

Penentuan Suhu Terprogram Optimum pada Analisis Asam Lemak Hasil Ekstrak Mikroalga *Chlorella* Menggunakan Instrument GCMS

Surani ^{1,*}, Cahyo Pujiasmoro², Asep Kadarohman¹

¹ Departmen Pendidikan Kimia, FPMIPA UPI Jalan Dr. Setiabudhi No. 229 Bandung 40154, Indonesia

² Departmen Pendidikan Fisika, FPMIPA UPI Jalan Dr. Setiabudhi No. 229 Bandung 40154, Indonesia

* Email: suranihendra@upi.edu

Abstrak. Suhu kolom Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GCMS) merupakan salah satu variabel yang harus diperhatikan pada analisis senyawa kimia, agar senyawa terpisahkan dengan baik. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan suhu terprogram optimum pada analisis asam lemak menggunakan instrumen GCMS. Sampel asam lemak yang digunakan berasal dari hasil ekstrak mikroalga *Chlorella*. Ekstraksi mikroalga *Chlorella* dilakukan dengan cara sonikasi selama 60 menit menggunakan pelarut n-heksana. Variasi suhu terprogram GCMS yang dilakukan, yaitu kenaikan suhu masing-masing pada 5 °C/menit, 7 °C/menit, 9 °C/menit, 12 °C/menit dengan suhu awal 80 °C dan suhu akhir 270 °C. Jumlah sampel yang diinjeksikan sebanyak 0,2 µL. Data hasil analisis diolah dengan cara membandingkan waktu retensi dan lama waktu analisis. Ditemukan, kondisi optimum suhu terprogram pengukuran, yaitu suhu awal 80 °C dan kenaikan 9 °C/menit sampai suhu 270 °C dengan lama waktu analisis 21,1 menit. Asam lemak yang terkandung dalam ekstrak mikroalga *Chlorella* yaitu asam palmitat, asam oleat dan asam stearat. Dengan menggunakan metode pengukuran ini waktu analisis menjadi lebih singkat dan senyawa yang diharapkan dapat teridentifikasi dengan baik.

Kata kunci: Analisis, GCMS, suhu terprogram, asam lemak, mikroalga *Chlorella*.

Abstract. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GCMS) column temperature is one of the variables that must be considered in the analysis of chemical compounds, so that the compounds are appropriately separated. This study aims to determine the optimum programmed temperature for fatty acid analysis using the GCMS instrument. The fatty acid samples used were derived from the extract of *Chlorella* microalgae. *Chlorella* microalgae extraction was done by sonication for 60 minutes using hexane as solvent. The GCMS programmed temperature variations were carried out, namely the temperature increase was 5 °C/minute, 7 °C/minute, 9 °C/minute, 12 °C/minute with an initial temperature of 80 °C and a final temperature of 270 °C. The number of samples injected was 0.2 µL. The data from the analysis is processed by comparing the retention time and analysis time. It was found that the optimum condition for the programmed temperature measurement was the initial temperature of 80 °C and an increase of 9 °C/minute to a temperature of 270 °C with an analysis time of 21.1 minutes. The fatty acids in *Chlorella* microalgae extract are palmitic acid, oleic acid and stearic acid. By using this measurement method, the analysis time is shortened and the expected compounds can be identified properly

Keywords: Analysis, GCMS, programmed temperature, fatty acids, *Chlorella* microalgae

PENDAHULUAN

Kromatografi gas merupakan metode yang dinamis dalam pemisahan dan deteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap dalam suatu campuran. Kromatografi gas merupakan teknik instrumental yang dikenal pertama kali sejak tahun 1950-an dan saat ini

merupakan alat utama yang digunakan oleh laboratorium untuk melakukan analisis. Perkembangan teknologi yang signifikan dalam bidang elektronik, komputer dan kolom telah menghasilkan batas deteksi yang lebih rendah serta identifikasi senyawa menjadi lebih akurat melalui teknik analisis dengan resolusi yang meningkat [1].

Metode GC-MS merupakan Metode pemisahan sampel menggunakan kromatografi gas sedangkan analisa senyawanya menggunakan spektroskopi massa. Prinsip dasar dari spektrofotometri massa adalah untuk menghasilkan ion baik dari senyawa anorganik atau organik dengan metode yang sesuai, untuk memisahkan ion-ion suatu senyawa dengan berdasarkan mass-to-charge (m/z) dan mendeteksinya secara kualitatif dan kuantitatif dengan m/z dari masing-masing senyawa dan kelimpahannya [2]. Metode GC-MS memiliki sensitivitas tinggi sehingga dapat memisahkan senyawa yang saling bercampur dan mampu menganalisa berbagai senyawa walaupun dalam kadar/ konsentrasi yang rendah [3].

