

DEGRADASI SELULOTIK DAUN CENGKEH MENGUNAKAN *ASPERGILLUS NIGER* UNTUK MENINGKATKAN *YIELD* MINYAK PADA PENYULINGAN

Chandrawati Cahyani^{*)}, Vivi Nurhadianty, Rb. Moh. Miftahol Arifin, Krisnanda Alif Bagus Wicaksono, dan Aji Hendra Sarosa

Jurusan Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya
Jl. Mayjen Haryono No. 167, Malang, 6541, Telp : (0341) 587710 ext : 1333, Fax: (0341)574140

^{*)}Penulis korespondensi : ccahyani@ub.ac.id

Abstract

Cellulotic degradation of clove leave using aspergillus niger to improve oil yield in distillation practices. The average yield of clove oil by steam distillation was 1.68%. This study used Aspergillus niger to degrade cellulotic membrane of clove leaves. The parameters observed were effect of fermentation times (48, 96, and 192 h) to the yields of clove oil and eugenol contents in the oil. Fermentation was maintained at temperature of 25-30°C and a pH of 7. Then, a steam distillation of the fermented clove leaves was conducted for 6 hours at the boiling point of water at barometric pressure. This research showed the yield of clove oil, as well as the eugenol content in oil, decreased by increasing the fermentation time.

Keywords: clove oil; cellulotic fermentation; *Aspergillus niger*; distillation

Abstrak

Degradasi selulotik daun cengkeh menggunakan Aspergillus niger untuk meningkatkan yield minyak pada penyulingan. Rendemen rata-rata minyak daun cengkeh melalui distilasi uap sekitar 1,68%. Penelitian ini menggunakan Aspergillus Niger untuk mendegradasi membrane selulotik daun cengkeh. Parameter yang diamati adalah pengaruh lama waktu fermentasi, 46, 96 dan 192 jam, terhadap rendemen minyak cengkeh yang dihasilkan dan kandungan eugenol dalam minyak tersebut. Fermentasi daun cengkeh dengan Aspergillus niger dilakukan pada temperatur 25-30°C dan pH 7. Setelah fermentasi, distilasi uap daun cengkeh dilakukan pada tekanan barometrik selama 6 jam pada temperatur didih air. Penelitian ini menunjukkan rendemen dan kandungan senyawa aktif eugenol pada minyak daun cengkeh mengalami penurunan seiring bertambahnya waktu fermentasi.

Kata kunci: minyak daun cengkeh; fermentasi selulotik; *Aspergillus niger*; penyulingan

PENDAHULUAN

Minyak atsiri adalah produk alam yang memiliki karakteristik fisikokimia yang berguna sehingga memiliki nilai tambah di masyarakat. Produk ini dapat digunakan dalam berbagai bidang, yaitu kedokteran (sebagai anti bakteri), industri makanan (bahan pengawet), industri parfum (bahan pewangi), dan lain-lain (El Asabahani dkk., 2015).

Salah satu produk unggulan Indonesia yang memiliki komoditas besar dalam dunia minyak atsiri adalah tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Minyak atsiri cengkeh sangat diperlukan dalam berbagai industri seperti bahan baku dalam perasa

maupun pewangi makanan (*flavour and fragrance ingredients*), industri kosmetik dan lainnya (Wijaya dkk, 2015). Tiga minyak atsiri yang bisa didapat dari tanaman cengkeh adalah minyak bunga cengkeh, minyak batang cengkeh, dan minyak daun cengkeh. (Alma dkk., 2007).

Pada daun cengkeh hanya sekitar 1,68% minyak yang dapat diambil dengan metode distilasi uap (Wijaya dkk., 2015). Beberapa peneliti terdahulu menyimpulkan bahwa peningkatan rendemen minyak atsiri daun cengkeh dapat dilakukan dengan fermentasi selulotik sebelum dilakukan distilasi.

Penelitian Wijaya dkk. (2015) menunjukkan bahwa proses fermentasi dengan *Trichoderma resei* memberikan hasil terbaik dengan kenaikan rendemen sebesar 57,7% dibandingkan dengan delignifikasi yaitu 39,9%. Penelitian Ashary (2011) membuktikan aktivitas enzim selulase dari kapang *Aspergillus niger* lebih tinggi dibanding kapang jenis *Trichoderma resei*, yaitu 2,312 U/ml:1,0927 U/ml.

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji penggunaan kapang *Aspergillus niger* sebagai perlakuan awal daun cengkeh terhadap minyak daun cengkeh yang dihasilkan pada distilasinya. Kajian juga dilakukan dengan variasi kelembaban fermentor.

