamnetin yang memiliki persentase are sebesar 0,362% dengan area tertinggi sebesar 10954249. Sedangkan pada hasil kromatogram fraksi etil asetat diperoleh senyawa eugenol memiliki persentase are sebesar 0,37% dengan area tertinggi sebesar 33151358.

Kata Kunci: Daun cengkeh, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil asetat, LC-HRMS, Metabolit sekunder.



Copyright © 2020 The author(s). You are free to : **Share** (copy and redistribute the material in any medium or format) and **Adapt** (remix, transform, and build upon the material) under the following terms: **Attribution** — You must give appropriate credit, provide a link to the license, and indicate if changes were made. You may do so in any reasonable manner, but not in any way that suggests the licensor endorses you or your use; **NonCommercial** — You may not use the material for commercial purposes; **ShareAlike** — If you remix, transform, or build upon the material, you must distribute your contributions under the same license as the original. Content from this work may be used under the terms of the a [Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0 International \(CC BY-NC-SA 4.0\) License](https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/)

Article History:

Received: 17/10/2025,
Revised: 13/04/2026,
Accepted: 13/04/2026,
Available Online: 15/08/2026.

QR access this Article



<https://doi.org/10.36490/journal-jps.com.v9i3.1138>

Pendahuluan

Indonesia kaya akan tanaman yang berpotensi sebagai obat herbal, termasuk tanaman cengkeh. Tanaman cengkeh telah lama dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional sehari-hari karena minyak yang dihasilkannya memiliki berbagai khasiat farmakologis, seperti efek perangsang, bius lokal, peluruh gas perut, anti mual, antimikroba, antiradang, dan pelemas otot [1]. Kandungan kimia yang terkandung pada cengkeh antara lain eugenol, β -caryophyllen, eugenyl asetat, α -cadinol [2]. Kandungan kimia lainnya yaitu alkaloid, asam amino, flavonoid, protein, sterol/steroid, tanin, dan fenol. Zat kimia tersebut biasa dikenal dengan senyawa metabolit sekunder [3].

Dalam penelitian senyawa bioaktif dari bahan alami, menggunakan metode ekstraksi yang menggunakan pelarut. Pemilihan pelarut merupakan langkah krusial dalam menentukan kualitas dan efektivitas hasil ekstraksi. Daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dikenal kaya akan senyawa aktif seperti eugenol, antimikroba, antioksidan, dan antiinflamasi. Ekstraksi senyawa ini dapat dipengaruhi oleh jenis pelarut yang digunakan, karena polaritas pelarut memainkan peran penting dalam menentukan jenis dan jumlah senyawa yang dapat diekstraksi. Pemilihan pelarut dalam ekstraksi metabolit sekunder sangat penting, karena perbedaan polaritas pelarut akan mempengaruhi selektivitas dan efisiensi ekstraksi [4].

N-heksana dan etil asetat adalah dua pelarut yang biasa digunakan dalam ekstraksi metabolit sekunder. N-heksana, yang bersifat nonpolar, cenderung mengekstrak senyawa nonpolar atau kurang polar, sedangkan etil asetat, yang memiliki polaritas lebih tinggi, lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa polar ke semi-polar. Oleh karena itu, perbandingan antara fraksi n-heksana dan etil asetat dalam ekstraksi daun cengkeh penting untuk memahami perbedaan komposisi senyawa yang dihasilkan dan penerapannya yang potensial [5].

Adapun golongan senyawa yang terkandung pada daun cengkeh yaitu senyawa fenol diantaranya asam siringenik dan asam ellagic. Golongan senyawa flavonoid diantaranya yaitu kamferol, isoengetin, mirisetin, rhamnetin dan rhamnositrin. Golongan senyawa tanin diantaranya yaitu strictinin, tellimagrandin I dan kasuarictin. Golongan senyawa fenilpropanoid saponin diantaranya yaitu isoeugenin, eugenol, isoeugenin, eugenin dan acetueugenol. Golongan senyawa triterpenoid diantaranya yaitu asam viskosa, α -caryophyllen dan asam oleanolat. Golongan senyawa steroid diantaranya steroid glikosida, sitosterol, stigmasterol dan kampesterol [7]. Pada penelitian Yanuarty *et al.*, (2024) menunjukkan Fraksi N-heksan dari daun cengkeh menunjukkan aktivitas afrodisiak, dan hasil analisis fitokimia mengungkapkan adanya kandungan senyawa steroid di dalamnya [7]. Sementara itu, fraksi etil asetat mengandung flavonoid, tanin, dan steroid [8]. Ekstrak daun cengkeh memiliki kandungan beragam senyawa metabolit sekunder meliputi alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Kondisi ini memotivasi peneliti untuk melakukan penelitian lebih mendalam mengenai komponen-komponen senyawa tersebut beserta konsentrasinya.

Instrumen LC-HRMS (Liquid Chromatography – High Resolution Mass Spectrometry) digunakan dalam penelitian ini, merupakan pendekatan analisis yang mengkombinasikan efektivitas pemisahan kromatografi cair dengan ketepatan deteksi spektrometri massa resolusi tinggi. Metode ini banyak dipilih karena keunggulannya, antara lain dapat mendeteksi senyawa dalam dosis rendah dan memiliki sistem perawatan yang sangat kompleks [9]. LC-HRMS memiliki kemampuan deteksi senyawa dengan tingkat sensitivitas yang tinggi. Proses kerjanya dimulai dengan memisahkan komponen-komponen dalam sampel menggunakan metode kromatografi cair, selanjutnya komponen yang telah terpisah tersebut dianalisis dan diidentifikasi melalui Spektrometri Massa Resolusi Tinggi (HRMS). Output dari analisis ini menghasilkan informasi kuantitatif dan kualitatif mengenai senyawa metabolit sekunder yang ada dalam tanaman, yang pada akhirnya memungkinkan untuk mengetahui khasiat dan potensi kegunaan tanaman tersebut [10].

