

Penelitian/Research

**MEMPELAJARI PENGARUH DELIGNIFIKASI DAN FERMENTASI TANGKAI BUNGA CENKIKH TERHADAP RENDEMEN DAN MUTU MINYAKNYA**

*Study on Effect of Delignification and Fermentation of Clove Stem on the Yield and Its Oil Quality*

Agus Sudibyo<sup>1)</sup> dan Juli Astuti<sup>2)</sup>

<sup>1)</sup> Balai Besar Industri Agro (BBIA), Jl. Ir. H. Juanda 11, Bogor 16122

<sup>2)</sup> Akademi Kimia Analisis Bogor (AKAB), Jl. Pangeran Sogiri 283, Bogor 16710

**ABSTRACT:** *The aim of this study was to determine the effect of clove stem preparation (delignification and fermentation) on the yield and quality of clove stem oil. The clove stem (*Syzigium aromaticum*, L) were obtained from Institute for Research and Development of Medical Plants and Spices, Bogor meanwhile *Trichoderma viride* mold was taken from Center for Reserach and Deevlopment of Biology, Indonesia Institute of Science (LIPI) Bogor. It was dried until maximum moisture content of 12 %. Experiment was conducted in two replications base on these treatments, i.e. delignification temperature (60°C, 80°C) and fermentation time (2, 4, 6 and 8 days). Sodium hydroxide solution (NaOH 0.5%) was used for delignification. The distillation process was conducted at 100° ± 2°C during 6 hours and ambient pressure condition. The clove stem oil quality were analyzed for the yield, specific gravity at 25°C, rotary index and eugenol content. The results showed that increased of fermentation time was followed by decreased of the clove stem oil quality parameter. It was indicated that the best treatment in term of the yield and quality which about 5.62 % (w/w), specific gravity 1.074, rotary index 1.545 and eugenol content 95.4% was that treating clove stem with delignification at 60°C and fermentation time for 6 days. The clove stem oil produced using treatment of fermentation time were in the range of physico-chemical quality standard of clove oil given by SNI no. 06-2387-1998.*

**Keywords :** *Clove stem oil, delignification, fermentation, yield, quality.*

**PENDAHULUAN**

Minyak tangkai bunga cengkih (*Syzigium aromaticum*, L) dalam perdagangan internasional disebut "clove stem oil" merupakan salah satu produk minyak atsiri yang bersumber dari tanaman cengkih. Tangkai bunga cengkih mengandung 6% minyak (Tan, 1962). Kandungan tersebut lebih tinggi dari kandungan minyak daun cengkih yang hanya mencapai 4% (Nurjanah *et al.*, 1990). Komponen utamanya terdiri dari senyawa eugenol (90-94%), beta-kariofilen (4-5%) dan senyawa-senyawa terpena lainnya (2-3%) (Hardjono, 1978).

Menurut Guenther (1953), kandungan eugenol dalam minyak tangkai bunga cengkih kurang lebih sama dengan kandungan eugenol dalam minyak daun cengkih, yaitu berkisar antara 83-95%; namun minyak tangkai bunga cengkih mengandung eugenol (bebas) dengan persentase yang tinggi dan karenanya dapat merupakan penstarter yang baik untuk isolasi eugenol yang akhirnya dapat dikonversi

menjadi isoeugenol dan vanilin (Guenther, 1990). Eugenol inilah yang memberikan aroma khas yang banyak dibutuhkan oleh berbagai industri, antara lain industri kosmetika, farmasi dan pestisida nabati (Kardiman, 2005); sedang senyawa beta-kariofilen dan terpena-terpena lain banyak dimanfaatkan dalam industri flavor, obat-obatan dan parfum (Furia dan Ballance, 1975; Chairil, 1994).

Salah satu permasalahan yang dihadapi oleh minyak atsiri Indonesia saat ini adalah mutu minyak yang rendah sebagai akibat akumulasi dari mutu bahan baku tanaman atsiri yang rendah dan teknologi proses yang belum terstandar (Rizal dan Djazuli, 2006); sedangkan secara khusus pada minyak tangkai bunga cengkih hasil penyulingan dari petani mempunyai kadar eugenol rendah, sementara untuk industri membutuhkan minyak dengan kadar eugenol paling rendah 90 persen (Anonimous, 2007). Dalam perdagangan internasional pun, seperti halnya minyak daun cengkih; minyak tangkai bunga cengkih asal Indonesia mutunya kurang baik dengan kadar



eugenolnya sekitar 70-80% sehingga nilai jualnya lebih rendah dibandingkan dari produsen lainnya, yaitu rata-rata 5,20 US \$ per kg (Uhe, 2007). Selain itu, banyak juga ditemukan minyak tangkai bunga cengkih atau *clove stem oil* yang berwarna gelap dan mengandung residu logam besi, meskipun sifat fisiko-kimianya baik.

Minyak tangkai bunga cengkih dapat diperoleh dari penyulingan tangkai bunga cengkih dengan cara penyulingan uap. Dalam proses penyulingan, minyak tangkai bunga cengkih dalam tanaman aromatik yang dikelilingi oleh kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh kantung minyak atau rambut granular akan terekstraksi apabila uap air berhasil melalui jaringan tangkai bunga cengkih dan mendesaknya ke permukaan (Guenther, 1987). Hasil penelitian Nurjanah *et al.* (1990), dinyatakan bahwa rendemen minyak tangkai bunga cengkih dipengaruhi oleh waktu (lama) penyulingan, tetapi tidak dipengaruhi oleh bobot bahan di dalam tangki penyulingan. Rendemen minyak naik dari waktu penyulingan 4 jam ke 6 jam, tetapi setelah 6 jam turun kembali. Penyulingan dengan air dan uap lebih unggul karena proses dekomposisi minyak lebih kecil (hidrolisis ester, depolimerisasi, deresinifikasi atau lain-lain) serta pengaruh tekanan dan suhu yang dapat mempengaruhi mutu minyak dapat dikendalikan (Nasrudin *et al.*, 2005).

Beberapa faktor yang turut menentukan produksi dan mutu atsiri adalah jenis tanaman, kondisi iklim dan tanah, mutu daun, penanganan bahan, perlakuan pendahuluan dan proses penyulingannya telah banyak dilakukan penelitian. Misalnya, salah satu faktor yang turut menentukan produksi dan mutu minyak atsiri adalah perlakuan pendahuluan dengan cara pengeringan bahan untuk mempercepat proses ekstraksi (Guenther, 1948 dan 1950); penanganan bahan dan lama penyulingan (Ames dan Matthew, 1968); penjemuran dan pelayuan bahan (Risfaheri, 1990) serta perlakuan bobot bahan dan waktu penyulingan (Nurjanah *et al.*, 1990). Hasil yang diperoleh pada awal penyulingan sebagian besar terdiri dari komponen-komponen kimia yang bertitik didih rendah lalu disusul oleh komponen-komponen yang bertitik didih tinggi (Anonymous, 1993). Lebih lanjut Belcher (1965), mengemukakan bahwa makin lama (waktu) penyulingan hingga 8 jam, makin tinggi rendemen (*yield*) minyak yang

diperoleh, yaitu sekitar 5,95% akan tetapi kadar eugenolnya makin menurun. Mutu minyak tangkai bunga cengkih atau *clove stem oil* ditentukan oleh kadar eugenolnya. Makin tinggi kadar eugenol makin baik mutunya (Kirk dan Othmer, 1953; Ketaren, 1985). Upaya peningkatan mutu minyak tangkai bunga cengkih dilakukan dengan cara perbaikan mutu bahan baku dan perlakuan bahan baku prapenyulingan (delignifikasi dengan NaOH serta difermentasi dengan memanfaatkan aktivitas kapang *Trichoderma viride*). Delignifikasi adalah suatu proses untuk menghilangkan atau merusak lignin dengan cara pemberian asam atau basa sambil dipanaskan diikuti dengan pemberian kapang atau jamur (Cowling, 1976). Aktivitas kapang *Trichoderma viride* merupakan salah satu jenis kapang yang dapat mendegradasi lignin dan selulosa serta menghasilkan lignolitik dan sellulolitik (Buckley dan Dobson, 1998).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh perlakuan pendahuluan (delignifikasi dan fermentasi) terhadap rendemen dan mutu minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan, sehingga dapat meningkatkan kadar eugenolnya.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan

Bahan yang digunakan adalah tangkai bunga cengkih kering yang diperoleh dari Kebun Balitro di Cibinong, Bogor dengan kadar minyak 5,3% dan kadar air 12%; biakan murni kapang *Trichoderma viride* dari Laboratorium Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi LIPI Bogor, dan Natrium hidroksida 0,5% untuk mendelignifikasi tangkai bunga cengkih serta eugenol standar untuk menguji mutu minyak tangkai bunga cengkih dari Akademi Kimia Analisis Bogor. Percobaan perlakuan pendahuluan dan penyulingan dilakukan di Balai Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Rempah, Bogor; sedang analisis mutu produk minyak yang dihasilkan dilakukan di laboratorium Akademi Kimia Analisis Bogor.



## Alat

Alat yang digunakan adalah satu unit alat penyulingan terbuat dari "stainless steel" berdiameter 32 cm, tinggi 54 cm dan volume kurang lebih 42 liter; sentrifuse, termometer air raksa, dan alat pengujian untuk analisis bobot jenis (piknometer), indeks bias (refraktometer), kadar eugenol (labu Cassia) dan gelas ukur menurut SNI 06.2387-1998 tentang "Mutu dan Cara Uji Minyak Daun Cengkih".

## Metode Percobaan

Percobaan dilakukan dalam tiga tahap. Tahap pertama, pengeringan tangkai bunga cengkih hingga mencapai kadar air maksimal 12%, dengan tujuan untuk mengurangi aktivitas air dan menginaktivkan enzim pada tangkai bunga cengkih. Tahap kedua, perlakuan pedahuluan delignifikasi dan fermentasi tangkai bunga cengkih. Delignifikasi dilakukan dengan menggunakan metode dari Nasrudin *et al* (2005) yang dimodifikasi, yaitu dengan larutan NaOH 0,5% pada suhu pemanasan 60°C dan 80°C masing-masing selama 30 menit. Hasil delignifikasi tangkai bunga cengkih ditiriskan di atas kawat kassa selama satu jam, selanjutnya difermentasi dengan kapang *Trichoderma viride* sebanyak 2% (b/b) selama 2, 4, 6 dan 8 hari.

Tahap ketiga, penyulingan dari masing masing perlakuan dengan sistem pengukusan pada suhu  $100^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$  bertekanan uap 1 atmosfer selama 6 jam. Cara kerja penyulingan adalah sebagai berikut : Pertama-tama ketel diisi dengan air kira-kira setinggi sekat pemisah bahan, kemudian bahan (tangkai bunga cengkih) dimasukkan ke dalam ketel sebanyak 5 kg, lalu ketel dipanaskan dan uap yang dihasilkan dialirkan melalui pendingin air sehingga terjadi proses kondensasi. Setelah selesai penyulingan, minyak dipisahkan dari air dengan memasukkan Magnesium sulfat ( $\text{MgSO}_4$ ) ke dalam bagian minyak untuk menyerap air yang terbawa oleh minyak.

Hasil penyulingan berupa minyak tangkai bunga cengkih dilakukan pengujian untuk mengetahui pengaruh perlakuan pendahuluan delignifikasi dan fermentasi serta hasil penyulingan yang dinyatakan dengan rendemen (yield), selanjutnya kualitas minyak tangkai bunga cengkih diuji di laboratorium dengan pengukuran sifat fisiko-kimia berupa :

bobot jenis (metode gravimetri), indeks bias (metode refraktometri), dan kadar eugenol (metode gravimetri) berdasarkan standar mutu dan cara uji minyak daun cengkih SNI 06.2387-1998.

## Rancangan Percobaan

Model Rancangan percobaan yang digunakan pada penelitian ini adalah Rancangan Acak Kelompok Faktorial (Sastrosupandi, 2000) dengan dua kali ulangan serta dengan masing-masing faktor 2 dan 4 taraf perlakuan. Model data pengamatan dinyatakan dengan faktor perlakuan yang digunakan sebagai berikut :

$$Y_{ij} = \mu + A_i + B_j + (AB)_{ij} + \Sigma_{ij} ;$$

dimana :

$\mu$  = Nilai tengah umum

$A_i$  = Perlakuan suhu delignifikasi dengan NaOH 0,5% pada ke-i, yaitu

$i = 1$  merupakan  $A_1 =$  suhu  $60^{\circ}\text{C}$

dan  $i = 2$  merupakan  $A_2 =$  suhu  $80^{\circ}\text{C}$ ;

$B_j$  = Pengaruh perlakuan waktu fermentasi hari ke-j, yaitu

$j = 1$  merupakan waktu fermentasi  $B_1 = 2$  hari

$j = 2$  merupakan waktu fermentasi  $B_2 = 4$  hari

$j = 3$  merupakan waktu fermentasi  $B_3 = 6$  hari

$j = 4$  merupakan waktu fermentasi  $B_4 = 8$  hari

$\Sigma_{ij}$  = Pengaruh galat percobaan dari perlakuan ke-i dan ulangan ke-j.

Hasil percobaan dibandingkan dengan perlakuan kontrol tangkai bunga cengkih yang tidak dilakukan delignifikasi dan fermentasi.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Pengaruh Delignifikasi pada Suhu 60°C dan Waktu Fermentasi Terhadap Mutu Produk Minyak Tangkai Bunga Cengkih

Perlakuan delignifikasi dengan NaOH 0,5% pada suhu 60°C dan waktu fermentasi tangkai bunga cengkih berpengaruh nyata terhadap rendemen dan mutu produk minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan seperti terlihat pada Tabel 1. Hubungan antara rendemen, bobot jenis, indeks bias dan kadar eugenol terhadap waktu fermentasi ditinjau dari karakteristik atau sifat fisiko-kimia hasil sulingan tangkai bunga cengkih yang didelignifikasi dengan NaOH 0,5% pada suhu



60°C berdasarkan uji statistik ternyata memberikan sifat-sifat perbedaan yang signifikan. Waktu fermentasi berpengaruh terhadap rendemen, bobot jenis, indeks bias, dan dapat juga meningkatkan kadar eugenol yang optimal.

Delignifikasi dengan senyawa NaOH 0,5% dapat merusak dan memotong senyawa polimer dengan  $\beta$ -1,4 glikosidik yang bersifat tidak larut. Dengan adanya senyawa basa NaOH 0,5% dan pemanasan, maka senyawa polimer dengan  $\beta$ -1,4 glikosidik yang mengandung gugus hidrogen akan digantikan

oleh ion Natrium melalui proses hidrolisis sehingga akan lebih mudah larut (Enari, 1983). Delignifikasi dapat melepaskan lignin terutama pada dinding sel kedua, pada lamela tengah dimana lignin yang menyatukan sel-sel tanaman (Thorpe dan Whiteley, 1944), karena adanya lignin akan menghambat kinerja uap panas untuk mencapai daerah yang paling lambat menerima panas (*slowest heating zone*) dan menghambat terjadinya penguapan minyak atsiri dalam proses penyulingan (Nasrudin *et al.*, 2005).