METODE PENELITIAN

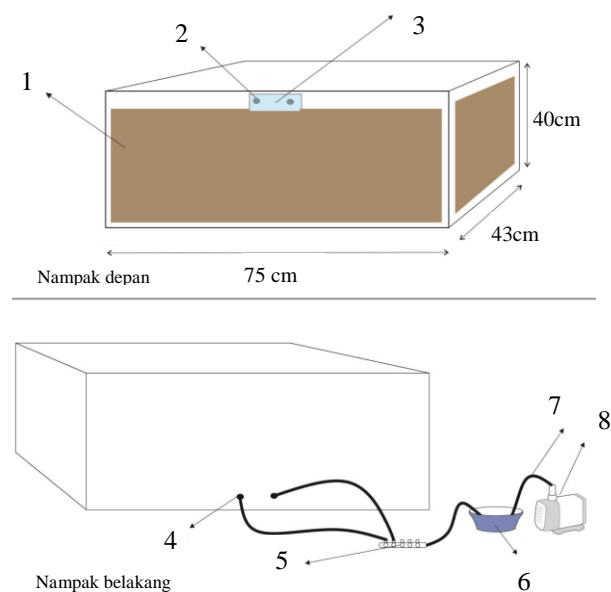
Tempat Penelitian

Laboratorium Teknik Bioproses, Jurusan Teknik Kimia, Universitas Brawijaya.

Alat dan Bahan

Peralatan utama yang digunakan adalah wadah tertutup kedap udara dan kedap termal dengan kapasitas 100 L sebagai tempat terjadinya fermentasi (Gambar 1), alat distilasi uap dengan kapasitas 50 L, dan Spektrofotometer UV-VIS OPTIZEN POP.

Bahan utama yang digunakan adalah daun cengkeh rakyat yang diperoleh dari daerah Wlingi, Blitar, Jawa Timur dan *Aspergillus Niger* sebagai mikroorganisme pendegradasi awal daun cengkeh.



Gambar 1. Desain Fermentor Substrat Padat

Keterangan gambar:

1. Tempat daun cengkeh.
2. Lubang udara keluar
3. Penyaring udara septik
4. Lubang udara masuk
5. Valve udara
6. Pelembab udara
7. Selang udara
8. Kompresor udara

Aspergillus Niger merupakan kapang yang dapat tumbuh secara aerobik pada materi organik dan dapat hidup pada berbagai temperatur dan pH (Beer, 2008). *Aspergillus Niger* menghasilkan enzim selulase untuk menghidrolisis ikatan $\beta(1-4)$ pada selulose. Hidrolisis enzimatik yang sempurna memerlukan aksi sinergi dari tiga tipe enzim ini, yaitu endo-1,4- β -glucanase, exo-1,4- β -glucanase, β -glucosidase (Ikram dkk., 2005).

Prosedur Percobaan

Percobaan diawali dengan membuat kurva pertumbuhan *Aspergillus niger* pada media PDA. Penghitungan jumlah sel menggunakan metode *cell dry weight* karena *Aspergillus niger* merupakan mikroorganisme yang memiliki hifa, sehingga tidak dapat dihitung menggunakan kamar hitung. *Cell dry weight* merupakan salah satu metode perhitungan mikroorganisme dengan perhitungan berat kering (Maryanty, 2010).

Daun cengkeh sebanyak 2000 gram, yang telah bersih dari pengotor, disemprot dengan 1000 mL larutan *starter* secara merata. Larutan *starter* tersebut mengandung larutan nutrisi dan *Aspergillus niger* 6%. Daun cengkeh tersebut dimasukkan ke dalam wadah fermentor. Fermentasi dijaga pada kisaran suhu 25-30°C, pada pH 7. Fermentasi dilakukan selama 2 hari, 4 hari, dan 8 hari.

Dilakukan pengukuran kelembaban (*moisture*) dan temperatur substrat dilakukan pengecekan sekali setiap hari. Selama fermentasi dialirkan udara melalui kompresor untuk menjaga kondisi aerobik dan mengontrol temperatur dalam fermentor. Kelembaban dijaga pada kisaran 50-60% untuk variabel kontrol kelembaban. Pengadukan dan pembalikan pada bahan dilakukan sekali setiap hari untuk mengeluarkan panas, menjaga suhu dan menghomogenkan bahan *starter* dalam fermentor.