Merujuk pada uraian diatas maka tujuan dari penelitian ini adalah untuk melakukan identifikasi serta penetapan konsentrasi senyawa-senyawa metabolit sekunder yang ada dalam fraksi n-heksan dan etil asetat daun cengkeh.

Metode Penelitian

Studi ini terlaksana di dua lokasi yaitu Laboratorium STIFA Palu dan Laboratorium Biotek Rekayasa Indonesia (Invilab) Bogor. Proses penelitian mencakup koleksi sampel, preparasi ekstrak tumbuhan, tahap fraksinasi, kemudian dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator hingga diperoleh ekstrak pekat. Tahap berikutnya dilakukan analisis skrining fitokimia dengan reagen pewarna guna mendeteksi kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan steroid. Dilanjutkan dengan mengirimkan sampel untuk dilakukan pengujian menggunakan LC-HRMS.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, alat penyari, batang pengaduk, bejana maserasi, blender, cawan porselin, corong kaca, corong pisah, erlenmeyer, gunting, labu ukur, penangas air, pipet tetes, rotary evaporator, sentrifuge, sendok tanduk, timbangan analitik, water bath, instrumen LC-HRMS.

Bahan yang digunakan adalah eluent A (air yang mengandung asam format 0,1%), eluent B (metanol yang mengandung asam format 0,1%), air suling, 0,1%, asam asetat anhidrat, etanol 96%, FeCl₃ 1%, HCL 2N, H₂SO₄, Etil Asetat, N-Heksan, NaCl 10%, lempeng silika gel, logam magnesium, serbuk simplisia daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L), tissue dan kertas saring, dragendrof, magnesium P.

Identifikasi tanaman

Sampel daun cengkeh diperoleh dari Desa Bobo, Kec. Palolo, Kab. Sigi, Sulawesi Tengah. Identifikasi taksonomi sampel dilakukan melalui Unit Pelaksana Teknis Daerah (UPTD) Universitas Tadulako, Sumber Daya Hayati Sulawesi (Herbarium Celebense)

Ekstraksi dan Fraksinasi

Daun cengkeh dikering-anginkan di bawah sinar matahari dan selanjutnya dijadikan bubuk memakai blender. Daun cengkeh dikeringkan secara alami dengan penjemuran, lalu dihaluskan menggunakan blender hingga berbentuk serbuk. Sebanyak 1000 gram serbuk simplisia diekstrak melalui teknik maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 10 L (1:10) b/v, maserasi dilakukan selama (3x24 jam). Selanjutnya dipekatkan menggunakan rotary evaporator untuk memperoleh ekstrak pekat. Tahapan berikutnya yaitu fraksinasi merupakan teknik pemisahan yang berdasarkan pada penggunaan pelarut-pelarut immiscible, sehingga komponen dengan kepolaran berbeda akan terpisah ke dalam fase pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama [11]. Partisi menggunakan pelarut n-heksana, sebanyak 40 gram ekstrak etanol daun cengkeh dilarutkan dengan aquadest 400 ml. Selanjutnya dimasukkan ke dalam labu pisah lalu ditambahkan 400 ml n-heksana, dikocok secara perlahan-lahan selama 15 menit kemudian didiamkan hingga terjadi pemisahan antara fraksi N-Heksan dan air, dilakukan partisi sebanyak 3 kali sampai larutan berwarna bening, kemudian dipekatkan. Tahapan selanjutnya fase air dipartisi kembali dengan etil asetat. Menggunakan 400 mL etil asetat, dimasukkan ke dalam labu pisah lalu dikocok secara perlahan selama 15 menit, dipartisi sebanyak 3 kali, sampai larutan berwarna bening, kemudian dipekatkan [12, 13].

Uji Penapisan Fitokimia

Melakukan pengujian skrining fitokimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan steroid. Skrining fitokimia dilakukan melalui metode reaksi pewarna. Deteksi alkaloid dilakukan dengan mencampurkan 0.5 gram fraksi N-Heksan dan etil asetat daun cengkeh dengan 1 ml HCl 2N dan 9 ml akuades, kemudian dipanaskan menggunakan water bath selama 120 detik, didinginkan, lalu difiltrasi. Sebanyak 0.5 ml filtrat dituang ke tabung reaksi dan diberi 2 tetes reagen Dragendrof. Pembentukan endapan berwarna merah jingga menunjukkan adanya senyawa alkaloid [7,8].

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menimbang 0.5 gram fraksi N-Heksan dan etil asetat daun cengkeh, kemudian dicampur dengan 10 ml akuades dan dipanaskan dalam water bath, lalu disaring. Selanjutnya ditambahkan 1 ml etanol 95% dan serbuk magnesium P. Terbentuknya warna merah ungu menunjukkan keberadaan flavonoid, sedangkan munculnya warna merah, kuning, dan jingga

mengindikasikan tidak adanya flavonoid [7,8]. Deteksi saponin dilakukan dengan mengambil 0.5 gram sampel yang dicampur dengan 10 ml air panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat selama 10 detik hingga terbentuk busa. Selanjutnya ditambah 1 tetes HCl 2N untuk mengamati stabilitas busa yang terbentuk. Busa yang dapat bertahan selama 30 detik dengan ketinggian 1-3 cm menunjukkan hasil positif adanya saponin [7,8]. Deteksi tanin dilakukan dengan menimbang 0.5 gram sampel dan menempatkannya dalam tabung reaksi. Sampel kemudian dihangatkan menggunakan water bath selama $\pm$ 5 menit, lalu diberi 1 tetes larutan FeCl₃ 1%. Terbentuknya endapan berwarna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tanin [7,8].

Deteksi steroid/triterpenoid dilakukan dengan mengambil 0.2 gram sampel, kemudian dimasukkan ke tabung reaksi dan diberi asam asetat anhidrat sampai terendam. Campuran didiamkan sekitar 15 menit. Selanjutnya 6 tetes larutan sampel dipindah memakai pipet ke tabung reaksi yang baru, kemudian ditambah 2-3 tetes H₂SO₄. Timbulnya warna biru kehijauan menandakan keberadaan steroid, sementara warna merah atau ungu mengindikasikan adanya triterpenoid [7,8].

