

ISOLASI, KARAKTERISASI DAN UJI AKTIVITAS ANTIDIABETES SENYAWA EUGENOL DARI MINYAK DAUN CENGKEH (*Eugenia caryophyllata* Thumb)

Edward Julys Dompeipen

Balai Riset dan Standardisasi Industri Ambon

E-mail : dompeipenedward@yahoo.com

ABSTRAK

Penelitian isolasi, karakterisasi dan uji aktivitas antidiabetes senyawa Eugenol dari minyak daun cengkeh (*Eugenia caryophyllata* Thumb) telah dilakukan. Isolasi dilakukan melalui distilasi cair dan dianalisa dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan eluen etil asetat : n-heksana = 15:18 dan CHCl₃: aseton = 19 : 1 dengan fase stasioner silica gel GF254 (Merck). Isolasi pada suhu yang berbeda diperoleh tiga Fraksi; Fraksi I (1450C) berwarna kuning bening, Fraksi II (1600C) berwarna kuning dan Fraksi III (1800C) berwarna kuning kecoklatan dan ketiga Fraksi memiliki nilai R_f yang sama (4,8:3,4). Hasil kromatografi gas Fraksi I diperoleh puncak dominan pada waktu retensi (R_t) 21,9 menit dengan konsentrasi relatif 20,502% dengan indeks bias 1,537 dan titik didih senyawa 2500C. Fraksi I diperkirakan adalah senyawa fenolat yang kemungkinan besar adalah eugenol. Aktivitas antidiabetes diuji berdasarkan aktivitas inhibisi terhadap α -Glukosidase. Aktivitas inhibisi Fraksi I = 87%, Fraksi II= 66% dan Fraksi III = 56%., ketiga fraksi berpotensi sebagai agen antidiabetes.

Kata kunci : Eugenol, Eugenia caryophyllata Thumb, Kromatografi lapis tipis, Antidiabetes, α -Glukosidase

PENDAHULUAN

Minyak atsiri atau yang disebut juga dengan *essential oils*, *etherial oils*, atau *volatile oils* adalah salah satu komoditi yang memiliki potensi besar di Indonesia. Minyak atsiri adalah ekstrak alami dari jenis tumbuhan tertentu, baik berasal dari daun, bunga, kayu, biji-bijian bahkan putik bunga. Setidaknya ada 70 jenis minyak atsiri yang selama ini diperdagangkan di pasar internasional dan 40 jenis di antaranya dapat diproduksi di Indonesia (Lutony dan Rahmayati, 2000). Meskipun banyak jenis minyak atsiri yang bisa diproduksi di Indonesia, baru sebagian kecil jenis minyak atsiri yang telah diusahakan di Indonesia. Minyak cengkeh merupakan minyak atsiri yang berasal dari tanaman cengkeh (*Eugenia caryophyllata* Thumb), yang termasuk dalam famili Myrtaceae, yang banyak ditanam di Indonesia, India dan Madagaskar (Alma et al., 2007). Minyak cengkeh telah banyak dimanfaatkan sebagai agen perasa dan pemberi aroma pada berbagai makanan dan campuran dalam rokok kretek karena aroma dan rasanya yang kuat dan pedas (Nurdjannah, 2004), selain itu minyak cengkeh memiliki aktivitas biologis karena mengandung eugenol dengan kadar tinggi, yaitu sebagai antiseptik dan analgesik pada pengobatan gigi dan mulut (Sukandar et al., 2010), antifungal (Nurdjannah dan Hidayat, 1994), antibakteri (Ayoola et al., 2008), antioksidan, antikarsinogen (Arenas et al., 2011) dan anti radikal bebas (Nurjanah et al., 2013). Minyak cengkeh dapat diisolasi dari daun (1-4%), batang (5-10%), maupun bunga cengkeh (10-20%) (Nurjanah, 2004). Minyak atsiri dari bunga cengkeh memiliki kualitas terbaik dan harganya mahal karena rendemennnya tinggi dan mengandung eugenol mencapai 80-90% (Alma et al., 2007; Srivastava, 2005). Kelimpahan komponen-komponen dalam minyak cengkeh bergantung dari jenis, asal tanaman, metode isolasi, dan metode analisa yang digunakan (Alma et al., 2007). Minyak cengkeh umumnya diisolasi dari bunga cengkeh kering (Gunther, 2005). Proses pengeringan bertujuan sebagai teknik pengawetan bunga cengkeh setelah panen untuk keperluan berbagai industri makanan, farmasi, dan kosmetik. Pada penelitian Memmou dan Mahboub (Memmou et al., 2005), bunga cengkeh segar didistilasi dan dihasilkan minyak cengkeh dengan eugenol sebanyak 47,57%, β -karyofilen 35,42%, eugenil asetat 13,42%. Namun selama ini belum ada riset tentang pengaruh pengeringan terhadap perubahan komponen dalam minyak cengkeh.