Daun cengkeh hasil fermentasi dimasukkan ke dalam ketel suling. Penyulingan dilakukan secara *direct steam distillation*. Distilasi dilakukan selama 6 jam pada suhu mendidih tekanan barometrik dimana setiap satu jam ditambahkan *make up water*. Selanjutnya minyak cengkeh dipisahkan dari air embunan, dan dihitung rendemennya. Pengukuran rendemen minyak cengkeh mengikuti persamaan 1.

$$\text{Rendemen minyak} = \frac{\text{massa minyak}}{\text{massa daun cengkeh}} \times 100\% \quad (1)$$

Rancangan Percobaan

Percobaan dalam penelitian ini menggunakan variabel lama waktu fermentasi dan tingkat kelembaban (*moisture*) substrat. Lama fermentasi yang digunakan yaitu nol hari, dua hari, empat hari, delapan hari.

Perlakuan terhadap substrat ada dua yaitu dengan dikontrol kelembabannya dan yang tidak dikontrol kelembabannya. Variabel tersebut disusun secara faktorial dan mengikuti kombinasi sesuai dengan Tabel 1.

Tabel 1. Hubungan tiap variabel dalam penelitian

B. Kontrol Substrat	A. Lama Fermentasi			
	1.No1 hari	2.Dua hari	3.Empat hari	4.Delap an hari
1.Tanpa kontrol <i>moisture</i>	A ₁	A ₂ B ₁	A ₃ B ₁	A ₄ B ₁
2.Dengan kontrol <i>moisture</i>		A ₂ B ₂	A ₃ B ₂	A ₄ B ₂

Metode Analisis

Karakterisasi dilakukan terhadap daun cengek yang telah mendapatkan perlakuan dan minyak daun cengek yang telah dihasilkan. Karakterisasi maupun uji yang dilakukan meliputi:

- Uji morfologi daun cengek yang telah difermentasi dengan menggunakan *Scanning Electron Microscope* (SEM) merk Hitachi TM3000.
- Uji kepekatan warna dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis merk Mecasys Optizen Pop.
- Uji visual warna minyak dilakukan dengan mengamati minyak tersebut menggunakan mata langsung pada jarak pengamatan 30 cm.
- Uji komposisi minyak daun cengek menggunakan *Gas Chromatography* (GC) tipe HP-5890 dengan jenis kolom CW 20M dan detektor FID. Uji ini bertujuan mengetahui kandungan senyawa aktif dari minyak daun cengek.

HASIL DAN PEMBAHASAN

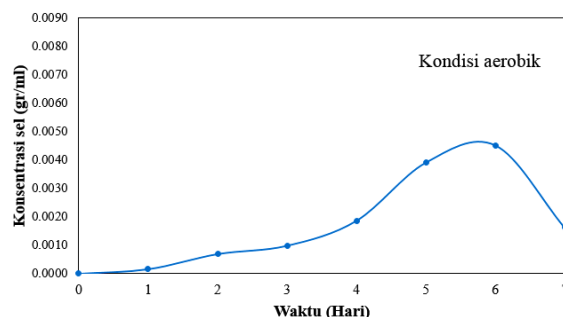
Pembuatan Kurva Pertumbuhan

Massa optimal *Aspergillus niger* yang akan diinokulasikan ke media daun cengek ditentukan dengan pembuatan kurva pertumbuhan dan perhitungan jumlah sel menggunakan metode *Cell Dry Weight*. Penggunaan perhitungan kering karena *Aspergillus niger* adalah mikroorganisme yang memiliki hifa sehingga tidak dapat dihitung menggunakan kamar hitung (Maryanty, 2010).

Gambar 2 menunjukkan pertumbuhan *Aspergillus niger* pada kondisi aerobik. Fase adaptasi (*lag*) *Aspergillus niger* terjadi pada hari pertama. Menurut Waites dkk. (2001) pada fase *lag* tidak terjadi pertumbuhan dan populasi *Aspergillus niger* relatif konstan, kondisi ini dapat terjadi karena adanya perubahan media dari media awal (*Potato Dextrose Agar*) ke media cair glukosa dimana jika mikroba dipindahkan ke suatu media yang baru akan mengalami adaptasi untuk menyesuaikan kondisi lingkungan di sekitarnya.

Fase akselerasi (*exponential*) terjadi pada hari ke dua hingga hari ke lima dimana terlihat perubahan massa sel kering yang sangat signifikan. Hal ini terjadi karena *Aspergillus niger* telah beradaptasi dengan lingkungan sehingga dapat tumbuh dengan baik. Puncak dari kurva pertumbuhan berada di hari ke enam dimana pada hari ke tujuh *Aspergillus niger* sudah mengalami fase kematian (*dead*). Sedangkan

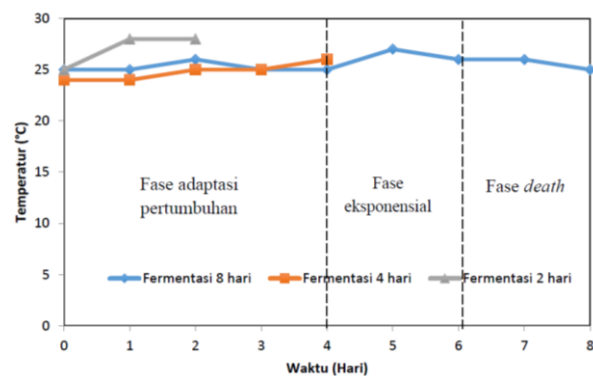
fase stasioner berada di antara hari ke 5 dan ke 6. Oleh karena itu inokulasi media *starter* ke dalam *fermentor* dilakukan pada hari ke 5 saat *Aspergillus niger* berada pada akhir masa akselerasi (*exponential*).