Tabel 1. Rendemen dan Mutu Produk Minyak Tangkai Bunga Cengkih Hasil Perlakuan Delignifikasi pada Suhu 60°C dan Berbagai Waktu Fermentasi

Waktu fermentasi (hari)	Rendemen dan Mutu Produk Minyak Tangkai bunga Cengkih			
	Rendemen (% b/b)	Bobot Jenis (gram/cm <sup>3</sup> )	Indeks Bias	Kadar Eugenol (%)
2	5,29	1,051	1,532	93,21
4	5,41	1,067	1,540	94,12
6	5,62	1,074	1,545	95,43
8	5,19	1,048	1,529	92,81
Kontrol	5,01	1,039	1,525	91,61

Sellulosa adalah senyawa polimer yang cenderung membentuk mikrofibril melalui ikatan hidrogen inter dan intramolekuler sehingga memberikan struktur yang larut (Cowling, 1976), begitu pula dengan sellulosa pada tangkai bunga cengkih. Mikrofibril sellulosa terdiri dari dua tipe yang kristalin dan amorf, dimana struktur kristalnya dibungkus oleh lignin, sehingga resisten terhadap enzim (Marsden dan Gray, 1986). Namun, dengan adanya fermentasi dengan kapang *Trichoderma viride* yang menghasilkan enzim peroksidase (lignin peroksidase dan mangan peroksidase) seperti halnya jamur *Basidiomycetes* (Dence dan Reeve, 1996) akan mampu mendegradasi lignin tersebut. Enzim yang dihasilkan oleh kapang *Trichoderma viride* ini termasuk enzim ekstra selular yang bekerja di luar sel dan berfungsi melakukan perubahan nutrient supaya dapat dimanfaatkan dalam proses degradasi (Tien dan Krik, 1988). Dengan demikian, lamanya waktu fermentasi dapat memberikan kesempatan kapang *Trichoderma viride* untuk merombak sellulotik dan sel tangkai bunga cengkih; sehingga lignin dan sellulosa yang sudah terdegradasi tidak menghambat kinerja uap panas dalam proses

penyulingan dan mempercepat penguapan minyak tangkai bunga cengkih.

#### Rendemen

Hasil analisis sifat fisiko-kimia minyak tangkai bunga cengkih seperti terlihat pada Tabel 1. Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa waktu fermentasi setelah tangkai bunga cengkih didelignifikasi NaOH 0,5% pada suhu 60°C; ternyata berpengaruh terhadap rendemen minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan. Perlakuan waktu fermentasi selama 6 hari menghasilkan rendemen tertinggi, yaitu 5,62% (b/b), berbeda nyata jika dibandingkan dengan waktu fermentasi selama 2, 4 dan 8 hari serta kontrol. Semua perlakuan waktu fermentasi berdasarkan uji laboratorium terhadap semua parameter yang meliputi bobot jenis, indeks bias dan kadar eugenol menunjukkan bahwa produk yang dihasilkan memenuhi standar mutu minyak daun cengkih sesuai dengan SNI 06. 2387-1998.

Rendemen minyak dari tangkai bunga cengkih hasil fermentasi 6 hari lebih besar dari pada hasil fermentasi 2, 4 dan 8 hari karena



fermentasi selama 6 hari merupakan waktu fermentasi yang optimal, dimana kinerja kapang *Trichoderma viride* dapat mencapai fase eksponensial untuk menghidrolisis selulosa dan lignin, sehingga memiliki kandungan minyak yang tinggi setelah penyulingan, yang merupakan hasil dari proses metabolisme primer dan metabolisme sekunder pada tangkai bunga cengkih; sedangkan waktu fermentasi 2 dan 4 hari merupakan fase awal dan waktu adaptasi kapang *Trichoderma viride* pada media bunga cengkih. Selulosa diduga merupakan salah satu penghambat pada waktu penyulingan, sebab struktur kristalin selulosa alami sangat sukar dihidrolisis dalam waktu singkat. Oleh karena itu, dengan adanya kapang *Trichoderma viride*, lignin dan selulosa akan terdegradasi serta membuka struktur kristalin selulosa; sehingga pada saat penyulingan berlangsung, minyak tangkai bunga cengkih menjadi mudah ke luar. Menurut Rosales dan Mew (1985), kapang *Trichoderma viride* merupakan jenis kapang yang potensial untuk merombah bahan organik.

Faktor lama fermentasi yang optimal pada tangkai bunga cengkih berpengaruh terhadap pengeluaran minyak tangkai bunga cengkih dari jaringan tangkai bunga cengkih tersebut secara hidrodifusi. Aktivitas kapang dalam perombakan sellulotik tangkai bunga cengkih selama fermentasi 6 hari dapat mempermudah pengeluaran minyak yang terikat dalam vascuola, kelenjar minyak, kantung-kantung minyak atau rambut grandular, sehingga perpindahan uap panas jenuh untuk mencapai titik dingin (*slowest heating zone*) sewaktu penyulingan tidak memerlukan waktu lama. Dengan demikian, dengan melakukan fermentasi yang optimal, jarak tempuh uap air untuk berdifusi ke dalam kelenjar-kelenjar minyak lebih cepat dan membawa minyak tersebut ke permukaan menjadi lebih dekat. Hal ini memudahkan minyak yang terikat dalam vascuola sel-sel tangkai bunga cengkih mudah disuling bersama uap jenuh, sehingga minyak yang berhasil dikeluarkan dari kelenjar minyak menjadi lebih besar.

Perlakuan fermentasi 2 hari pada suhu delignifikasi yang sama (60°C) merupakan fase awal sejak inokulasi kapang *Trichoderma viride* pada tangkai bunga cengkih, sedangkan perlakuan waktu fermentasi 4 hari suhu delignifikasi yang sama merupakan fase

adaptasi dan mencapai puncaknya pada fase eksponensial dalam waktu fermentasi 6 hari; sementara untuk perlakuan fermentasi selama 8 hari suhu delignifikasi yang sama (60°C) merupakan fase lisis atau kematian bagi kapang *Trichoderma viride*. Akibatnya, rendemen yang dihasilkan pada perlakuan waktu fermentasi 4 hari suhu delignifikasi 60°C, yaitu 5,41% (b/b) lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan waktu fermentasi 2 hari pada suhu delignifikasi yang sama, yaitu hanya mencapai rendemen 5,29% (b/b). Hal ini diduga akibat adanya perlakuan waktu fermentasi 4 hari suhu delignifikasi 60°C mengakibatkan molekul-molekul minyak yang bertitik rendah menguap dari ikatan vascuola di dalam sel-sel tangkai bunga cengkih, sehingga setelah penyulingan menghasilkan minyak tangkai bunga cengkih dengan rendemen yang telah disebutkan di atas.