Identifikasi dengan LC-HRMS

Analisis persentase area kromatogram menggunakan Liquid Chromatography – High Resolution Mass Spectrometry dengan perangkat Liquid Chromatography Thermo Scientific™ Vanquish™ UHPLC Binary Pump yang terhubung dengan Thermo Scientific™ Q Exactive™ Hybrid Quadrupole Orbitrap™ HRMS. Fase gerak menggunakan dua eluent: A (air + 0,1% asam formiat) dan B (metanol + 0,1% asam formiat). Kolom analisis yang digunakan adalah Phenyl Hexyl (100mm x 2,1 mm IDE x 2,6 μ m) dengan metode gradien, laju alir 0,3 mL/menit, dan volume injeksi 3 μ L. Gradien fase gerak B: 5% (awal) $\rightarrow$ 90% (16 menit) $\rightarrow$ 90% (20 menit) $\rightarrow$ 5% (menit ke-25). Sampel disiapkan dengan melarutkan 0,1 mg fraksi dalam etanol LC-MS, dihomogenkan dengan vorteks, disaring (0,2 μ M), kemudian 5 μ L diinjeksikan untuk analisis. Metode analisis dilakukan tanpa replikasi.

Pengolahan dan analisis data

Pengolahan data kromatogram dan spektrum memakai software MZmine3 melalui beberapa tahap: pembentukan kromatogram, eliminasi noise, identifikasi berdasarkan massa molekul, dan organisasi data hasil analisis.

Hasil dan Pembahasan

Identifikasi Tanaman

Identifikasi tanaman dilakukan dengan tujuan untuk meyakinkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti dan mengetahui keaslian dari tanaman yang diambil, untuk menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan. Identifikasi tanaman cengkeh dilakukan di UPTD Universitas Tadulako, Sumber Daya Hayati Sulawesi (Herbarium Celebense). Berdasarkan hasil identifikasi dapat dipastikan sampel yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* L).

Penapisan Fitokimia

Fraksinasi N-Heksan dan Etil asetat daun cengkeh yang diperoleh, kemudian dilakukan uji penapisan fitokimia. Hal ini bertujuan untuk menganalisis secara kualitatif kandungan senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam tanaman. Berdasarkan hasil yang diperoleh tabel 1 untuk fraksi N-Heksan dan tabel 2 untuk fraksi etil asetat daun cengkeh.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Fraksi N-Heksana Daun Cengkeh

No.	Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil Pengamatan	Ket.
1.	Alkaloid	Dragendorf	Endapan warna hijau kekuningan	-
2.	Flavonoid	HCl pekat dan logam Mg	Terbentuk warna bening	-
3.	Saponin	Dikocok dan HCl 2 N	Tidak terbentuk buih	-
4.	Tanin	FeCl ₃	Terbentuk warna hijau muda	-
5.	Steroid	Asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄	Terbentuk warna hijau kebiruan/hijau kehitaman	+

Keterangan: (+) Mengandung senyawa yang diuji

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Cengkeh

No.	Senyawa Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil pengamatan	Ket.
1.	Alkaloid	Dragendorff	Endapan coklat	-
2.	Flavonoid	HCl pekat dan logam Mg	Terbentuk warna merah ungu	+
3.	Saponin	Dikocok dan HCl 2 N	Tidak terbentuk buih	-
4.	Tanin	FeCl ₃	Terbentuk endapan biru kehitaman	+
5.	Steroid	Asam asetat anhidrat dan H ₂ SO ₄	Terbentuk warna hijau kebiruan/hijau kehitaman	+

Keterangan: (+) Mengandung senyawa yang diuji

Berdasarkan uji skrining fitokimia yang dilakukan, fraksi n-heksana dari ekstrak daun *Syzygium aromaticum* L. menunjukkan hasil positif untuk keberadaan senyawa steroid/triterpenoid, sementara memberikan hasil negatif pada pengujian alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin. Temuan ini sejalan dengan studi terdahulu yang menyatakan bahwa fraksi n-heksana daun cengkeh mengandung steroid yang dapat diidentifikasi melalui perubahan warna menjadi kecoklatan atau violet pada reaksi uji. Penemuan ini mendukung penelitian sebelumnya yang mengkonfirmasi adanya kandungan steroid, dimana senyawa ini dikenal memiliki karakteristik afrodisiak dan berperan dalam memodulasi aktivitas seksual dengan cara berpartisipasi dalam jalur biosintesis testosteron sebagai pengganti kolesterol dalam proses sintesis hormon tersebut [14]. Biosintesis testosteron melibatkan kolesterol sebagai bahan dasar yang pertama kali diubah menjadi pregnenolon. Selanjutnya, pregnenolon mengalami transformasi menjadi progesteron, yang kemudian berperan sebagai senyawa antara dalam jalur pembentukan hormon androgen, termasuk testosteron [15]. Salah satu produk bahan alam yang dilaporkan berperan sebagai penghambat PDE-5 adalah terpenoid [7].

Analisis skrining fitokimia terhadap fraksi etil asetat menghasilkan respons positif untuk flavonoid, tanin, dan steroid. Etil asetat berfungsi sebagai pelarut efektif dalam mengekstraksi komponen semi-polar, khususnya flavonoid dalam bentuk O-glikosida serta tanin. Meskipun steroid pada dasarnya memiliki kerangka hidrokarbon panjang yang bersifat non-polar, kehadiran gugus hidroksil (-OH) pada struktur molekulnya mengubah polaritas menjadi semi-polar, sehingga dapat diekstraksi menggunakan etil asetat.