Keunggulan metode GC-MS antara lain: efisien, resolusi tinggi sehingga dapat digunakan untuk menganalisis partikel yang sangat kecil. Aliran gas sangat terkontrol dan kecepatannya tetap. Analisis cepat, biasanya hanya beberapa menit. Tidak merusak sampel. Sensitivitas tinggi, dapat memisahkan berbagai senyawa yang bercampur satu sama lain dan dapat menganalisis berbagai senyawa bahkan dalam kadar/konsentrasi rendah. Adapun kekurangan metode GCMS ini antara lain, hanya bisa menganalisa zat yang mudah menguap dan tidak dapat memisahkan campuran dalam jumlah yang besar. [4]

Cara kerja dari instrumen ini adalah sampel yang akan dianalisa diinjeksikan ke dalam kromatografi gas dengan kondisi suhu tertentu sehingga sampel diubah menjadi fasa uap, dibawa melewati kolom kapiler dengan bantuan gas pembawa menuju detektor (MS). Pada spektroskopi massa sampel ditembakkan oleh elektron, dari struktur yang berupa molekul diubah menjadi dalam bentuk ionnya. Kemudian terbaca dalam komputer, berupa data kromatogram GC dan MS.

Pemisahan senyawa campuran menjadi senyawa tunggal terjadi berdasarkan perbedaan sifat kimia dan waktu yang diperlukan bersifat spesifik untuk masing masing senyawa. Pendeteksian berlangsung didalam spektroskopi massa dengan mekanisme penembakan senyawa oleh elektron menjadi molekul terionisasi dan pencatatan pola fragmentasi yang terbentuk dibandingkan dengan pola fragmentasi senyawa standar yang diindikasikan dengan persentase similarity index (SI).

Pada kromatografi gas, fase gerakanya berupa gas yang dialirkan ke dalam kolom dengan tekanan aliran yang sedemikian rupa

teratur melewati sistem injektor. Beberapa mikroliter cuplikan dapat disuntikkan dengan menggunakan jarum suntik ke injektor. Di dalam injektor cuplikan akan menjadi fase gas dan bersama-sama gas pembawa masuk ke dalam kolom [5].

Pada saat cuplikan berada didalam kolom, maka akan terjadi pemisahan senyawa hal ini terjadi karena adanya interaksi antara senyawa dan fasa diam. Senyawa yang mempunyai afinitas rendah terhadap fasa diam akan keluar terlebih dahulu dari kolom.

Temperatur oven mengikuti sistem terprogram yang dapat diatur dengan menyesuaikan titik didih atau titik uap sampel sehingga sampel yang kita analisis dapat melewati suhu optimalnya dan dapat terbaca oleh detector. Temperatur oven akan berpengaruh terhadap waktu retensi [7]. Waktu retensi adalah waktu yang dibutuhkan zat terlarut dari waktu injeksi sampai keluar puncak kromatogram. Waktu retensi adalah ukuran jumlah waktu yang dihabiskan zat terlarut dalam kolom. Menurut Eaton [8], hal-hal yang mempengaruhi waktu retensi yaitu:

1. Sifat senyawa, semakin sama kepolaran dengan kolom dan makin kurang keatsiriannya maka akan tertahan lebih lama di kolom dan sebaliknya.
2. Sifat adsorben, semakin sama kepolaran maka senyawa akan semakin lama tertahan dan sebaliknya.
3. Konsentrasi adsorben, semakin banyak adsorben maka senyawa semakin lama tertahan dan sebaliknya.
4. Temperatur kolom, semakin rendah temperatur maka senyawa semakin lama tertahan dan sebaliknya.
5. Aliran gas pembawa, semakin kecil aliran gas maka senyawa semakin lama tertahan dan sebaliknya.

Gas pembawa ditempatkan dalam tabung bertekanan tinggi dan memiliki pengatur tekanan hingga tekanan atau laju aliran gas dalam kolom tetap. Gas pembawa He , N_2 , H_2 , Ar , umumnya digunakan, tetapi untuk detektor konduktivitas termal, He lebih disukai karena konduktivitas termalnya yang lebih tinggi [9]. Sampel diinjeksikan dengan suatu *macro syringe* melalui suatu septum karet silikon ke dalam kotak logam yang panas dengan cara cuplikan yang akan dikromatografi disuntikkan kedalam ruang injeksi berupa lubang yang ditutupi dengan pemisah karet (septum) [9].