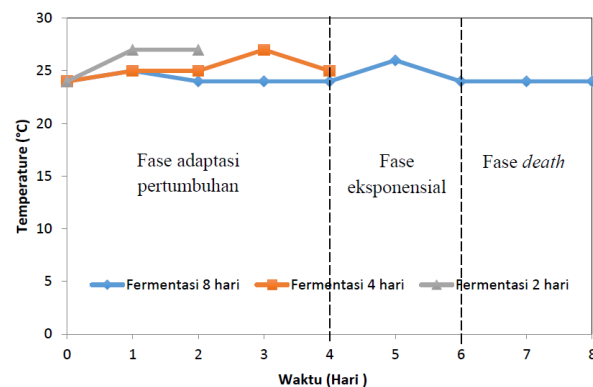
Gambar 2. Kurva pertumbuhan *Aspergillus niger* pada kondisi aerobik.

Perubahan Temperatur dan Kelembaban selama Fermentasi

Pengukuran temperatur dilakukan selama proses fermentasi, dimana kelembaban ruang fermentasi dikendalikan pada 50-55% (Gambar 3). Pengukuran temperatur ruang fermentasi selama proses fermentasi tanpa kendali kelembaban juga dilakukan (Gambar 4).



Gambar 3. Grafik hubungan temperatur dan waktu fermentasi pada kelembaban 50-55 %.



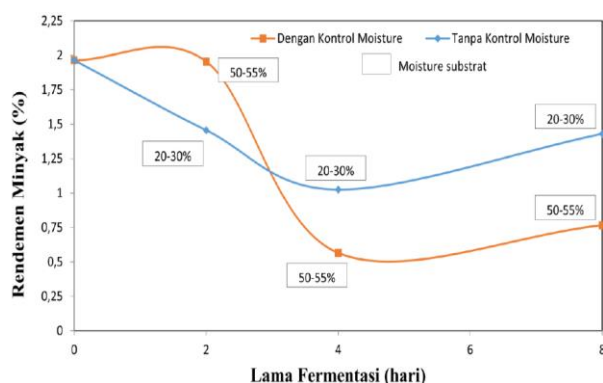
Gambar 4. Grafik hubungan temperatur dan waktu fermentasi pada kelembaban tak terkontrol.

Gambar 3 menunjukkan temperatur yang relatif stabil pada rentang 25–30°C (Bansal dkk., 2012) yang merupakan temperatur optimum bagi pembentukan enzim selulase. Gambar 4 menunjukkan temperatur relatif stabil pada rentang 25–30°C, namun secara rerata lebih rendah dari temperatur pada fermentasi dengan kontrol kelembaban.

Hal tersebut menunjukkan bahwa aktivitas mikroba *Aspergillus niger* pada fermentor dengan kelembaban terkontrol (Gambar 3) relatif sama dengan *fermentor* kelembaban tak terkontrol (Gambar 4).

Pengaruh Waktu Fermentasi terhadap Rendemen Minyak Daun Cengkeh

Terhadap daun cengkeh yang telah terfermentasi, dilakukan distilasi uap. Embunan uap hasil dipisahkan antara lapisan air dan lapisan minyak cengkeh. Rendemen minyak daun cengkeh pada berbagai perlakuan fermentasi ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Rendemen minyak daun cengkeh dengan berbagai perlakuan beserta kelembaban bahan dan lingkungan.

Pada fermentasi dengan kelembaban terkontrol 50–55%, rendemen minyak hasil fermentasi hari ke-4 dan ke-8, nampak menurun hingga 0,56% dan 0,76%. Hal tersebut mungkin terjadi karena selulosa sebagai dinding penyimpan minyak daun cengkeh telah terdegradasi berlebihan oleh aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh *Aspergillus niger*. Akibatnya, karena sifat minyak atsiri yang volatil (minyak terbang), sangat mungkin sebagian minyak daun cengkeh terbawa udara aerasi.