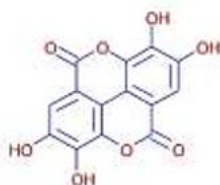
Identifikasi tanin dikonfirmasi melalui pembentukan warna hitam akibat terbentuknya ikatan kovalen antara ion Fe³⁺ dengan atom oksigen dari gugus hidroksil tanin setelah pelepasan proton, menghasilkan kompleks berwarna kehijauan, kehitaman, ungu, atau biru. Untuk pengujian steroid, reaksi dehidrasi dengan penambahan asam kuat membentuk garam yang menghasilkan perubahan warna menjadi hijau kehitaman. Sementara itu, deteksi flavonoid melibatkan proses hidrolisis flavonoid glikosida menjadi aglikon flavonoid dengan bantuan asam kuat, yang kemudian bereaksi dengan serbuk magnesium membentuk kompleks berwarna sebagai indikator positif [16].

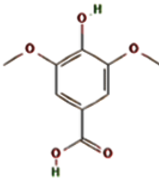
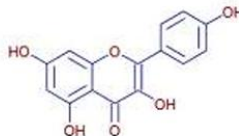
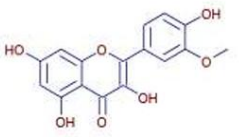
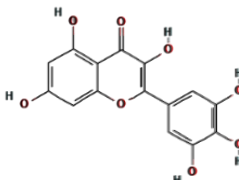
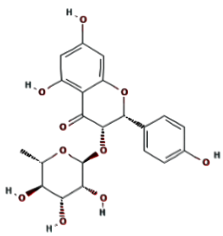
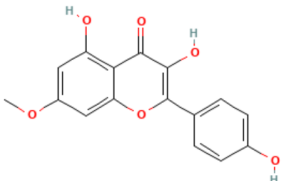
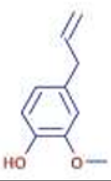
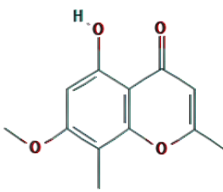
Identifikasi LC-HRMS

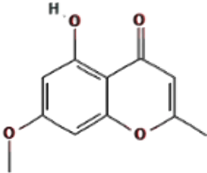
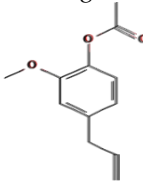
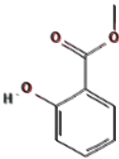
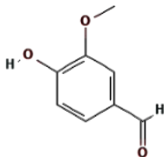
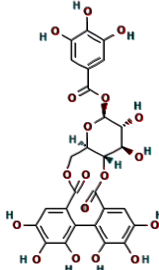
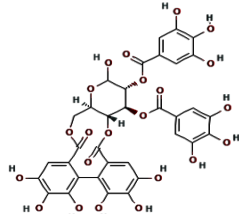
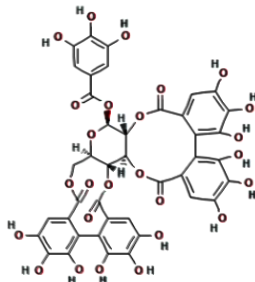
Setelah uji fitokimia selesai, selanjutnya adalah identifikasi dengan metode LC-HRMS. Hasil identifikasi fraksi N-Heksan disajikan dalam tabel 3, sedangkan fraksi etil asetat ditampilkan pada tabel 4. Penggunaan LC-HRMS memungkinkan pengamatan kromatogram yang menampilkan puncak tertinggi (peak intensity chromatogram/PIC), yang dapat diamati pada gambar 1 untuk kromatogram fraksi N-Heksan dan gambar 2 untuk fraksi etil asetat. Hasil Mass Spectrometry senyawa fraksi N-Heksan ditunjukkan pada gambar 3, sementara untuk fraksi etil asetat pada gambar 4.

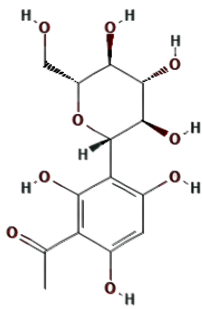
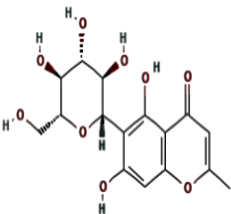
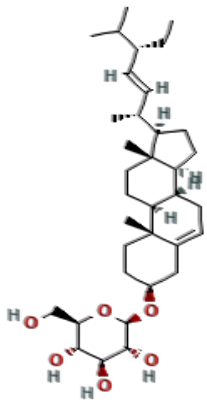
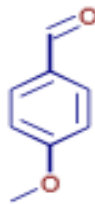
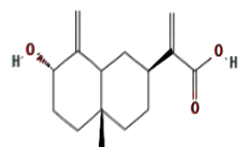
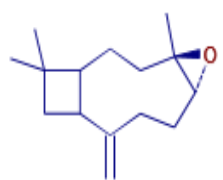
Tabel 3. Hasil Analisis LC-HRMS Fraksi N-Heksan *Syzygium aromaticum*

No	Golongan	Nama senyawa	Rumus molekul	Area (%)
1	Phenolic	Ellagic acid	C ₁₄ H ₆ O ₈	0,029



2		Syringic acid	C ₉ H ₁₀ O ₅	0,003%
				
3	Flavonoids	Kaempferol	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	0,087
				
4		Rhamnetin	C ₁₆ H ₁₂ O ₇	0,362
				
5		Myricetin	C ₁₅ H ₁₀ O ₈	0,001%
				
6		Isoengeletin	C ₂₁ H ₂₂ O ₁₀	0,001%,
				
7		Rhamnocitrin	C ₁₆ H ₁₂ O ₁₀	0,724%
				
8	Phenylpropanoids	Eugenol	C ₁₀ H ₁₂ O ₂	0,284
				
9		Isoeugenitin	C ₁₂ H ₁₂ O ₄	0,003%
				

10	Eugenin	$C_{11}H_{10}O_4$	0,014%
			
11	Aceteugenol	$C_{12}H_{14}O_3$	0,050%
			
12	Methyl salicylate	$C_8H_8O_3$	0,064%
			
	Vanilin		
			
13	tannin		
	Strictinin	$C_{27}H_{22}O_{18}$	0,003%
			
14	Tellimagrandin I	$C_{34}H_{26}O_{22}$	0,012%
			
15	Casuarictin	$C_{41}H_{28}O_{26}$	0,002%
			

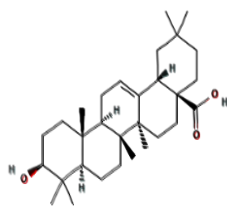
16	Phenolic glycosides	2-Acetyl-4-beta-D-glucopyranosyl-1,3,5-benzenetriol	C ₁₄ H ₁₈ O ₉	0,064%
				