Diabetes Mellitus adalah suatu jenis penyakit yang ditandai dengan adanya kadar glukosa yang melebihi nilai normal (hiperglikemia) akibat tubuh kekurangan insulin baik absolut maupun relatif (Bnourham et al., 2002). Secara klinis *Diabetes Mellitus* dibedakan atas *Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (IDDM) dan *Non Insulin Dependent Diabetes Mellitus* (NIDDM) (Bnourham et al., 2006).

Menurut data WHO, Indonesia menempati urutan ke-4 terbesar dalam jumlah penderita *diabetes mellitus* di dunia.

Glukosidase merupakan enzim kunci yang berperan dalam proses metabolisme karbohidrat yang terletak di bagian tepi permukaan sel usus halus, dan proses pembentukan glikoprotein dan glikolipid. Glukosidase bekerja dengan memecahkan karbohidrat menjadi glukosa di usus halus manusia. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas glukosidase merupakan senyawa yang berpotensi sebagai antidiabetes, karena mampu menurunkan kadar gula dalam darah (Rout et al., 2009; Gholamhoseinian et al., 2008).

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan adalah alat-alat gelas, mikropipet, vortex mixer, pengaduk magnet, timbangan analitik, mikro buret, refractometer (Baush & Lomb), seperangkat alat destilasi uap, seperangkat alat destilasi pengurangan tekanan, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, kromatografi gas (Shimadzu GC-9 A). Minyak daun cengkeh sebanyak 100 mL, Beberapa bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah natrium hidroksida, petroleum eter, natrium sulfat anhydrous, etil asetat, CHCl₃, n-heksana, aseton, Sebanyak 1 mg α -glukosidase dilarutkan dalam 1000 μ L buffer fosfat (pH 7) . 30 μ L buffer fosfat, 250 μ L 20 mM-paranitrofenil- α -D glukopiranosida, 475 μ L 100 mM buffer fosfat, larutan DMSO. 1 mL 0.2 M Na₂CO₃.

Isolasi Eugenol

Isolasi senyawa eugenol menggunakan 100 mL minyak daun cengkeh hasil distilasi dimasukkan ke dalam gelas leher tiga berkapasitas satu liter, ditambahkan dengan NaOH 20 g dalam 150 mL akuades sedikit demi sedikit sambil diaduk kuat-kuat, setelah didiamkan terjadi dua lapisan. Selanjutnya dipisahkan dalam corong pisah terjadi lapisan atas (A.1) dan lapisan bawah (X.1). Lapisan A.1 diekstrak dengan larutan NaOH baru (8 g NaOH dalam 80 ml akuades) disini terjadi dua lapisan kemudian dipisahkan dalam corong pisah, lapisan atas (A.2) dan lapisan bawah (X.2), lapisan X.1 diekstrak dengan petroleum eter 3x50 ml kemudian dipisahkan, lapisan atas A.3 dan lapisan bawah X.3. Lapisan X.2 dan X.3 digabung dan diasamkan dengan HCl 25% sambil diaduk (pH 3). Setelah didiamkan terjadi lapisan atas (A.4) dan lapisan bawah (X.4). Lapisan A.4 eugenol disimpan, sedangkan lapisan X.4 diekstrak dengan petroleum eter sebanyak 2x50 mL, terjadi lapisan atas (A.5) dan lapisan bawah (X.5) kemudian lapisan A.4 dan X.5 digabung dicuci dengan aquades sampai netral dan dikeringkan dengan natrium sulfat anhydrous. Selanjutnya disaring dan fasa cair diuapkan pelarutnya dengan evaporator, dan residunya ditimbang. Selanjutnya untuk distilasi dilakukan sebanyak 50 g eugenol kasar dimasukkan ke dalam labu leher tiga yang berkapasitas 500 mL dan dihubungkan dengan seperangkat distilasi pengurangan tekanan. Tiap-tiap fraksi yang diperoleh ditampung dengan labu fraksi yang berukuran 50 mL pada variasi suhu 145, 160 dan 180 °C. Karakterisasi eugenol dalam fraksi-fraksi (F-1, F2, dan F3) dilakukan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan kromatografi gas (GC).