Kemungkinan lain, banyaknya kandungan air di dalam daun cengkeh saat fermentasi 4 hari dan 8 hari menyebabkan energi uap digunakan lebih dahulu untuk menguapkan kelembaban pada daun cengkeh sebelum minyak daun cengkeh terekstrak.

Kelembaban sangat dibutuhkan dalam metabolisme mikroba dan berefek dalam difusi larutan, gas serta perubahan pada sel osmotik. Kelembaban level yang tinggi dapat mengurangi porositas, memacu terbentuknya keadaan yang lengket dan transfer oksigen yang sedikit, yang dapat mengakibatkan keadaan anaerob yang tidak

menguntungkan bagi kinerja *Aspergillus niger*. Sedangkan tingkat kelembaban yang rendah dapat mengurangi kelarutan nutrisi pada substrat padat (Anto dkk., 2006).

Pada penelitian ini, kandungan *moisture* dikontrol pada 50–55% sesuai dengan penelitian Bansal dkk. (2012). Namun kondisi ini menyebabkan daun cengkeh banyak ditumbuhi jamur pengganggu pada hari ke 4–8 yang biasa tumbuh apabila kelembaban pada bahan terlalu tinggi. Berdasarkan penelitian Graca dan Canhoto (2006) menyatakan bahwa jamur pengganggu yang tumbuh pada daun cengkeh yang jatuh ke tanah dan tumbuh karena adanya kelembaban level yang tinggi memiliki enzim *polygalacturonase cellulose* yang dapat mendegradasi kandungan selulosa pada daun cengkeh. Sehingga rendemen minyak daun cengkeh dengan fermentasi daun pada kelembaban tinggi, lebih rendah.

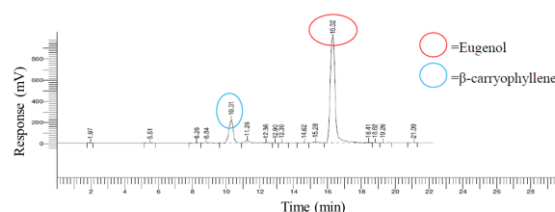
Selain itu, guguran daun cengkeh kering tidak mampu menyerap air yang ditambahkan untuk mengontrol kelembaban, sehingga air hanya menjaga humiditas dalam *fermentor*, namun tidak pada kelembaban daun cengkeh, sehingga tidak banyak berpengaruh terhadap kinerja fermentatif dari *Aspergillus niger*.

Selain itu kadar air ruang *fermentor* yang tinggi sangat mungkin akan mampu menyebabkan hidrolisis minyak daun cengkeh dan menyebabkan terbentuknya asam lemak bebas (Dalimunthe dkk., 2015), serta menurunkan rendemen minyak.

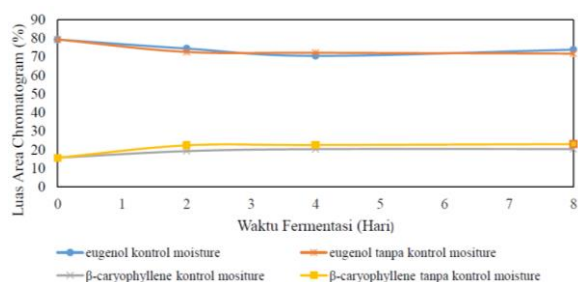
Karakterisasi Minyak Daun Cengkeh Hasil Fermentasi

Karakterisasi minyak daun cengkeh berdasarkan SNI 06-2387-2006 meliputi pengujian kadar *eugenol* dan β -*caryophyllene*, warna, dan bobot jenis. Senyawa aktif pada minyak daun cengkeh yaitu kadar *eugenol* dan β -*caryophyllene*, diukur menggunakan *Gas Chromatography* (GC).

Pada Gambar 6 dan 7, komponen kimia penyusun minyak daun cengkeh terbesar (*peak* tertinggi) adalah *eugenol* dan β -*caryophyllene*. Dari kedua komponen ini dapat dilihat bahwa terjadi penurunan pada kandungan *eugenol* dan peningkatan pada β -*caryophyllene* meskipun tidak signifikan, yaitu $\pm 5\%$.



Gambar 6. Kromatogram untuk minyak daun cengkeh tanpa fermentasi (0 hari)



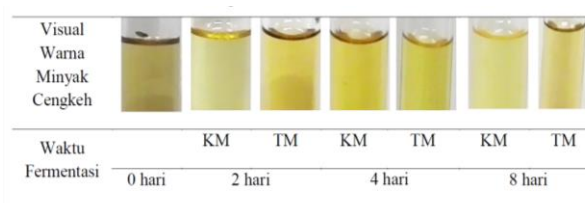
Gambar 7. Kandungan *eugenol* dan β -*caryophyllene* pada berbagai perlakuan.