Adanya persenyawaan kimia yang mudah menguap terlihat dari hasil pengukuran nilai bobot jenis minyak tangkai bunga cengkih sebesar 1,067 gram/cm<sup>3</sup> yang dihasilkan pada perlakuan waktu fermentasi 4 hari suhu delignifikasi 60°C lebih kecil jika dibandingkan dengan perlakuan waktu fermentasi 6 hari dengan suhu delignifikasi yang sama, yaitu sebesar 1,074 gram/cm<sup>3</sup> (Tabel 1). Persenyawaan (*compound*) kimia yang mudah menguap menurut Guenther (1987) termasuk golongan hidrokarbon asiklik dan hidrokarbon isosiklik serta turunan hidrokarbon yang telah mengikat oksigen. Dengan demikian, rendemen yang dihasilkan pada perlakuan waktu fermentasi 6 hari suhu delignifikasi 60°C, yaitu 5,62% (b/b) lebih besar dari pada perlakuan waktu fermentasi 8 hari yang rendemennya turun menjadi 5,19% (b/b) dan secara statistik berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan waktu fermentasi 2 dan 4 hari dengan suhu delignifikasi yang sama (60°C).

Kapang *Trichoderma viride* mempunyai kemampuan yang optimal dalam menghasilkan enzim sellulase (Nasrudin *et al.*, 2005). Enzim sellulase mempunyai kemampuan dalam menghidrolisis selulosa sehingga molekul-molekul minyak yang terikat pada vascuola jaringan tangkai bunga cengkih lebih mudah keluar; dan kinerja uap panas pada saat proses penyulingan untuk mengekstrak molekul-molekul minyak terutama di daerah titik dingin (*slowest heating*



zone) tanpa mengalami hambatan yang signifikan. Menurut Rahayu dan Rahayu (1983) serta Dence dan Reeve (1996), dimana adanya enzim selulase menyebabkan pemecahan selulosa serat menjadi komponen yang bersifat larut seperti selobiosa dan glukosa. Indikatornya terlihat dari rendemen yang dihasilkan pada perlakuan waktu fermentasi 6 hari suhu delignifikasi 60°C dapat mencapai 5,62% (b/b) lebih tinggi jika dibandingkan dengan perlakuan waktu fermentasi 2 hari suhu delignifikasi yang sama, hanya mencapai 5,29% (b/b); dan perlakuan waktu fermentasi 4 hari suhu delignifikasi 60°C yang mencapai 5,41% (b/b). Sedangkan perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan suhu delignifikasi yang sama merupakan fase lisis kapang yang menyebabkan terjadinya suatu medium yang kompleks dari produk-produk hasil lisis sehingga rendemen yang dihasilkan menjadi lebih rendah.

#### Bobot Jenis

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu fermentasi tangkai bunga cengkih setelah didelignifikasi dengan NaOH 0,5% pada suhu perebusan 60°C memberikan pengaruh terhadap nilai bobot jenis minyak tangkai bunga cengkih (*clove stem oil*) yang dihasilkan. Perlakuan waktu fermentasi 2, 4, 6 dan 8 hari dan suhu delignifikasi 60°C menyebabkan perubahan nilai bobot jenis bervariasi antara 1,048 gram/cm<sup>3</sup> sampai dengan 1,074 gram/cm<sup>3</sup> (Tabel 1). Bobot jenis tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 6 hari dengan nilai 1,074 gram/cm<sup>3</sup>. Bobot jenis yang tinggi dapat mempengaruhi persen rendemen, semakin tinggi nilai bobot jenis pada volume, suhu dan tekanan yang sama, maka minyak akan semakin berat, dan warna minyak menjadi cokelat kehitaman. Hal ini disebabkan karena bobot jenis yang tinggi disebabkan oleh kandungan eugenolnya yang tinggi pula.

Fraksi berat komponen minyak dipengaruhi oleh panjang rantai molekul yang menyusunnya. Semakin panjang rantai, maka bobot molekul komponen tersebut semakin lebih besar. Dalam hal ini, komponen minyak golongan seskuiterpen mempunyai pengaruh yang lebih besar dibandingkan dengan monoterpen, demikian juga dengan jenis komponen hidrokarbon teroksigenasi terhadap

hidrokarbon (Guenther, 1952; Lawrence, 1981). Pada perlakuan waktu fermentasi 6 hari dan suhu delignifikasi 60°C, menyebabkan komponen penyusun minyak tangkai bunga cengkih hasil penyulingan didominasi oleh komponen yang memiliki bobot molekul tinggi seperti senyawa aromatik eugenol dan isoeugenol yang tinggi pula, sehingga bobot jenis minyak tangkai bunga cengkih menjadi lebih tinggi dengan nilai 1,074 gram/cm<sup>3</sup>, dibandingkan dengan perlakuan waktu fermentasi 2, 4 dan 8 hari dengan memiliki nilai bobot jenis berturut-turut 1,051 gram/cm<sup>3</sup>, 1,067 gram/cm<sup>3</sup> dan 1,048 gram/cm<sup>3</sup>.

Perlakuan waktu fermentasi 8 hari dan suhu delignifikasi 60°C pada tangkai bunga cengkih mengakibatkan semakin besar penguapan komponen fraksi ringan minyak tangkai bunga cengkih sebelum disuling. Sedangkan pada perlakuan waktu fermentasi 2 dan 4 hari dengan suhu delignifikasi yang sama (60°C); karena merupakan fase awal sejak inokulasi kapang *Trichoderma viride* pada tangkai bunga cengkih, dan merupakan suatu fase adaptasi sehingga perombakan sellulitik belum sempurna; maka akan terbentuk gumpalan pada tangkai bunga cengkih yang difermentasi sehingga menghambat penetrasi uap pada saat penyulingan untuk mengekstrak minyak yang terkandung dalam kelenjar-kelenjar minyak tangkai bunga cengkih. Akibatnya, penetrasi uap panas untuk ekstraksi minyak sewaktu penyulingan hanya terjadi di beberapa bagian, dan sebagian uap lainnya akan lolos dengan membentuk jalur uap yang disebut "rat holes" sehingga tidak semua akan tersuling. Hal ini juga menyebabkan fraksi berat dari minyak tangkai bunga cengkih tidak semua ikut tersuling dan mengakibatkan bobot jenis minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan menjadi rendah. Nilai bobot jenis minyak hasil percobaan tersebut dibandingkan dengan nilai bobot jenis yang dipersyaratkan dalam standar mutu SNI 06.2387-1998 minyak daun cengkih masih memenuhi persyaratan mutu.

#### Indeks Bias

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu fermentasi tangkai bunga cengkih setelah didelignifikasi dengan NaOH 0,5% pada suhu perebusan 60°C memberikan pengaruh



terhadap nilai indeks bias minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan. Setiap perlakuan waktu fermentasi terhadap tangkai bunga cengkih pada suhu delignifikasi 60°C, menghasilkan minyak tangkai bunga cengkih hasil penyulingan memiliki indeks bias minyak yang berbeda. Hal ini dapat disebabkan oleh jenis dan komposisi kimia serta komponen minyak tangkai bunga cengkih yang dimiliki.