17	Quinone glycosides	Biflorin	C ₁₆ H ₁₈ O ₉	0,520%
Isobiflorin				
18	Steroid	Stigmasterol-3-O-beta-D-glucopyranoside	C ₃₅ H ₅₈ O ₆	0,001%
				
19	benzaldehydes	m-Methoxybenzaldehyde	C ₈ H ₈ O ₂	0,447%
				
20	Terpenoid	Viscid acid	C ₁₅ H ₂₂ O ₃	0,015%
				
21		alpha-Caryophyllene	C ₁₅ H ₂₄	0,123%,
				

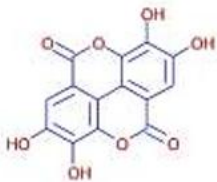
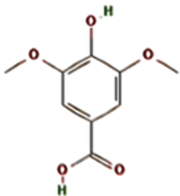
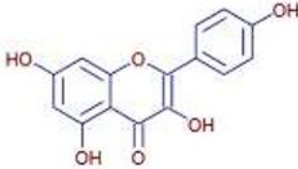
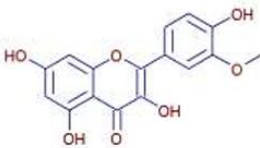
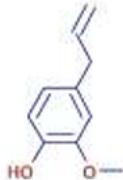
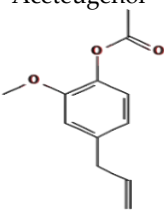
22

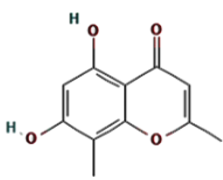
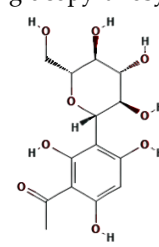
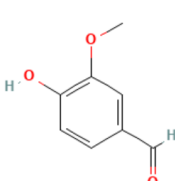
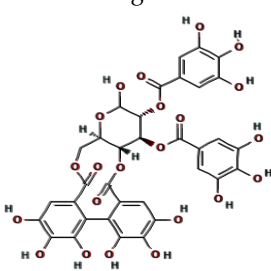
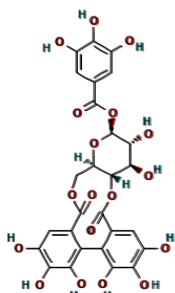
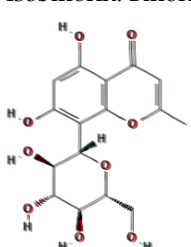
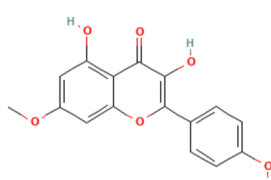
Oleanolat acid

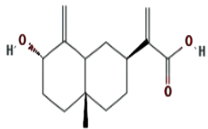
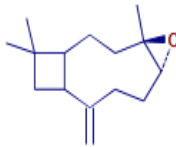
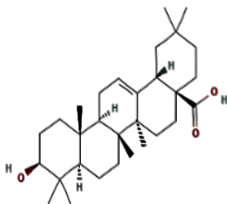
 $C_{30}H_{48}O_3$