Pada Gambar 6 dan 7, komponen kimia penyusun minyak daun cengkeh terbesar (peak tertinggi) adalah *eugenol* dan β -*caryophyllene*. Dari kedua komponen ini dapat dilihat bahwa terjadi penurunan pada kandungan *eugenol* dan peningkatan pada β -*caryophyllene* meskipun tidak signifikan, yaitu $\pm 5\%$.

Menurut Abbaszadeh dkk. (2014), *eugenol* memiliki kemampuan *antifungal* atau *antimicrobial* yang menurunkan secara signifikan pertumbuhan jamur. Kemampuan *antifungal* ini yaitu merusak membran sitoplasma, merusak aliran proton dan elektron (transpor aktif) dalam sel, dan koagulasi kandungan sel. Selain itu, menurut Mihai dan Popa (2015), semakin tinggi kandungan *eugenol* dalam media pertumbuhan *Aspergillus niger*, semakin terhambat pula pertumbuhannya. Sehingga, akibat dari rusaknya selulosa karena enzim selulase, minyak cengkeh menguap lebih cepat terbawa udara aerasi. Ini menyebabkan adanya kontak antara minyak cengkeh dan *Aspergillus niger* yang tumbuh di permukaan daun. *Eugenol* akan menghambat pertumbuhan *Aspergillus niger* dan persentase *eugenol* dalam minyak menurun akibat toksisitas dari *eugenol* terhadap *Aspergillus niger*, sedangkan β -*caryophyllene* bukan merupakan senyawa *antifungal*.

Penurunan kadar *eugenol* seiring makin lamanya fermentasi, sebanding dengan penurunan rendemen minyak daun cengkeh. Perusakan selulosa oleh enzim selulase *Aspergillus niger* menyebabkan minyak dan *eugenol* menguap bersamaan ke lingkungan dan atau terhidrolisis.

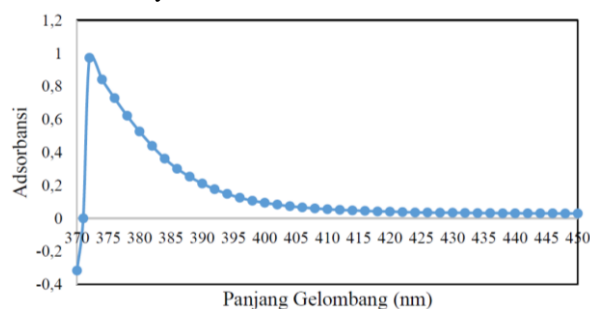
Dari hasil penelitian diperoleh warna minyak yang ditunjukkan pada Gambar 8. Warna minyak daun cengkeh berada dalam standar yang telah ditetapkan SNI 06-2387-2006, yaitu kuning-coklat tua khas minyak cengkeh. Minyak daun cengkeh tanpa fermentasi memiliki warna paling coklat dan gelap. Hal ini disebabkan karena sifat *fenolat* pada *eugenol* sangat mempengaruhi warna minyak daun cengkeh, karena *fenol* bersifat reaktif terhadap udara. Sehingga terjadi reaksi oksidasi dimana oksigen akan diikat oleh *fenol* yang menyebabkan terjadinya pencoklatan pada minyak daun cengkeh (Putri dkk., 2013). Oleh karena itu minyak daun cengkeh tanpa fermentasi memiliki warna yang lebih gelap dibandingkan variabel yang lain dikarenakan kandungan *eugonalnya* yang lebih tinggi.



Gambar 8. Warna minyak daun cengkeh pada perlakuan kelembaban 50 – 55 % (KM) dan tanpa kontrol kelembaban (TM).

Uji spektrofotometri UV-Vis terhadap minyak daun cengkeh juga dilakukan untuk mengetahui apakah ada korelasi antara absorbansi minyak terhadap komposisi senyawa aktif yang terkandung dalam minyak.

Gambar 9 menunjukkan bahwa absorbansi maksimal minyak daun cengkeh terjadi pada panjang gelombang 372 nm yaitu sebesar 0,972. Dengan panjang gelombang yang sama dilakukan uji terhadap variabel lainnya.



Gambar 9. Grafik absorbansi maksimal minyak daun cengkeh.