Nilai indeks bias minyak tangkai bunga cengkih yang diperoleh berkisar antara 1,529 hingga 1,545. Indeks bias tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 6 hari pada suhu delignifikasi 60°C; sedangkan indeks bias terendah diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 8 hari pada suhu delignifikasi yang sama (Tabel 1). Pada perlakuan waktu fermentasi 6 hari dengan suhu delignifikasi 60°C, merupakan waktu fermentasi yang optimal dari kinerja kapang *Trichoderma viride*; sehingga memudahkan kandungan fraksi berat pada minyak tangkai bunga cengkih mudah dikeluarkan dari kelenjar-kelenjar minyak melalui penyulingan dengan uap panas dan menghasilkan minyak tangkai bunga cengkih dengan kandungan fraksi berat yang lebih tinggi serta mengakibatkan nilai indeks bias minyak tangkai bunga cengkih juga tinggi, yaitu dengan nilai indeks bias 1,545. Sedangkan waktu fermentasi 2 dan 4 hari pada suhu delignifikasi yang sama, karena baru merupakan fase awal setelah inokulasi dan fase adaptasi dari kapang *Trichoderma viride* pada media tangkai bunga cengkih belum sempurna mendegradasi lignin yang didalamnya tercampur dengan jaringan minyak yang terikat dalam vascuola; menyebabkan kandungan fraksi berat pada minyak tangkai bunga cengkih setelah dilakukan penyulingan tidak semua ikut tersuling sehingga nilai indeks bias yang dihasilkan lebih rendah, yaitu berturut-turut 1,532 dan 1,540. Besar kecilnya nilai indeks bias berhubungan dengan komponen-komponen yang ada, molekul-molekul yang panjang dan molekul-molekul yang relatif tinggi ikatan tidak jenuhnya atau banyak gugus oksigennya dapat menyebabkan kerapatan medium minyak tangkai bunga cengkih bertambah sehingga lebih sukar membiaskan cahaya yang datang. Hal ini menyebabkan nilai indeks bias menjadi lebih besar (Guenther, 1952; Lawrence, 1981).

Pada perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan suhu delignifikasi yang sama

(60°C) pada tangkai bunga cengkih, mengakibatkan terjadinya gumpalan pada tangkai bunga cengkih yang difermentasi tersebut sehingga menghambat penetrasi uap panas pada saat penyulingan untuk mengekstrak minyak yang terkandung dalam kelenjar-kelenjar minyak tangkai bunga cengkih. Akibatnya, penetrasi uap panas untuk mengekstrak minyak sewaktu penyulingan hanya terjadi di beberapa bagian dan sebagian lain akan lolos membentuk jalur uap sehingga fraksi berat dengan dengan bobot molekul tinggi tidak semua ikut tersuling. Hal ini menyebabkan indeks bias minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan juga menjadi rendah, yaitu 1,529. Nilai indeks bias hasil percobaan tersebut pada umumnya dibandingkan dengan standar mutu SNI 06.2387-1998 minyak daun cengkih masih memenuhi persyaratan mutu.

### Kadar Eugenol

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu fermentasi dan suhu delignifikasi 60°C pada tangkai bunga cengkih berpengaruh nyata terhadap kadar eugenol minyak tangkai bunga cengkih. Kadar eugenol minyak tangkai bunga cengkih berkisar antara 92,81% hingga 95,43%. Kadar eugenol tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 6 hari; sedangkan kadar eugenol terendah diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 8 hari. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Kecenderungan yang meningkat pada kadar eugenol dalam minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan seiring dengan meningkatnya waktu fermentasi, karena terjadinya degradasi lignin dan selulosa oleh enzim selulase dari kapang *Trichoderma viride* dalam membantu keluarnya minyak yang mengandung senyawa eugenol yang terikat dalam jaringan vascuola tangkai bunga cengkih lebih mudah keluar, dan kinerja uap panas untuk untuk mengekstrak molekul-molekul minyak yang mengandung komponen eugenol di daerah titik dingin (*slowest heating zone*) tanpa mengalami hambatan yang signifikan. Oleh karena itu, perlakuan waktu fermentasi 6 hari dengan suhu delignifikasi 60°C menyebabkan komponen utama senyawa minyak tangkai bunga cengkih didominasi oleh komponen yang memiliki bobot molekul tinggi seperti eugenol; sehingga kadar eugenol pada



minyak tangkai bunga cengkih menjadi lebih tinggi dengan nilai kadar eugenol 95,43% dibandingkan perlakuan sewaktu fermentasi 2 dan 4 hari.

Pada waktu fermentasi 2 dan 4 hari dengan suhu delignifikasi yang sama, karena merupakan fase awal setelah inokulasi dan fase adaptasi dari kapang *Trichoderma viride* pada media tangkai bunga cengkih, maka kapang tersebut belum sempurna mendegradasi lignin dan selulosa yang didalamnya terdapat jaringan kelenjar-kelenjar minyak yang mengandung senyawa eugenol dan terbentuk gumpalan pada tangkai bunga cengkih yang difermentasi; akibatnya menghambat penetrasi uap panas pada saat penyulingan dan menyebabkan kandungan eugenol pada minyak tangkai bunga cengkih saat dilakukan penyulingan tidak semua ikut tersuling sehingga kandungan eugenol pada minyak yang dihasilkan menjadi lebih rendah, yaitu berturut-turut 93,21% dan 94,12%.

Perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan suhu delignifikasi yang sama pada tangkai bunga cengkih, menyebabkan degradasi lignin dan selulosa yang didalamnya terdapat jaringan minyak yang mengandung senyawa eugenol menjadi lunak dan homogen; akibatnya penetrasi uap panas saat penyulingan tidak terhambat dan berlangsung cepat menyebabkan kandungan eugenol pada minyak tangkai bunga cengkih akan teruapkan sebagian, sehingga kadar eugenol minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan lebih rendah atau menurun menjadi 92,81% (Tabel

1). Dengan demikian, perpanjangan waktu fermentasi relatif berakibat banyak eugenol yang menguap, sedangkan komponen-komponen lainnya yang lebih banyak tersulingkan sehingga kadar eugenol dalam minyak tangkai bunga cengkih menjadi lebih rendah atau menurun. Namun demikian, kadar eugenol tersebut umumnya dibandingkan dengan standar mutu SNI 06.2387-1998 minyak daun cengkih masih di atas yang dipersyaratkan sebesar 78%.

### Pengaruh Delignifikasi pada Suhu 80°C dan Waktu Fermentasi Terhadap Mutu produk Minyak Tangkai Bunga Cengkih

Perlakuan prapenyulingan berupa delignifikasi dengan NaOH 0,5% suhu 80°C dan waktu fermentasi pada produk minyak tangkai bunga cengkih juga berpengaruh nyata terhadap rendemen dan mutu produk minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan seperti terlihat pada Tabel 2. Hubungan antara rendemen, bobot jenis, indeks bias dan kadar eugenol terhadap waktu fermentasi, ditinjau dari karakteristik atau sifat fisiko-kimia hasil sulingan tangkai bunga cengkih yang didelignifikasi dengan NaOH 0,5% suhu 80°C berdasarkan uji statistik ternyata memberikan sifat-sifat perbedaan yang signifikan. Waktu fermentasi oleh kapang *Trichoderma viride* berpengaruh terhadap rendemen, bobot jenis, indeks bias dan dapat meningkatkan kadar eugenol yang optimal.