Uji Aktivitas Antidiabetes

Uji aktivitas antidiabetes secara *in vitro* dilakukan dengan menggunakan metode α -glukosidase (Saijyo *et al.*, 2008). Sebanyak 1 mg α -glukosidase dilarutkan dalam 1000 μ L buffer fosfat (pH 7) . Kemudian 12 μ L larutan enzim diencerkan dalam 30 μ L buffer fosfat sebelum digunakan untuk pengujian. Sebanyak 250 μ L 20 mM-paranitrofenil- α -D glukopiranosida, 475 μ L 100 mM buffer fosfat dan 25 μ L larutan sampel dilarutkan dalam DMSO. Setelah larutan homogen diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C, lalu ditambahkan 250 μ L larutan enzim α -glukosidase, inkubasi dilanjutkan selama 25 menit. Reaksi dihentikan dengan penambahan 1 mL 0.2 M Na₂CO₃. Jumlah *p*-nitrofenol yang dilepaskan diukur pada panjang gelombang, λ = 400 nm. Selanjutnya, kemampuan inhibisi dihitung berdasarkan rumus:

$$\text{Inhibisi (\%)} = \frac{OD_{test} - OD_{blanko}}{COD_{test} - COD_{blanko}} \times 100\%$$

OD test menunjukkan absorbansi sampel dengan penambahan enzim, OD blanko adalah absorbansi sampel tanpa penambahan enzim, COD test absorbansi kontrol dengan penambahan enzim dan COD blank adalah absorbansi kontrol tanpa penambahan enzim.

Analisis Kromatografi

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan eluen etil asetat : n-heksana = 15 : 18 dan CHCl_3 : aseton = 19 : 1, fase stasioner yang digunakan adalah silica gel GF₂₅₄ (merck). Identifikasi dengan kromatografi gas (GC), gas pembawa nitrogen, gas pembakar hidrogen dan oksigen, kecepatan gas pembawa 50 mL/menit, kolom OV 107, detektor FID, suhu kolom 250°C, suhu detektor 250°C, suhu injeksi 200°C dan suhu awal injeksi 70°C. Sampel dimasukkan sebanyak 1µL dengan menggunakan pelarut heksana.

Analisis Sifat Fisika

Analisis sifat fisika meliputi pengukuran titik didih dan indeks bias senyawa dengan menggunakan refraktometer (Baush & Lomb).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Salah satu cara pemisahan atau pemurnian komponen minyak adalah dengan distilasi biasa. Distilasi biasa minyak atsiri adalah pemisahan komponen berdasarkan titik didih dan berat molekulnya (Vogel, 1958). Sedangkan menurut Guenthers (1990), fraksinasi minyak atsiri adalah pemisahan minyak atsiri menjadi beberapa fraksi berdasarkan perbedaan titik didihnya. Sebaiknya minyak atsiri tidak difraksinasi pada tekanan atmosfer, tetapi dalam keadaan vakum karena tekanan tinggi dan suhu tinggi dapat mengakibatkan dekomposisi dan resinifikasi, sehingga destilat mempunyai bau dan sifat fisika kimia yang berbeda dengan minyak murni.