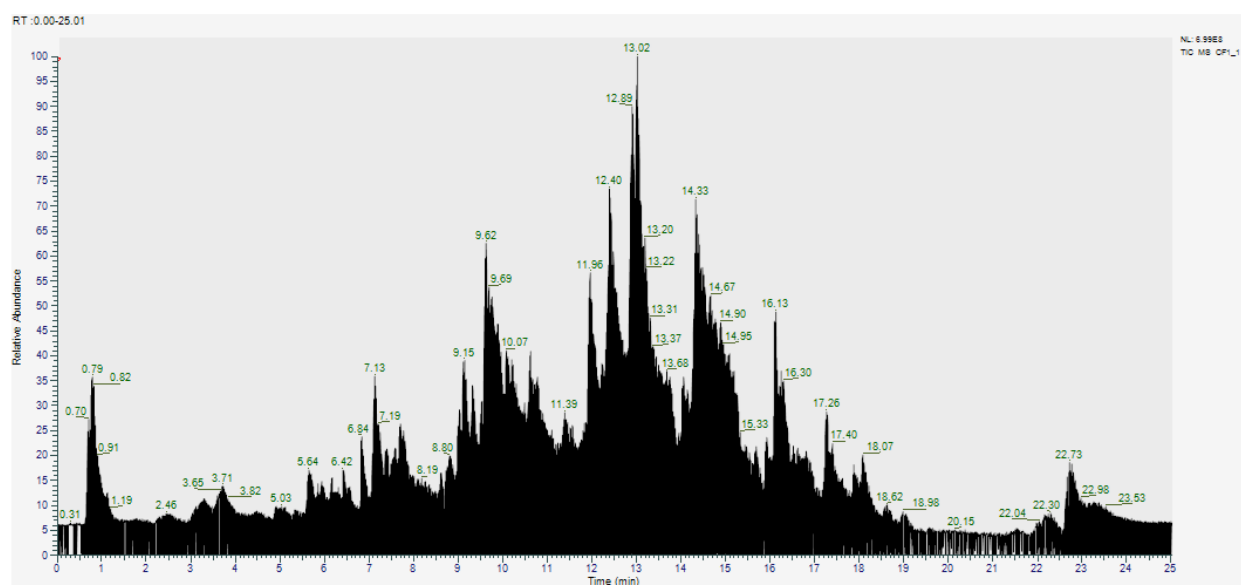
0,390%

**Tabel 4.** Hasil Analisis LC-HRMS Fraksi Etil Asetat *Syzygium aromaticum* L

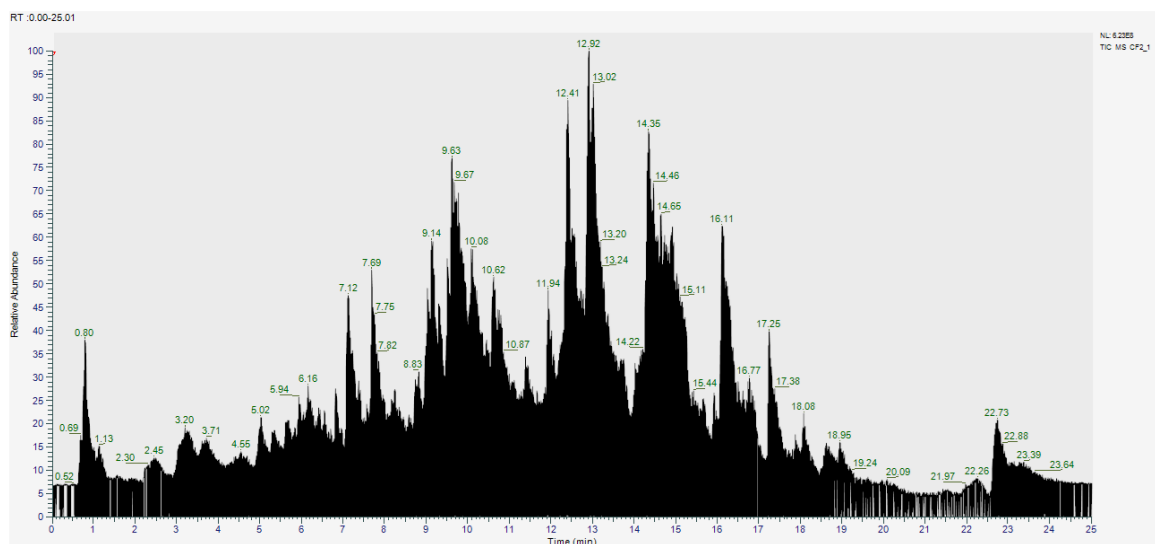
No	Golongan	Nama senyawa	Rumus molekul	Area (%)
1	Phenolic	Ellagic acid	$C_{14}H_6O_8$	0,06
				
2		Syringic acid	$C_9H_{10}O_5$	0,01%
				
3	Flavonoid	Kaempferol	$C_{15}H_{10}O_6$	0,12
				
4		Rhamnetin	$C_{16}H_{12}O_7$	0,25
				
5	Phenylpropanoids	Eugenol	$C_{10}H_{12}O_2$	0,37
				
6		Aceteugenol	$C_{12}H_{14}O_3$	0,05%
				

7		Isoeugenitol; Eugenin	$C_{11}H_{10}O_4$	0,01%
				
8	Phenolic; Glycosides	2-Acetyl-4-beta-D-glucopyranosyl-1,3,5-benzenetriol	$C_{14}H_{18}O_9$	0,15%
				
9	Phenolic; Aldehyde	Vanillin	$C_8H_8O_3$	0,16%
				
10	Tannin	Tellimagrandin I	$C_{34}H_{26}O_{22}$	0,03%
				
11		Strictinin	$C_{27}H_{22}O_{18}$	0,01%
				
12	Quinone; Glycosides	Isobiflorin; Biflorin	$C_{16}H_{18}O_9$	0,57%
				
13		Rhamnocitrin	$C_{16}H_{12}O_{10}$	0,92%
				

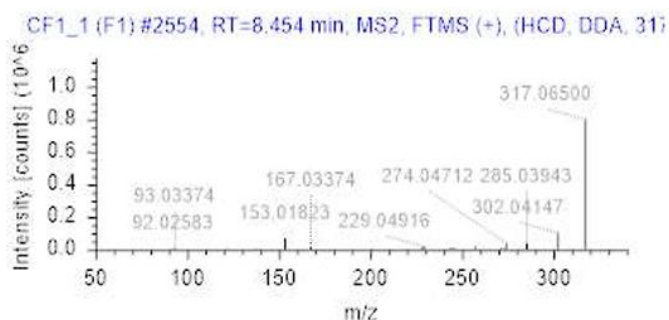
14	Terpenoids	Viscic acid	$C_{15}H_{22}O_3$	0,02%
				
15		alpha-Caryophyllene	$C_{15}H_{24}$	0,18%
				
16		Oleanolic acid	$C_{30}H_{48}O_3$	0,37%
				
17	Benzaldehyda	m-Methoxybenzaldehyde	$C_8H_8O_2$	0,44%
				



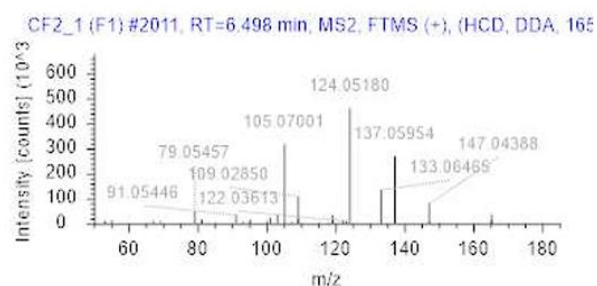
Gambar 1. Kromatogram Fraksi N-Heksan Daun Cengkeh Menggunakan LCHRMS