Tabel 2. Rendemen dan Mutu Produk Minyak Tangkai Bunga Cengkih Hasil Perlakuan Delignifikasi pada Suhu 80°C dan Berbagai Waktu Fermentasi

Waktu fermentasi (hari)	Rendemen dan Mutu Produk Minyak Tangkai bunga Cengkih			
	Rendemen (% b/b)	Bobot Jenis (gram/cm <sub>3</sub> )	Indeks Bias	Kadar Eugenol (%)
2	5,21	1,049	1,532	92,40
4	5,39	1,068	1,540	94,83
6	5,18	1,047	1,529	92,92
8	5,06	1,041	1,520	91,76
Kontrol	5,01	1,039	1,516	91,61

### Rendemen

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu fermentasi setelah tangkai bunga cengkih didelignifikasi dengan NaOH 0,5% suhu 80°C; ternyata juga berpengaruh terhadap rendemen minyak tangkai bunga cengkih yang

dihasilkan. Perlakuan waktu fermentasi selama 4 hari menghasilkan rendemen tertinggi, yaitu 5,39% (b/b) berbeda nyata jika dibandingkan dengan perlakuan waktu fermentasi selama 2, 6 dan 8 hari. Hal ini dapat disebabkan fase stasioner fermentasi oleh kapang *Trichoderma viride* terjadi pada fermentasi hari ke-4 lebih



cepat jika dibandingkan dengan fase stasioner suhu delignifikasi 60°C yang berlangsung pada fermentasi hari ke-6 (Tabel 1). Diduga suhu delignifikasi yang tinggi (80°C) dapat menyebabkan terjadinya perbedaan kecepatan tingkat pelepasan lignin dan perombakan selulosa secara fisik (pengaruh suhu tinggi), sehingga dapat mempercepat kinerja enzim selulase untuk mendegradasi selulosa dan membantu mempercepat keluarnya minyak tangkai bunga cengkih saat dilakukan penyulingan dengan uap panas. Menurut Marsden dan Gray (1986) serta Dence dan Reeve (1998), dinyatakan bahwa selulosa dapat didegradasi oleh enzim kompleks yang disebut enzim selulase. Akibatnya, rendemen minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan dari hasil sulingan menjadi tinggi.

Berbeda dengan perlakuan waktu fermentasi 2 hari, selulosa dan lignin pada fase adaptasi belum dapat terdegradasi secara sempurna oleh kapang *Trichoderma viride*, sehingga pada saat penyulingan penyebaran uap panas sangat lambat waktu mencapai daerah yang paling terkena panas (*slowest heating zone*) yang menyebabkan kecepatan uap panas untuk mengekstrak minyak tangkai bunga cengkih belum optimal. Sebagai indikator terlihat dari rendemen minyak yang dihasilkan pada perlakuan waktu fermentasi 2 hari (Tabel 2). Sedangkan perlakuan waktu fermentasi 6 hari dan 8 hari pada suhu delignifikasi yang sama (80°C), rendemen minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan juga lebih rendah, yaitu berturut-turut 5,18% (b/b) dan 5,06% (b/b) (Tabel 2). Hal ini dapat disebabkan karena pada perlakuan waktu fermentasi 6 dan 8 hari, kinerja kapang *Trichoderma viride* untuk melakukan perombakan selulotik telah mencapai titik optimal, sehingga molekul-molekul minyak yang terikat dalam vascuola tangkai bunga cengkih dapat keluar dengan bebas dan sebagian sudah teruapkan karena pengaruh suhu delignifikasi 80°C sebelumnya; yang berakibat pada saat disuling dengan uap panas sebagian minyak tangkai bunga cengkih juga ada yang teruapkan dan mengakibatkan rendemen minyak yang dihasilkan juga menjadi rendah, yaitu 5,18% (b/b) dan 5,06% (b/b).

Bila dikaji lebih lanjut, perlakuan waktu fermentasi 6 hari dengan suhu delignifikasi 80°C, rendemen yang dihasilkan 5,18% (b/b) (Tabel 2) lebih rendah jika dibandingkan

dengan perlakuan waktu fermentasi yang sama suhu delignifikasi 60°C dengan rendemen 5,62% (b/b) (Tabel 1). Begitu pula, untuk perlakuan waktu fermentasi 8 hari pada suhu delignifikasi 80°C, rendemen yang dihasilkan 5,06% (b/b) (Tabel 2) lebih rendah jika dibandingkan dengan perlakuan waktu fermentasi yang sama, tetapi pada suhu delignifikasi 60°C dengan rendemen 5,19% (b/b) (Tabel 1). Dengan demikian, kelemahan perlakuan prapenyulingan dengan suhu delignifikasi 80°C terlihat dari rendemen yang dihasilkan untuk waktu fermentasi yang sama cukup rendah; misalnya perlakuan fermentasi untuk hari ke-2 dan hari ke-4 pada suhu delignifikasi 80°C rendemennya adalah 5,21% (b/b) dan 5,39% (b/b) (Tabel 2), sedangkan pada perlakuan fermentasi untuk hari ke-2 dan hari ke-4 pada suhu delignifikasi 60°C rendemennya berturut-turut adalah 5,29% (b/b) dan 5,41% (b/b) (Tabel 1).

#### Bobot Jenis

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu fermentasi tangkai bunga cengkih oleh kapang *Trichoderma viride* setelah didelignifikasi dengan NaOH 0,5% pada suhu 80°C juga memberikan pengaruh terhadap nilai bobot jenis minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan. Perlakuan waktu fermentasi 2, 4, 6 dan 8 hari dengan suhu delignifikasi 80°C menyebabkan perubahan nilai bobot jenis bervariasi antara 1,043 gram/cm<sup>3</sup> sampai dengan 1,068 gram/cm<sup>3</sup> (Tabel 2).

Bobot jenis tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan nilai 1,068 gram/cm<sup>3</sup>, sedangkan bobot jenis terendah diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan nilai 1,041 gram/cm<sup>3</sup>. Pada perlakuan waktu fermentasi 4 hari suhu delignifikasi 80°C, merupakan fase eksponensial dari kapang *Trichoderma viride* untuk mendegradasi lignin dan selulosa sehingga molekul-molekul minyak yang terikat dalam vascuola jaringan lignin dan selulosa yang mengandung komponen-komponen berbobot molekul tinggi seperti eugenol dan isoeugenol pada saat penyulingan dengan uap panas akan tersuling, dan mendominasi pada minyak tangkai bunga cengkih yang berakibat bobot jenis minyak tersebut menjadi tinggi dengan nilai bobot jenis 1,068 gram/cm<sup>3</sup> lebih



tinggi jika dibandingkan perlakuan waktu fermentasi 2, 6 dan 8 hari dengan nilai berturut-turut 1,049 gram/cm<sup>3</sup>, 1,047 gram/cm<sup>3</sup> dan 1,041 gram/cm<sup>3</sup>.

Berbeda dengan perlakuan waktu fermentasi 2 hari, maka kapang *Trichoderma viride* yang diinokulasi pada tangkai bunga cengkih setelah didelignifikasi suhu 80°C baru mencapai fase adaptasi, sehingga lignin dan selulosa yang menutupi jaringan kelenjar minyak yang terikat dalam vascuola tangkai bunga cengkih belum terdegradasi; yang berakibat pada saat penyulingan, penyebaran uap panas cukup lambat untuk mencapai *slowest heating zone*, menyebabkan kecepatan uap panas untuk mengekstrak minyak tangkai bunga cengkih dan komponen-komponen berbobot molekul tinggi belum optimal terekstrak pada saat disuling. Hal ini menyebabkan minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan pada perlakuan waktu fermentasi 2 hari memiliki nilai bobot jenis yang agak rendah dengan nilai 1,049 gram/cm<sup>3</sup> (Tabel 2).

Untuk perlakuan waktu fermentasi 6 dan 8 hari pada suhu delignifikasi yang sama (80°C), nilai bobot jenis minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan juga lebih rendah, yaitu berturut-turut 1,048 gram/cm<sup>3</sup> dan 1,041 gram/cm<sup>3</sup>. Hal ini dapat disebabkan karena pada perlakuan waktu fermentasi hingga hari ke-6 dan hari ke-8, kinerja kapang *Trichoderma viride* untuk melakukan perombakan sellolitik telah mencapai fase titik yang optimal dan fase lisis kapang, sehingga molekul-molekul minyak yang terikat dalam vascuola tangkai bunga cengkih dan mengandung komponen-komponen berbobot molekul tinggi dapat keluar dengan bebas dan bersifat labil; yang berakibat pada saat disuling dengan uap panas sebagian minyak yang mengandung komponen-komponen berbobot molekul tinggi ikut teruapkan dan mengakibatkan turunnya nilai bobot jenis pada minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan.