Kolom kemas adalah pipa yang terbuat dari logam, kaca atau plastik yang berisi penyangga padat yang inert. Fase diam, baik berwujud padat maupun cair, diserap atau terikat secara kimia pada permukaan penyangga padat tersebut. Kolom kemas (*packed column*) mempunyai diameter 0,5 cm dan panjang sampai 5-10 meter. Kolom kapiler kini lebih banyak digunakan untuk menganalisis komponen minyak atsiri. Hal ini disebabkan oleh kelebihan kolom tersebut yang memberikan hasil analisis dengan daya pisah yang tinggi dan sekaligus memiliki sensitivitas yang tinggi. Bahan kolom biasanya dari gelas baja tahan karat atau silika. Fase diam bersifat sebagai cairan berupa lapisan film dilapiskan pada dinding kolom bagian dalam. Keuntungan kolom kapiler adalah jumlah sampel yang dibutuhkan sedikit dan pemisahan lebih sempurna.

Kolom kapiler biasanya mempunyai diameter 0,1 mm dan mencapai panjang 30 m [10]. Peka terhadap komponen-komponen yang terpisahkan di dalam kolom serta mengubah kepekaannya menjadi sinyal listrik. Kuat lemahnya sinyal bergantung pada laju aliran massa sampel dan bukan pada konsentrasi sampel gas penunjang. Renteng suatu detektor dinyatakan sebagai sinyal terbesar yang teramati dibagi sinyal terlemah yang masih terdeteksi dan masih memberikan respon yang linear. Detektor harus terletak dekat kolom menghindarkan kondensasi cairan maupun dekomposisi sampel sebelum mencapai detektor.

Sistem kromatografi untuk suatu analisis diperlukan optimasi agar mendapatkan kondisi pengukuran yang baik. Resolusi yang tinggi dan waktu analisa yang lebih cepat merupakan parameter untuk dipilihnya suatu kondisi analisis yang baik. Parameter kromatografi gas dapat dioptimasi dengan beberapa modifikasi. Optimasi dilakukan pada pemilihan gas pembawa, kecepatan alir gas pembawa, mode dan volume injeksi, suhu injeksi, suhu kolom, pengaturan kenaikan suhu terprogram, suhu *ion source temperature* dan *interface temperature*. Pada penelitian kali ini akan dilakukan optimasi kondisi pengukuran pengaruh suhu kolom dan kenaikan suhu terprogram terhadap waktu analisa. Suhu terprogram bertujuan untuk meningkatkan resolusi komponen-komponen dalam satu campuran yang mempunyai titik didih yang luas [1].

Dalam biomassa mikroalga terkandung bahan-bahan penting yang sangat bermanfaat seperti protein, karbohidrat, lemak dan asam nukleat. Persentase komponen tersebut bervariasi tergantung jenis alga. Bukan hanya itu mikroalga sangat mudah tumbuh dan berkembang biak, sehingga mikroalga dapat dijadikan sebagai bahan baku untuk memproduksi produk-produk yang lain seperti : Biodiesel, minyak omega 3 dan pakan ternak. Pada penelitian sebelumnya, dihasilkan sebuah metode ekstraksi asam lemak yang efektif untuk mikroalga menggunakan metode sonikasi. Untuk mengetahui efektivitas metode tersebut kita harus melakukan analisa pengukuran asam lemak baik jenis maupun kadarnya, Untuk itu harus dilakukan analisa menggunakan Gas chromatography mass spectrometry (GCMS). Analisa menggunakan GC-MS telah terbukti menjadi metode yang selektif untuk analisis komponen non-polar dan minyak atsiri yang mudah menguap, asam lemak, lipid, alkaloid, terpenoid dan steroid [11].

METODE PENELITIAN

Bahan

Pada penelitian ini bahan yang digunakan biomassa kering mikroalga *chlorella*, kertas saring dan *n*-heksana.

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah tabung ulir bertutup 20 ml, pipet ukur 10 ml, corong, gelas kimia, ultrasonic dan GCMS Ultra 2012.