Gambar 2 . Kromatogram Fraksi Etil Asetat Daun Cengkeh Menggunakan LCHRMS



Gambar 3. Hasil *Mass Spectrometri* Fraksi N-Heksan Senyawa Rhamnetin



Gambar 4. Hasil *Mass Spectrometri* Fraksi Etil Asetat Senyawa Eugenol

Berdasarkan hasil persentase area dari LC-HRMS pada fraksi N-Heksan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L) pada tabel 3. diperoleh komponen senyawa fenolik seperti Syringic acid 0,003% dan Ellagic acid 0,029%. Komponen senyawa tannins seperti Strictinin 0,003%, Tellimagrandin I 0,012%, Casuarictin 0,002%. Komponen senyawa Phenolic glycosides seperti 2-Acetyl-4-beta-D-glucopyranosyl-1,3,5-benzenetriol 0,064%. Senyawa quinone glycosides Isobiflorin; Biflorin 0,520%. Komponen senyawa Phenylpropanoids seperti Isoeugenitin 0,003%, Eugenol 0,284%. Isoeugenitol; Eugenin 0,014%, Aceteugenol 0,050%. Komponen Senyawa phenolic;aldehyde seperti Methyl salicylate; Vanillin 0,064%. Komponen senyawa flavonoids seperti kaemferol 0,087, Myricetin 0,001%, Isoengeletin 0,001%, Rhamnetin 0,25%, Rhamnocitrin 0,724%. Senyawa steroids; glycosides ditemukan memiliki golongan Stigmasterol-3-O-beta-D-glucopyranoside 0,001%. Komponen Senyawa benzaldehydes seperti m-Methoxybenzaldehyde 0,447%. Komponen senyawa terpenoids seperti Viscic acid 0,015%, alpha-Caryophyllene (obsol.) 0,123%, Oleanolic acid 0,390%.

Berdasarkan hasil persentase area dari LC-HRMS pada fraksi etil asetat daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L), diperoleh komponen senyawa Phenolic seperti Syringic acid 0,01%, Ellagic acid 0,06%.

Komponen senyawa Phenolic; Glycosides seperti 2-Acetyl-4-beta-D-glucopyranosyl-1,3,5-benzenetriol 0,15%. Komponen senyawa Phenolic; Aldehyde seperti Methyl salicylate; Vanillin 0,16%. Komponen senyawa tannin seperti Tellimagrandin I 0,03% , Strictinin 0,01%. Komponen senyawa Quinone; Glycosides seperti Isobiflorin; Biflorin 0,57%. Komponen senyawa Flavonoids seperti Kaempferol 0,12%, Rhamnetin 0,25% , Rhamnocitrin 0,92%. Komponen senyawa Phenylpropanoids seperti Aceteugenol 0,05%, Eugenol 0,37%. Isoeugenitol; Eugenin 0,01%. Komponen senyawa Terpenoids seperti Viscic acid 0,02%, alpha-Caryophyllene (obsol.) 0,18% Oleanolic acid 0,37%. Komponen senyawa Benzaldehydes seperti m-Methoxybenzaldehyde 0,44%.

Berdasarkan hasil kromatogram dan spektrum fraksi N-Heksan, dapat dilihat dari gambar 1 dan 3, senyawa Rhamnetin menunjukkan area puncak paling tinggi dengan nilai 10954249 dan masuk dalam kategori senyawa flavonoid. Hasil ini konsisten dengan studi Yanuarty yang mengemukakan bahwa diantara metabolit sekunder, flavonoid dan steroid menunjukkan kemampuan afrodisiak yang paling besar [7]. Senyawa Flavonoid memiliki efek sentral dan perifer, karena dapat meningkatkan kadar dehydroepiandrosteon. kadar dehydro epiandrosteon yang meningkat dapat memengaruhi peningkatan kadar hormon testosteron dan mendorong perilaku seksual pada pria [17]. Senyawa steroid berfungsi mempengaruhi aktivitas seksual melalui mekanisme kerja menggantikan kolesterol dalam mensintesis testosteron (Wahdaningsih, 2012). Testosteron disintesis dari prekursor kolesterol yang dikenal dengan nama pregnolon. Pregnonon selanjutnya akan diubah menjadi progesteron yang akan berperan sebagai prekursor dalam menginduksi pembentukan androgen seperti testosteron [15].

Hasil dari kromatogram dan spektrum fraksi Etil Asetat, dapat dilihat pada gambar 2 dan 4, diperoleh senyawa Eugenol yang memiliki area tertinggi sebesar 33151358 termasuk kelompok senyawa phenylpropanoids dalam kelompok metabolit sekunder fenolik. Hal ini sejalan dengan penelitian bahwa komponen minyak atsiri daun cengkeh terdiri dari eugenol (80%), asetil eugenol dan kariofilin [18].

Kesimpulan

Pada pengujian penapisan fitokimia fraksi N-Heksan diperoleh senyawa steroid dan fraksi etil asetat diperoleh flavonoid, tanin, steroid. Fraksi N-Heksan dan Etil Asetat daun cengkeh menggunakan LC-HRMS didapati senyawa fenolik, flavonoid dan phenylpropanoid. Fraksi N-Heksana didominasi oleh senyawa non-polar seperti rhamnetin dan steroid, sedangkan fraksi etil asetat lebih kaya akan senyawa semi-polar seperti eugenol dan flavonoid. Hasil kromatogram fraksi N-Heksan diperoleh senyawa Rhamnetin yang memiliki persentase area sebesar 0,362% dengan area tertinggi sebesar 10954249. Sedangkan pada hasil kromatogram fraksi etil asetat diperoleh senyawa eugenol memiliki persentase area sebesar 0,37% dengan area tertinggi sebesar 33151358. Perbedaan kepolaran dan komposisi senyawa pada fraksi n-heksan dan etil asetat menunjukkan potensi aktivitas biologis yang berbeda. Fraksi n-heksan yang kaya senyawa nonpolar cenderung berperan dalam aktivitas seperti antiinflamasi dan sitotoksik, sedangkan fraksi etil asetat yang mengandung eugenol, flavonoid, dan tanin lebih berpotensi sebagai antioksidan dan antimikroba. Dominasi eugenol pada fraksi etil asetat mengindikasikan potensi aktivitas yang lebih kuat serta membuka peluang pengembangan penelitian lanjutan dan kemungkinan efek sinergis kedua fraksi.