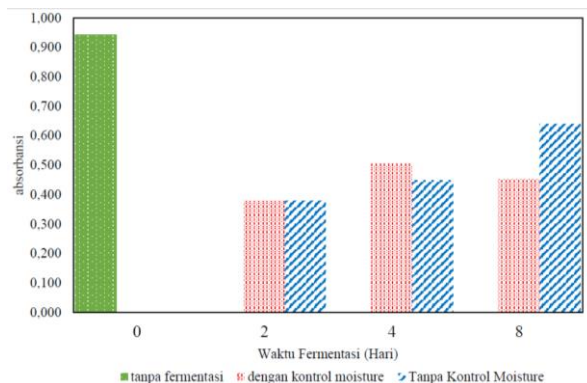
Absorbansi minyak cengkeh pada panjang gelombang 372 nm ditunjukkan pada Gambar 9. Absorbansi maksimum ini menunjukkan panjang gelombang tersebut merupakan panjang gelombang optimum untuk *eugenol* pada minyak cengkeh. Selanjutnya pengukuran absorbansi dari berbagai minyak cengkeh hasil percobaan dilakukan pada panjang gelombang optimum ini.

Absorbansi yang tinggi menunjukkan kepekatan senyawa *eugenol* yang terkandung dalam minyak cengkeh. Absorbansi tertinggi terjadi pada minyak daun cengkeh tanpa fermentasi yaitu sebesar 0,972 (Gambar 10), sangat mungkin karena kandungan *eugenol* pada minyak cengkeh tanpa fermentasi lebih tinggi bila dibandingkan variabel yang lain.

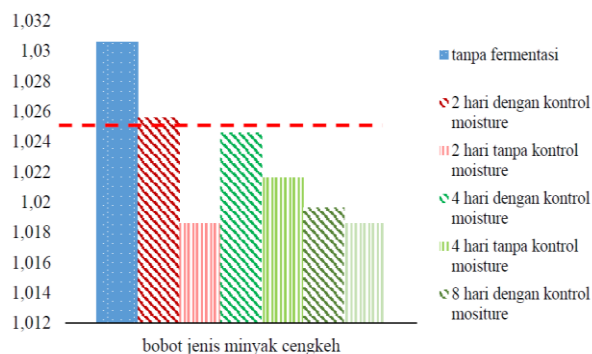
Penurunan absorbansi terjadi pada minyak daun cengkeh yang terfermentasi. Pada kondisi kelembaban 50 – 55 %, peningkatan terlihat fluktuatif dengan semakin lamanya fermentasi. Sedangkan pada kondisi tanpa kontrol kelembaban, terjadi peningkatan absorbansi seiring semakin lamanya fermentasi. Kecenderungan ini tidak berkorelasi dengan kepekatan warna, kadar *eugenol*, dan kadar β -*caryophyllene* pada minyak. Hal ini terlihat pada absorbansi minyak daun cengkeh hasil fermentasi 8 hari tanpa kontrol

kelembaban. Rendemen ditunjukkan paling tinggi, namun memiliki warna yang paling pucat serta kadar *eugenol* dan β -*caryophyllene* yang paling rendah.

Nilai bobot jenis minyak daun cengkeh yang dihasilkan dari setiap perlakuan secara keseluruhan masuk dalam rentang SNI 06-2387-2006 yaitu 1,025–1,049 seperti yang ditunjukkan pada Gambar 11.



Gambar 10. Grafik absorbansi minyak daun cengkeh pada panjang gelombang 372 nm.



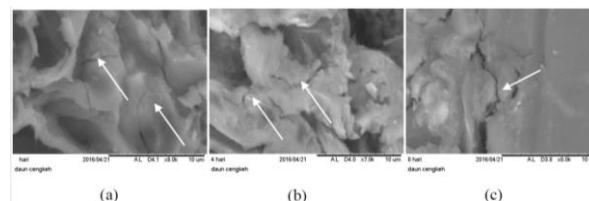
Gambar 11. Bobot jenis minyak daun cengkeh pada berbagai perlakuan.

Pada Gambar 11 terlihat bahwa nilai bobot jenis minyak daun cengkeh yang dihasilkan masih dalam rentang standar SNI 06-2387-2006 untuk minyak cengkeh tanpa fermentasi dan fermentasi 2 hari, sedangkan untuk fermentasi 4 hari dan 8 hari sedikit di luar dari standar. Hal ini mungkin terjadi dikarenakan pada fermentasi hari ke 4 dan ke 8 kandungan *eugenol* pada minyak cengkeh banyak yang menguap dan/atau terjadinya hidrolisis minyak sehingga menurunkan bobot jenis minyak cengkeh. Hal ini didukung dengan hasil uji GC (Gambar 6) dimana kandungan *eugenol* pada fermentasi 4 hari dan 8 hari mengalami penurunan. Penurunan bobot jenis juga dikarenakan pemisahan antara minyak cengkeh dan air yang kurang maksimal, sehingga pada minyak masih terkandung sedikit air yang menurunkan bobot jenis minyak cengkeh.