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Siapkan alat dan bahan yang akan digunakan kemudian timbang 3 gr biomassa kering, dimasukkan kedalam tabung ulir dan tambahkan 10 ml *n*-heksana kemudian lakukan sonikasi menggunakan alat ultrasonic selama 60 menit. Maserasi selama 24 jam, kemudian saring untuk memisahkan endapannya. Tampung filtratnya di gelas kimia kemudian uapkan di ruang asam hingga kering. Sampel ekstrak mikroalga siap untuk dianalisa.

Analisa GCMS

Untuk pengaturan *temperature* terprogram digunakan suhu awal kolom 80^o C kemudian dinaikkan suhunya 5^o C/menit

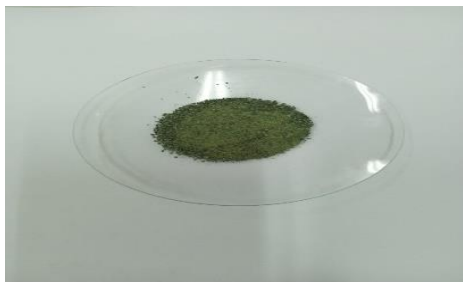
sampai 270°C. Untuk variasi kenaikan suhu terprogram dilakukan dengan kenaikan suhu 7° C/menit, 9 °C/menit, dan 12 °C/ menit . Setelah kondisi analisa siap, bilas syringe dengan hexane sebanyak tiga kali, kemudian bilas dengan sampel sebanyak tiga kali. Ambil 0,2 µL sampel, kemudian injeksikan sampel ke dalam gerbang injector. Setelah analisa selesai data yang dihasilkan kemudian diolah.

HASIL DAN PEMBAHASAN



Gambar 1. Instrumen GCMS 2010 Ultra

Pada penelitian ini digunakan sampel biomassa kering mikroalga *chlorella* dan pelarut *n-heksana*, pemilihan *n-heksana* sebagai pelarut ini berdasarkan hasil penelitian sebelumnya tentang variasi jenis pelarut untuk ekstraksi lipid mikroalga *chlorella*.

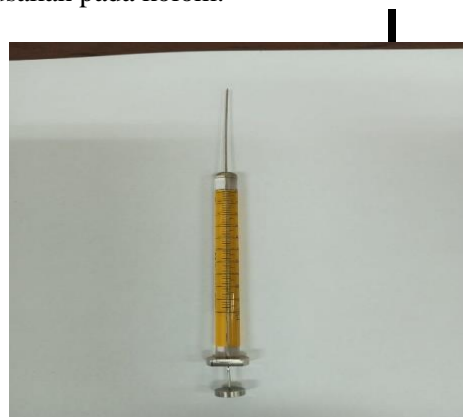


Gambar 2. Biomassa kering mikroalga *chlorella*

Metode ekstraksi lemak yang digunakan adalah metode sonikasi dengan menggunakan instrumen ultrasonik dan lama sonikasi 60 menit. Alat ultrasonik ini berfungsi untuk memecah dinding sel dan membran dari mikroalga. Kecepatan gerak yang tinggi pada sonikasi menyebabkan efek yang disebut kavitasi dan efek ini menghasilkan energi yang besar seperti energi panas, tekanan dan regangan mekanis. Dengan energi yang besar tersebut dapat dengan mudah merusak dinding sel.

Ekstrak lipid yang siap untuk dianalisa,

kemudian diinjeksikan ke gerbang injector menggunakan syringe. Sampel yang diinjeksikan sebanyak 0.2 µL, volume sampel tidak boleh terlalu banyak maksimal 0.5 µL jika terlalu banyak akan merusak kolom. Kemudian sampel akan dibawa oleh gas pembawa ke dalam kolom, Gas pembawa yang digunakan adalah helium UHV. Gas yang dapat digunakan pada dasarnya haruslah inert, kering, dan bebas oksigen. Kondisi seperti ini dibutuhkan karena gas pembawa ini dapat saja bereaksi dengan sampel yang akan dianalisa. Untuk mendapatkan hasil yang optimum, harus digunakan gas dengan kemurnian diatas 99,995%. Kontaminan seperti udara atau air dapat menyebabkan dekomposisi sampel dan kerusakan pada kolom.



Gambar 3. Syringe 10 µL

Untuk mendapatkan hasil analisa yang valid kondisi pengukuran harus tepat. Resolusi yang tinggi dan waktu analisa yang lebih cepat merupakan parameter untuk dipilihnya suatu kondisi analisis yang baik. Suhu terprogram bertujuan untuk meningkatkan resolusi komponen-komponen dalam satu campuran yang mempunyai titik didih yang luas [3].