Kandungan fraksi berat komponen minyak atsiri berbobot molekul tinggi dipengaruhi oleh panjang rantai molekul yang menyusunnya. Semakin panjang rantai molekul yang menyusunnya, maka bobot molekul komponen tersebut semakin lebih besar atau semakin tinggi. Dalam hal ini komponen minyak golongan sekuiterpen (alfa-karifenil dan beta-kariofilen) mempunyai

pengaruh yang lebih besar dibandingkan dengan monoterpen, demikian juga dengan jenis komponen hidrokarbon teroksigenasi terhadap hidrokarbon (Guenther, 1952).

### Indeks Bias

Hasil analisis sidik ragaam menunjukkan bahwa perlakuan waktu fermentasi tangkai bunga cengkih setelah didelignifikasi dengan NaOH 0,5% pada suhu delignifikasi 80°C juga memberikan pengaruh terhadap nilai indeks bias minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan. Setiap perlakuan waktu fermentasi terhadap tangkai bunga cengkih dengan suhu delignifikasi 80°C, menghasilkan minyak tangkai bunga cengkih hasil penyulingan memiliki nilai indeks bias minyak yang berbeda.

Nilai indeks bias minyak tangkai bunga cengkih yang diperoleh berkisar antara 1,520 hingga 1,540. pengaruh suhu delignifikasi 80°C dan waktu fermentasi menyebabkan terjadinya penurunan nilai indeks bias (Tabel 2). Indeks bias tertinggi pada suhu delignifikasi 80°C diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 4 hari, yaitu 1,540 ; sedangkan indeks bias terendah pada suhu delignifikasi yang sama diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 8 hari dengan nilai 1,520. Dengan demikian, pada perlakuan fermentasi 4 hari dengan suhu delignifikasi 80°C merupakan waktu fermentasi yang optimal dan fase eksponensial dari kinerja kapang *Trichoderma viride*, sehingga memudahkan kandungan fraksi berat pada minyak tangkai bunga cengkih mudah dikeluarkan dari kelenjar-kelenjar minyak melalui penyulingan dengan uap panas dan menghasilkan minyak dengan kandungan fraksi berat yang lebih tinggi serta mengakibatkan nilai indeks bias minyak tangkai bunga cengkih juga tinggi, yaitu 1,540.

Untuk perlakuan waktu fermentasi 6 dan 8 hari pada suhu delignifikasi yang sama (80°C), nilai indeks bias minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan juga lebih rendah, yaitu berturut-turut 1,529 dan 1,520. Hal ini dapat terjadi karena selain pada perlakuan waktu fermentasi hingga hari ke-6 dan hari ke-8 kinerja kapang *Trichoderma viride* telah mencapai fase optimal dan fase lisis; dan suhu delignifikasi yang tinggi (80°C) memungkinkan terjadinya penguapan molekul minyak yang mempunyai titik didih rendah



dan dapat mempercepat terjadinya netralisasi asam lemak bebas dalam minyak tangkai bunga cengkih dan penurunan nilai indeks.

Penurunan bobot jenis juga akan menurunkan nilai indeks bias minyak tangkai bunga cengkih (Tabel 2). Indeks bias juga dipengaruhi oleh jumlah komponen dalam minyak tangkai bunga cengkih, kerapatan minyak tangkai bunga cengkih semakin rendah, maka nilai indeks bias akan bertambah kecil (Guenther, 1952).

### Kadar Eugenol

Hasil analisis sidik ragam menunjukkan bahwa perlakuan waktu fermentasi dan suhu delignifikasi 80°C pada tangkai bunga cengkih berpengaruh nyata terhadap kadar eugenol minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan. Kadar eugenol minyak tangkai bunga cengkih berkisar antara 91,76% hingga 94,83%. Kadar eugenol tertinggi diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 4 hari, sedangkan kadar eugenol terendah diperoleh dari perlakuan waktu fermentasi 8 hari. Hal ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Pada perlakuan waktu fermentasi 4 hari dengan suhu delignifikasi 80°C, merupakan fase eksponensial dari kapang *Trichoderma viride* untuk membantu mendegradasi lignin dan selulosa, sehingga molekul-molekul minyak yang terikat dalam vascuola jaringan selulosa dan lignin yang mengandung senyawa eugenol pada saat penyulingan dengan uap panas akan mudah tersuling; dan mendominasi pada minyak tangkai bunga cengkih karena uap panas untuk mengekstrak minyak yang mengandung senyawa eugenol tanpa mengalami hambatan yang signifikan. Dengan demikian, menyebabkan komponen utama penyusun minyak tangkai bunga cengkih didominasi oleh unsur eugenol sehingga kadar eugenolnya pun menjadi lebih tinggi, yaitu dengan nilai 94,83% dibandingkan dengan perlakuan waktu fermentasi 2, 6 dan 8 hari.

Berbeda dengan perlakuan waktu fermentasi 2 hari suhu delignifikasi yang sama (80°C), maka kapang *Trichoderma viride* yang diinokulasi pada tangkai bunga cengkih baru mencapai fase adaptasi sehingga lignin dan selulosa yang menutupi jaringan kelenjar minyak dan mengandung senyawa eugenol yang terikat dalam vascuola tangkai bunga cengkih belum terdegradasi, yang berakibat

pada saat penyulingan dilakukan penyebaran uap panas sangat lambat untuk mencapai *slowest heating zone*, serta menyebabkan kecepatan uap panas untuk mengekstrak minyak tangkai bunga cengkih dan komponen eugenolnya tidak optimal. Hal ini menyebabkan minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan pada perlakuan waktu fermentasi hingga hari ke-2 dengan suhu delignifikasi 80°C memiliki kadar eugenol yang agak rendah dengan nilai kadar eugenol 92,40%.

Perlakuan waktu fermentasi 6 dan 8 hari dengan suhu delignifikasi yang sama (80°C) pada tangkai bunga cengkih, menyebabkan degradasi lignin dan selulosa yang didalamnya terdapat jaringan kelenjar minyak yang mengandung senyawa eugenol menjadi lunak terbentuk emulsi minyak-air yang lebih dan mudah dipisahkan dari emulsi; akibatnya penetrasi uap panas pada saat penyulingan tidak terhambat dan bahkan berlangsung lebih cepat yang menyebabkan kandungan eugenol pada minyak tangkai bunga cengkih akan teruapkan di udara sebagian, sehingga kadar eugenol pada minyak yang dihasilkan menjadi lebih kecil atau menurun, yaitu menjadi 92,92% dan 91,76% (Tabel 2).