Isolasi eugenol menggunakan bahan dasar 100 mL minyak daun cengkeh yang telah didistilasi diperoleh tiga fraksi hasil distilasi pada suhu yang berbeda. Fraksi I pada suhu 145°C berwujud minyak berwarna kuning bening, fraksi II pada suhu 160°C berwarna kuning dan fraksi III pada suhu 180°C berwujud minyak berwarna kuning. Ketiga isolat hasil distilasi fraksinasi diukur nilai indeks biasnya yang kemudian dibandingkan dengan indeks bias eugenol menurut pustaka yaitu 1,5380 – 1,5420 (EOA, 1970). Sifat fisika hasil distilasi biasa dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Sifat Fisika hasil distilasi fraksinasi

No	Sampel	Suhu (°C)	Warna	Indeks bias (n_D^{20})
1	Fraksi I	145	Kuning bening	1,537
2	Fraksi II	160	Kuning	1,536
3	Fraksi III	180	Kuning kecoklatan	1,536

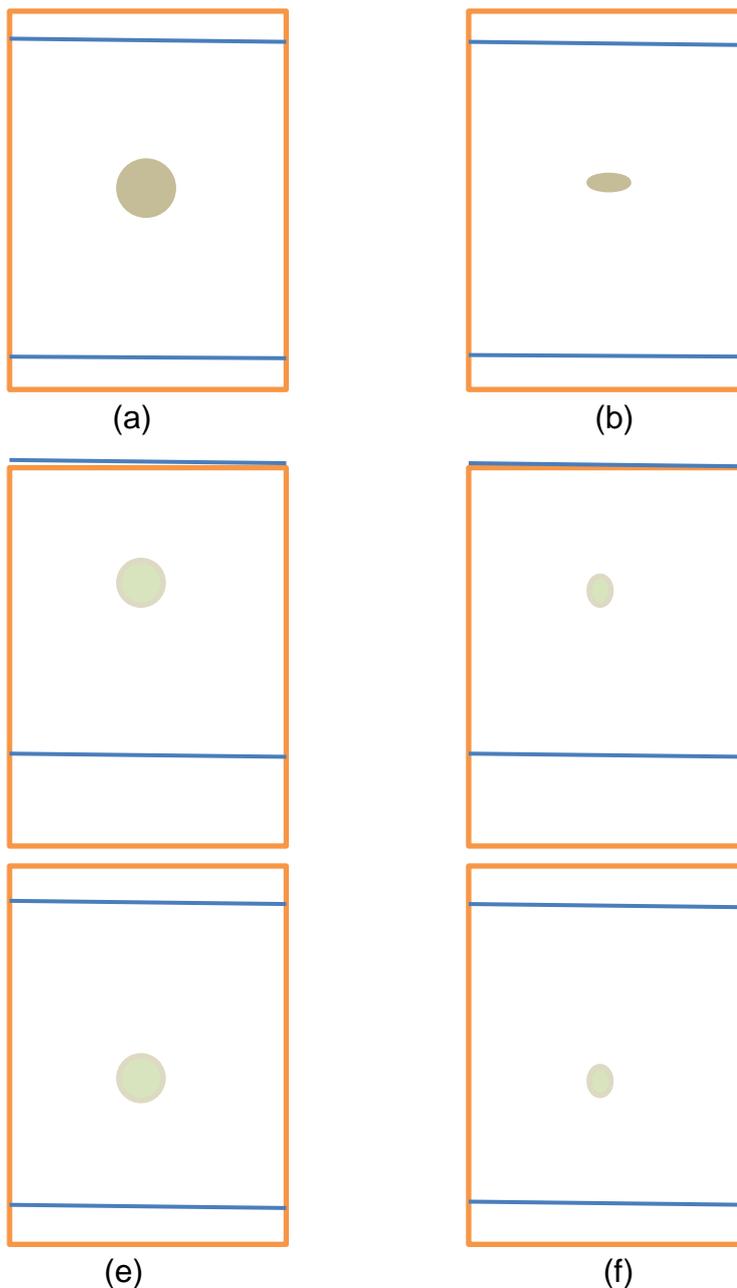
Indeks bias isolat yang diujikan juga tidak menunjukkan perbedaan dengan pustaka. Dengan demikian dapat diasumsikan bahwa ketiga isolat ini adalah senyawa yang sama. Hal ini sangat mungkin terjadi oleh karena pemisahan yang dilakukan tidak menggunakan kolom fraksinasi, yaitu hanya menggunakan metode distilasi biasa. Pemisahan komponen komponen senyawa dengan menggunakan teknik distilasi biasa, sangatlah sulit untuk memisahkan atau memurnikan senyawa atau campuran senyawa dengan perbedaan titik didih yang kecil.