Pada penelitian ini temperatur oven yang digunakan adalah 80 °C. Temperatur oven mengikuti sistem terprogram yang dapat diatur dengan menyesuaikan titik didih atau titik uap sampel sehingga sampel yang kita analisis dapat melewati suhu optimalnya dan dapat terbaca oleh detector. Untuk optimasi kenaikan suhu terprogram dengan variasi kenaikan suhu 5 °C/menit, 7 °C /menit, 9 °C /menit, 12 °C /menit dan suhu akhir 270 °C. Kolom yang digunakan pada GCMS ultra 2010 adalah kolom kapiler dengan jenis Rtx-5MS dengan spesifikasi sebagai berikut: 5 % diphenyl dan 95% dimethyl polysiloxane dengan panjang 30 meter, diameter 0,25 mikro

meter, maksimal suhu terprogram 350⁰ C. Pada instrumen GCMS kolom terletak didalam oven.



Gambar 4. Kolom Rtx-5MS

Di dalam kolom senyawa-senyawa cuplikan terpisah satu terhadap yang lain karena adanya interaksi antara senyawa dan fase diam. Pada instrumen GCMS kolom merupakan fasa diam sedangkan fasa geraknya adalah gas. Suhu kolom harus dijaga agar cuplikan tetap berupa gas. Senyawa-senyawa yang mempunyai afinitas rendah terhadap fase diam akan keluar terlebih dahulu dari kolom dan senyawa yang mempunyai afinitas yang tinggi akan ke luar kemudian [6].

Tabel 1. Pengaruh kenaikan suhu terprogram terhadap waktu retensi dan waktu analisa

| Kenaikan suhu (C) | Asam palmitat | | Asam Oleat | | Asam Stearat | | Waktu analisa (menit) |
|-------------------|---------------|-----------|---------------|-----------|---------------|-----------|-----------------------|
| | Waktu retensi | Kadar (%) | Waktu retensi | Kadar (%) | Waktu retensi | Kadar (%) | |
| 5 | 26,41 | 35,01 | 30,82 | 20,22 | 31,29 | 5,99 | 33,17 |
| 7 | 22,39 | 33,93 | 25,01 | 20,11 | 25,35 | 5,39 | 27,14 |
| 9 | 18,32 | 32,43 | 20,38 | 19,81 | 20,61 | 4,09 | 21,11 |
| 12 | 14,73 | 36,01 | 16,32 | 17,50 | - | - | 18,83 |

Dari data tabel 1. dapat dilihat, kenaikan suhu terprogram akan berpengaruh terhadap waktu analisa, semakin kecil kenaikan suhunya maka waktu analisa akan semakin lama sebaliknya jika kenaikan suhunya tinggi maka waktu analisa akan singkat. Pada kenaikan suhu terprogram 5 ⁰C/menit lama analisa 33,17 menit sedangkan untuk kenaikan suhu 12 ⁰C/menit dengan lama analisa 18,83 menit.

Pada tabel diatas dapat dilihat waktu retensi untuk setiap senyawa yang teridentifikasi. Waktu yang menunjukkan berapa lama suatu senyawa tertahan di kolom disebut waktu retensi, yang diukur mulai saat penyuntikan sampai saat elusi terjadi [7].

Setiap senyawa mempunyai waktu retensi yang berbeda-beda, setiap senyawa akan terpisah didalam kolom kemudian akan terbaca oleh detektor sehingga akan muncul puncak kromatogram dan waktu retensi dari senyawa tersebut. Untuk senyawa yang mempunyai titik didih lebih rendah akan terpisah terlebih dahulu sehingga waktu retensinya lebih dulu

muncul dibandingkan dengan senyawa yang mempunyai titik didih lebih tinggi. Pada mikroalga *chlorella* ini senyawa yang teridentifikasi merupakan asam lemak. Asam lemak yang teridentifikasi lebih dahulu adalah asam palmitat (C₁₆ H₃₂O₂) dengan titik didih 351 ⁰ C, kemudian asam oleat (C₁₈ H₃₄O₂) dengan titik didih 360 ⁰ C dan yang terakhir yaitu asam stearat (C₁₈ H₃₆O₂) dengan titik didih 361 ⁰ C.