Ucapan Terimakasih

Terima kasih kepada ketua yayasan STIFA Pelita Mas karena sudah menerima pendanaan hibah ini. Berterima kasih kepada Ketua STIFA bapak Joni Tandi yang sudah memberikan kesempatan dan memberikan pembiayaan penelitian hibah.

Referensi

- [1] Ugha, K. B., Indriarini, D. I., & Koamesah, S. M. J. Uji Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia coli* Secara In-Vitro. Cendana Medical Journal. 2019; 17(2), 149–157. <http://ejurnal.undana.ac.id/CMJ/article/view/1779>

- [2] Utami, L. A., Wahyuni, W. T., Mubarik, N. R., & Astuti, R. I. Endophytic Bacteria Of Clove (*Syzygium aromaticum* L.) Leaves Produce Metabolites With Antioxidant And Anti-Aging Properties. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2023; 13(7), 241–250. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2023.93258>
- [3] Putri, Y. S., Subiyono, S., & Wasilah, S. Z. Uji Daya Antifungi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Aspergillus flavus* Secara In Vitro. Doctoral dissertation, Poltekkes Kemenkes Yogyakarta. 2019.
- [4] Putri, F. E., Diharmi, A., & Karnila, R. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Rumpun Laut Coklat (*Sargassum plagyophyllum*) Dengan Metode Fraksinasi. Jurnal Teknologi Dan Industri Pertanian Indonesia, 2023; 15(1), 40–46. <https://doi.org/10.17969/jtipi.v15i1.23318>
- [5] Megha N. M and Sabale A. B. Antimicrobial, Antioxidant and Haemolytic Potential of Brown Macroalga *Sargassum*. World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2014; 3(8): 2091-2104.
- [6] Hatami, F., Tahmasbi, F., & Hatami Shahmir, E. Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Steroid Dari Daun Cemara Natal (*Cupressus funebris* Endl.) Neuropsychology, 2017; 3(8), 85–102.
- [7] Yanuarty, R., Tuldjanah, M., & Wulandari, A. Aphrodisiac Activity of Clove Leaves (*Syzygium aromaticum* L.) Ethanol Extract and Fractions in Wistar rats. Sciences of Phytochemistry. 2024; 3(1), 54–59. <https://doi.org/10.58920/sciphy0301183>
- [8] Muthmainah Tuldjanah, Sasdila, Rezky Yanuarty, Ayu Wulandari, Joni Tandi. Determination of Secondary Metabolite Levels in Ethanol Extract of Clove leaves (*Syzygium aromaticum* L.) Using LC-HRMS Methods. Jurnal Biologi Tropis. 2024; 24 (1b) 241-249. <https://doi.org/10.29303/jbt.v24i1b.7975>
- [9] Raharjo, T. J. Liquid Chromatography High Resolution Mass Spectrometry (LC- HRMS) (pp. 4-5). Universitas Gadjah Mada. <https://lppt.ugm.ac.id/wp-content/uploads/sites/718/2022/06/03-Desain-Newsletter-LPPT-LCHRMS-2022;June-22.pdf>
- [10] Khafid, A., Wiraputra, M. D., Putra, A. C., Khoirunnisa, N., Putri, A. A. K., Suedy, S. W. A., & Nurchayati, Y. Uji Kualitatif Metabolit Sekunder pada Beberapa Tanaman yang Berkhasiat sebagai Obat Tradisional. Buletin Anatomi Dan Fisiologi. 2023; 8(1), 61–70. <https://doi.org/10.14710/baf.8.1.2023.61-70>
- [11] Makalunsenge, M. O., Yudistira, A., & Rumondor, E. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi dari *Callispongia aerizusa* yang Diperoleh dari Pulau Manado Tua. Pharmacon. 2022; 11(4), 1679–1684.
- [12] Nuari, S., Anam, S., & Khumaidi, A. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C.Weber) Britton & Rose). Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy) (e- Journal), 2017; 3(2), 118-125. <https://doi.org/10.22487/j24428744.o.vo.io.8771>
- [13] Monica Sandy, Tatiana Siska Wardani, Anita Dwi Septiarini. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak, Fraksi N-Heksan, Fraksi Etil Asetat, Fraksi Air Daun Pegagan (*Centella Asiatica* (L.) Urb) Terhadap *Escherichia coli* ATCC 25922. Media Farmasi Indonesia. 2021; 16 (2), 1683 - 1692.
- [14] Wahdaningsih Sri, Dian S, Inarah F. Uji Aktivitas Afrosiak Ekstrak Etanol 70% Daun Tapak Liman Pada Mencit Putih Jantan Galur BALB/C. Skripsi. Pontianak : Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura. 2012
- [15] Rusdi, N. K., Hikmawanti, N. P. E., Maifitrianti, M., Ulfah, Y. S., & Annisa, A. T. Aktivitas Afrodisiaka Fraksi Dari Ekstrak Etanol 70% Daun Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr) Pada Tikus Putih Jantan. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2018 ; 5(3), 3
- [16] Tanaya, V., Retnowati, R., & Suratmo, S. Fraksi Semi Polar Dari Daun Mangga Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterm) . Doctoral dissertation, Brawijaya University. 2015.
- [17] AL, A. Q., Mawarni, I., Amar, I. N., & Sulaeman, D. I. Kajian Efek Ekstrak Tumbuhan Terkait Libido Mencit (*Mus musculus* L). Jantan. *Biology and Biology Education Journal*, 2025 ; 2(01), 11-22.
- [18] Siti, S. K. Perbandingan Uji Efek Afrodisiak Beberapa Tanaman Herbal Pada Tikus Putih Jantan Hipertensi (Doctoral Dissertation, Universitas Andalas). 2000.