Pada penelitian isolasi senyawa eugenol dari minyak cengkeh dengan isolasi fraksinasi yang dilakukan oleh Siti Nurhasanah (2011), dilakukan proses isolasi fraksinasi pada suhu distilasi 200 dan 250°C, tidak diperoleh senyawa eugenol murni, hal ini diakibatkan karena karena perlakuan tekanan yang lebih kecil dan jumlah refluks yang lebih banyak akan lebih memurnikan minyak cengkeh menjadi eugenol. Dengan distilasi fraksinasi pada minyak cengkeh dimana proses berlangsung pada suhu dan tekanan rendah menghasilkan residu yang mutunya meningkat dengan kriteria kadar

eugenol meningkat, berat jenis meningkat, semakin larut dalam alkohol, indeks bias yang meningkat dan nilai putaran optik yang sesuai dengan kriteria minyak cengkeh asli.

Pada penelitian dilakukan isolasi dengan menggunakan teknik distilasi biasa dengan perbedaan dan batasan suhu reaksi yang terdapat pada range di bawah titik didih senyawa eugenol yaitu pada suhu 145 – 180°C, tujuannya adalah untuk melihat tingkat kemurnian senyawa eugenol pada proses pemisahan selanjutnya dengan menggunakan kromatografi gas.

Ketiga isolat fraksi yang diperoleh dilakukan karakterisasi senyawa eugenol yang dihasilkan dengan menggunakan teknik kromatografi lapis tipis yang menunjukkan adanya persamaan nilai R_f , retention factor (Faktor retensi) pada dua jenis campuran eluen seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1 (a) Kromatogram KLT Fraksi I, eluen Etil asetat : n heksana = 15 : 18, $R_f = 0,48$
(b) Kromatogram KLT Fraksi I, eluen $CHCl_3$: aseton = 1 : 1, $R_f = 0,34$
(c) Kromatogram KLT Fraksi II, eluen Etil asetat : n heksana = 15 : 18, $R_f = 0,48$
(d) Kromatogram KLT Fraksi II, eluen $CHCl_3$: aseton = 1 : 1, $R_f = 0,34$
(e) Kromatogram KLT Fraksi III, eluen Etil asetat : n heksana = 15 : 18, $R_f = 0,48$

(f) Kromatogram KLT Fraksi III, eluen CHCl_3 : aseton = 1 : 1, $R_f = 0,34$

Faktor retensi adalah jarak yang ditempuh oleh komponen berbanding jarak yang ditempuh oleh eluen. Nilai faktor retensi (R_f) sangat karakteristik untuk senyawa tertentu pada eluen tertentu. Hal ini sangat diperlukan untuk mengidentifikasi adanya perbedaan senyawa dalam sampel. Kromatogram KLT pada Gambar 1 menjelaskan bahwa ketiga fraksi menunjukkan satu noda pada pereaksi penampak noda H_2SO_4 40% / methanol. Harga R_f dan jumlah noda disajikan dalam Tabel 2.