Bila dikaji lebih lanjut, adanya perlakuan suhu delignifikasi 80°C dibandingkan dengan perlakuan suhu delignifikasi 60°C; kadar eugenol pada minyak tangkai bunga cengkih yang dihasilkan dengan waktu fermentasi yang sama, pada umumnya memiliki kadar eugenol yang lebih rendah. Hal ini dapat disebabkan karena dengan adanya perlakuan suhu delignifikasi yang tinggi (80°C), maka proses peningkatan kecepatan reaksi dengan NaOH 0,5% yang digunakan dalam delignifikasi menjadi lebih cepat, sehingga jaringan kelenjar minyak pada tangkai bunga cengkih yang mengandung senyawa eugenol bersifat labil dan akan teruapkan sebagian sebelum dilakukan penyulingan. Akibatnya kadar eugenol pada tangkai bunga cengkih yang dihasilkan setelah penyulingan menjadi turun dan lebih kecil/rendah.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Perlakuan prapenyulingan minyak tangkai bunga cengkih dengan cara



delignifikasi tangkai bunga cengkih menggunakan NaOH 0,5% pada suhu 60°C selama 30 menit dan dilanjutkan dengan fermentasi selama 6 hari dengan bantuan kapang *Trichoderma viride* mempunyai keunggulan dibandingkan dengan penyulingan yang biasa dilakukan tanpa perlakuan apapun (kontrol). Hasil penyulingan minyak untuk perlakuan yang terbaik, yaitu pada tangkai bunga cengkih yang sudah dilakukan perlakuan pendahuluan dengan cara delignifikasi suhu 60°C dan difermentasi selama 6 hari menghasilkan rendemen tertinggi, yaitu 5,62% dengan bobot jenis, indeks bias dan kadar eugenol yang tinggi serta memenuhi standar menurut SNI 06.2387-1998.

Delignifikasi dan fermentasi pada tangkai bunga cengkih dengan kapang *Trichoderma viride* selain dapat mempengaruhi terhadap rendemen, bobot jenis dan indeks bias; juga dapat meningkatkan kadar eugenol.

#### Saran

Perlu dilakukan penelitian lanjutan perlakuan pendahuluan terutama pada nisbah (ratio) pemakaian kapang *Trichoderma viride* dalam fermentasi untuk mendapatkan rendemen dan mutu minyak tangkai bunga cengkih yang lebih baik.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Ames, CR and Matthews, WSA. (1968). "The distillation of Essential Oils". *Tropical Science, Vol. X*: 112-119.
- Anonimous. (1993). *Mengebunkan Minyak Nilam Untuk Mencukupi Kebutuhan Ekspor*. Kliping Sinar Tani. Pusat Informasi Pertanian, Jakarta.
- Anonimous. (2007). *Pemurnian Minyak atsiri Tingkatan Nilai Ekonomi*. Harian Seputar Indonesia (Sindo) Edisi sore, PT Sindo, Jakarta. [Http : // en.wikipedia.org./ wiki/eugenol](http://en.wikipedia.org/wiki/eugenol) [ Akses 27 Juli 2008].
- Belcher, WFN. (1965). *Perfumery and Essential Oil Record*. American Perfumery and Essential Oil Pub. Co., New York.
- Buckley, K. and Dobson, A. (1998). *Extracellular lignolytic enzyme production and polymeric dye decolourization in immobilized culture of Chrysosporium ligninum*. Microbiology Department, Univ. College, Cork, Ireland.
- Chairil, A. (1994). *The Conversion of Eugenol into More valuable Substances* (Disertation). Gajah Mada University, Yogyakarta.
- Cowling, EB. (1976). "Properties of cellulose and lignocellulotic material as Substrats for Enzymatic Conversation Process". *Biotechnology Symp. No. 6* : 95-123.
- Dence, CW and Reeve, DW. (1996). *Pulp Bleaching : Principle and Practice* Tappi Press, Atlanta, Georgia -USA.
- Enari, TM. (1983). "Micobial Cellulasses" didalam *Microbial Enzymes and Biotechnology*, ed. by William M. Fogarty. Applied Science, London-New York : 183-220.
- Furia, TE and Ballenca, N. (1975). *Fenerolls Handbook of Flavor Ingredients, Vol. II*. Mc.Graw Hill Book, Co. Inc. New York.
- Guenther, E. (1948). *The Essential Oils, Vol II D*. Van Nostrand Comp. Inc. New York : 427-429.
- Guenther, E. (1950). *The Essential Oils, Vol IV D*. Van Nostrand Comp. Inc. New York : 427-429.
- Guenther, E. (1952). *The Essential Oils, Vol 7*. Robert Kriger Publishing Co, Inc. Huntington, New York.
- Guenther, E. (1953). *The Essential Oils, Vol IV D*. Van Nostrand Comp. Inc. New York.
- Guenther, E. (1987). *Minyak Atsiri* (Terjemahan). Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Guenther, E. (1990). *Minyak Atsiri Jilid IV B*. Alih bahasa oleh Ketaren, S. UI-Press, Jakarta.
- Hardjono, S. (1978). *Isolation and Utilization of Eugenol from Clove Leaf Oil* (Disertation). Gajah Mada University, Yogyakarta.
- Kardiman, A. (2005). *Tanaman Penghasil Minyak Atsiri, Komoditas Wangi Penuh Potensi*. PT Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Ketaren, S. (1985). *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. PN Balai pustaka, Jakarta.
- Kirk, RE and Othmer, DF. (1953). *Encyclopedia of Chemical Technology*.



- The Interscience Encyclopedia, Inc., New York.
- Lawrence, BW. (1981). "Progress in Essential Oils". *Perfumer and Flavorist*, 6 : 60-78.
- Marsden, WL and Gray, P. (1986). "Enzymatic Hydrolysis of Cellulose in Lignocellulose Material". *CRC Critical reviews in Biotechnology* : 235-264.
- Nasrudin, Priyanto, G. dan Hamzah, B. (2005). "Mempelajari Proses Penyulingan Minyak Nilam melalui Delignifikasi Daun". *Jurnal Teknol. Dan Industri Pangan*, Vol. XVI No. 3 : 247-253.
- Nurjanah, N., Rusli, S. dan Viana, A. (1990). "Pengaruh Bobot dan Waktu Penyulingan Tangkai Cengkeh Terhadap Mutu dan Rendemen Minyak yang Dihasilkan". *Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri* Vol. XV No. 4 : 153-157.
- Rosales, AM and Mew, TW. (1985). *Decomposition of Rice Straw by Four Species of Trichoderma in Natural Soil*. IRRI, Manila, Philipines.
- Risfaheri (1990). "Pengaruh Penjemuran dan Pelayuan Daun serai Wangi terhadap Rendemen dan Mutu Minyaknya". *Pemberitaan Penelitian Tanaman Industri* Vol XV No. 3 : 124-128.
- Rizal, M. dan Djazuli, M. (2006). "Strategi Pengembangan Minyak atsiri Indonesia". *Warta penelitian dan Pengembangan Pertanian*, Vol. 28 No. 5 : 13-15.
- Sastrosupandi, A. (2000). *Rancangan Percobaan Praktis Bidang Pertanian*. Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- Standar Nasional Indonesia (1998). *Mutu dan Cara Uji Minyak Daun Cengkih*. SNI. 06. 2387-1998. BSN, Jakarta.
- Tan, HS. (1962). *Minyak Atsiri*. Balai Penelitian Kimia, Bogor.
- Thorpe, JF and Whiteley, MA. (1944). *Lignin : Thorpe's Dictionary of Applied Chemistry*, 4th Edition, Vol. VII. Longmans, Green and Co. New York : 308a -308b.
- Tien, M. and Krik, K. (1988). "Lignin peroxidase of *Phenerochaeta crysoporium*". *Methods in Enzymology* Vol. 161., Academic Press, New York.
- Uhe, G. (2007). *Monthly Market Report of Essential Oils and Its Derivatives*. Essential Oils of America (EOA) Pub. , New York.