Selain berpengaruh terhadap waktu analisa pengaturan kenaikan suhu terprogram juga akan berpengaruh terhadap waktu retensi. Pada kenaikan suhu 5 ⁰C/menit asam palmitat muncul di waktu retensi (26,41 menit), asam oleat (30,82 menit) dan asam stearat (31,29 menit). Pada kenaikan 7 ⁰C/menit waktu retensi asam palmitat (22,39 menit), asam oleat (25,01 menit), asam stearat (25,35 menit). Kemudian untuk kenaikan 9 ⁰C/menit waktu retensi asam palmitat (18,32 menit), asam oleat (20,38 menit), asam stearat (20,61menit). Untuk kenaikan 12 ⁰C/menit asam palmitat (14,73 menit), asam oleat (16,32 menit)

sedangkan untuk asam stearat tidak terdeteksi. Semakin tinggi kenaikan suhu terprogram maka akan semakin cepat pula asam lemak terpisah dari senyawa lainnya sehingga waktu retensinya akan semakin cepat muncul, sedangkan semakin kecil kenaikan suhu terprogram maka akan semakin lama asam lemak terpisah dari senyawa lain sehingga waktu retensinya akan semakin lama.

Dari data tabel 1. untuk kenaikan suhu 5 °C/menit, 7 °C/menit dan 9 °C/menit semua asam lemak yang diharapkan dapat teridentifikasi dengan baik, sedangkan pada kenaikan suhu 12 °C/menit asam stearat tidak teridentifikasi. Asam stearat mempunyai kadar yang paling rendah diantara tiga asam lemak, dengan kondisi tersebut, pada saat kenaikan suhu berlangsung sangat cepat sedangkan kadar dari asam stearat sangat kecil kemungkinan zatnya sudah habis terlebih dulu sehingga asam stearat tidak dapat terdeteksi. Dari data penelitian ini ditemukan, kondisi optimum suhu terprogram pengukuran, yaitu suhu awal 80 °C dan kenaikan 9 °C/menit sampai suhu 270 °C dengan lama waktu analisis 21,1 menit.

KESIMPULAN

1. Kenaikan suhu terprogram akan berpengaruh terhadap waktu retensi senyawa, waktu dan hasil analisa.
2. kondisi optimum suhu terprogram pengukuran, yaitu suhu awal 80 °C dan kenaikan 9 °C/menit sampai suhu 270 °C dengan lama waktu analisis 21,1 menit.
3. Jenis asam lemak dari mikroalga *chlorella* yang teridentifikasi yaitu asam palmitat, asam oleat dan asam stearat

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Universitas Pendidikan Indonesia yang telah memberikan kesempatan dan dukungan dana penelitian pada tahun 2022. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Prof. Dr. Asep Kadarohman, M.Si yang telah membimbing dalam pembuatan artikel ini, Pimpinan Departemen Pendidikan Kimia, Kepala Laboratorium Kimia Instrumen dan rekan rekan PLP yang telah memberikan dukungan pada penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Gandjar, Ibnu Gholib, Dea dan Abdul Rohman. 2007. "Kimia Farmasi Analisis".

Pustaka Pelajar: Yogyakarta.

2. Gross, J.H., 2017, *Mass Spectrometry A Textbook*, Third Edition, Springer, New York.
3. Gandjar, I.G. dan Rohman, A., 2012, *Analisis Obat Secara Spektrofotometri dan Kromatografi*, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
4. Hermanto, 2008, *Aplikasi Alat HPTLC dan GC-MS*, Jakarta
5. Syafrian, S.C. 1991. "Penuntun Praktikum Kromatografi Gas". Universitas Hasanuddin: Ujung Pandang.
6. McNair, H.M. dan E. J. Bonelli. 1988. "Dasar Kromatografi Gas" 5th Ed., Terjemahan K. Padmawinata. ITB: Bandung.
7. Gritter, Robbit R. J. dan J. M. 1991. "Schwating. *Introduction of Chromatography*". Terjemahan, Kosasih Padmawinata. *Pengantar Kromatografi Edisi ke-3*. ITB: Bandung
8. Eaton, D.C., 1989, *Laboratory Investigation in Organic Chemistry*, McGraw – Hill, USA
9. Khopkar, S.M. 2007. "Konsep Dasar Kimia Analitik". Universitas Indonesia (UI-Press): Jakarta.
10. Nanda, Sari. 2011. "Karakterisasi Simplisia Dan Isolasi Serta Analisis Komponen Minyak Atsiri Secara GC-MS Dari Buah Kulit Jeruk bali (*Citrus Maxima Pericarpium*)". Universitas Sumatera Utara: Sumatera.
11. Hema, R., Kumaravel, S., Alagusundaram K. 2011. GC/MS determination of bioactive components of *Murraya koenigii*.