Pengaruh Fermentasi terhadap Morfologi Daun Cengkeh

Morfologi daun cengkeh setelah fermentasi selulolitik dapat dilihat pada Gambar 12.

Gambar 12b menunjukkan terjadinya degradasi selulosa pada fermentasi 4 hari. Pada fermentasi tersebut terjadi retakan pada penampang daun cengkeh, hal ini sesuai dengan penelitian Kumar dkk. (2015) yang meneliti degradasi selulosa pada kertas saring. Pada fermentasi hari ke 8 (Gambar 12c) terlihat retakan semakin besar dan lebar hal ini menunjukkan bahwa *Aspergillus niger* memiliki enzim selulase yang dapat mendegradasi selulosa pada daun cengkeh.



Gambar 12. Perubahan morfologi daun cengkeh (a) fermentasi (b) fermentasi 4 hari (c) fermentasi 8 hari.

KESIMPULAN

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini yaitu Fermentasi substrat padat menggunakan kapang *Aspergillus niger* berhasil mendegradasi selulosa pada daun cengkeh. Degradasi terbaik terjadi pada fermentasi hari ke-8. Akan tetapi, rendemen minyak daun cengkeh dan kandungan senyawa aktif *eugenol* semakin menurun seiring bertambah waktu fermentasi. Fermentasi pada kelembaban 50-55% menghasilkan rendemen yang lebih sedikit dibanding yang kelembaban tak terkontrol.

Perlakuan awal dengan mendegradasi selulolitik menggunakan *Aspergillus niger* belum mampu meningkatkan rendemen minyak daun cengkeh. Penelitian lebih lanjut sangat diperlukan untuk mengetahui penyebab pasti menurunnya rendemen dan kandungan aktif *eugenol* selama degradasi selulolitik terjadi.

DAFTAR PUSTAKA

Abbaszadeh, S., Sharifzadeh, A., Shokri, H., Khosravi, A.R., dan Abbaszadeh, A., (2014). Antifungal Efficacy of Thymol, Carvacrol, Eugenol and Menthol as Alternative Agents to Control The Growth of Food-Relevant Fungi. *Journal de Mycologie Medicale*, 24, e51-e56.

Alma, M., Hakki, M.E, Siegfrie N., dan Hubert, K., (2007). Chemical Composition and Content of Essential Oil from The Bud of Cultivated Turkish Clove (*Syzygium aromaticum* L.). *Journal of Bioresource*, 2(2), 265-269.

Anto, H., Trivedi, U., dan Patel, K., (2006). Alpha Amylase Production by *Bacillus cereus* MTCC 1305 Using Solid-State Fermentation. *Food Technology Biotechnology*, 44(2), 241-245.

- Ashary C., (2011). Produksi Enzim Selulase dan Hidrolisis Enzimatis Pada Jerami Padi dengan Menggunakan Buffer Sitrat. *Skripsi*. Institut Teknologi Sepuluh Nopember, Surabaya.
- Bansal, N., Tewari, R., Soni, R., dan Soni, S.K., (2012). Production of Cellulases from *Aspergillus niger* NS-2 in Solid State Fermentation on Agricultural and Kitchen Waste Residues. *Journal of Waste Management*, 32, 1341-1346.
- El Asbahani, A., Miladi, K., Badri, W., Sala, M., Ait Addi E.H., Casabianca, H., El Mousadik, A., Hartmann, D., Jilale, A., Renaud, FN., dan Elaisari, A., (2015). Essential Oils: From Extraction to Encapsulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 483(1-2), 220-243.
- Graca, M.A.S, dan Canhoto, C., (2006). Leaf Litter Processing in Low Order Streams. *Limnetica*, 25(1-2), 1-10.
- Kumar, M., Revathi, K., dan Khanna, S., (2015). Biodegradation Of Cellulosic And Lignocellulosic Waste By *Pseudoxanthomonas* Sp R-28. *Carbohydrate Polymers*, 134, 761-766.
- Maryanty, Y., Hesti P., dan Paulina, R., (2010). Produksi *Crude Lipase* dari *Aspergillus niger* Pada Substrat Ongok Menggunakan Metode Fermentasi Fasa Padat. *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*, Semarang.
- Mihai A.L., Popa M., dan Elena, (2015). In vitro Activity of Natural Antimicrobial Compounds against *Aspergillus* Strains. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 6, 585-592.
- Waites M.J., Morgan N.L., Rockey J.S., dan Higton G., (2001). *Industrial Microbiology: An Introduction*. UK: Blackwell Science Ltd.
- Wijaya C., Afghani J., dan Andi H.A., (2015). Peningkatan Rendemen Minyak Atsiri Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan Metode Delignifikasi dan Fermentasi. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*, 4(4). 15-20.