Tabel 2. Harga R_f dan jumlah noda

No	Sampel	Jumlah noda pada eluen		Harga R_f
		Etil asetat : n-heksana = 15 : 18	CHCl_3 : Aseton = 1 : 1	
1	Fraksi I	1	1	0,48 : 0,34
2	Fraksi II	1	1	0,48 : 0,34
3	Fraksi III	1	1	0,48 : 0,34

Hasil analisis kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukkan bahwa ketiga fraksi merupakan satu komponen senyawa yang sama relatif murni secara KLT. Fraksi I yang kemudian dilanjutkan untuk uji kemurnian lebih lanjut menggunakan kromatografi gas, oleh karena Fraksi I berwarna kuning bening dan secara kasat mata lebih jernih jika dibandingkan dengan Fraksi II dan III. Fraksi I dengan demikian diasumsikan relatif masih teroksidasi dibandingkan dengan kedua fraksi lain.

Analisis kromatografi gas untuk isolat fraksi I menunjukkan bahwa fraksi I ini belum murni yang diindikasikan dengan munculnya puncak-puncak impuritis disamping puncak yang dominan yang muncul pada waktu retensi (R_f 21,9 menit dengan konsentrasi relatif 20,503%). Puncak dominan yang muncul pada 21,9 menit ini kemungkinan adalah puncak dari senyawa eugenol, yang secara pustaka di dalam daun cengkeh mengandung 70 – 80%.

Hasil pengukuran sifat fisika dari isolat (Fraksi I) diperoleh indeks bias sebesar 1,537 dan titik didih senyawa sebesar 250°C dan bila dibandingkan dengan data sifat fisika dari senyawa eugenol secara pustaka (n_D^{20} 1,540 dan b_p 255°C), tampak dari data ini senyawa isolat mendekati senyawa eugenol, sekalipun hal ini masih perlu dibuktikan dengan menggunakan teknik analisis lebih lanjut. Perbedaan angka ini sangat mungkin disebabkan oleh masih adanya impuritis dalam senyawa hasil isolasi, tetapi demikian secara kimiawi senyawa isolat (Fraksi I) merupakan senyawa fenolat hal ini dibuktikan dengan hasil reaksi yang positif berwarna jingga keunguan dengan menggunakan larutan FeCl_3 1% dalam methanol.

Aktivitas antidiabetes fraksi fraksi hasil isolasi senyawa dari minyak cengkeh

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antidiabetes dengan menggunakan metode inhibisi α -glucosidase. Uji aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glucosidase isolat senyawa fraksi fraksi hasil isolasi senyawa dari minyak cengkeh di sajikan pada Tabel.3 dengan menggunakan acarbose sebagai kontrol positif.

Tabel 3. Aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glucosidase Acarbose dan Isolat fraksi fraksi hasil isolasi senyawa dari minyak cengkeh

No	Sampel	Inhibisi (%)	Keterangan
1	Fraksi I	87,00	Aktif
2	Fraksi II	66,00	Aktif
3	Fraksi III	56,00	Aktif
4	Acarbose	98,28	Aktif

α -glucosidase adalah enzim yang sangat dibutuhkan tubuh dalam proses metabolisme karbohidrat yang terletak pada bagian tepi permukaan sel usus halus dan merupakan enzim kunci dalam metabolisme tersebut, juga dibutuhkan dalam pembentukan glikoprotein dan glikolipid

(Lee.D.S., *et al*, 2001). Enzim ini bekerja pada ikatan 1,4 alfa glikosidik untuk memecahkan karbohidrat menjadi glukosa pada usus halus manusia. Senyawa yang dapat menghambat aktivitas enzim ini mengindikasikan bahwa senyawa tersebut berpotensi sebagai antidiabetes yang dapat menurunkan kadar gula darah (Yoshikawa, M., *et al*, 2001).

Dalam penelitian ini senyawa acarbose digunakan sebagai kontrol positif. Acarbose merupakan senyawa utama obat oral antidiabetes golongan inhibitor α -glukosidase. Acarbose adalah pseudotetrasakarida, suatu produk mikroba alami yang berasal dari kultur kaldu strain *Actinoplanes* SE 50. Acarbose bekerja secara reversible kompetitif terhadap enzim α -glukosidase di dalam brush border mukosa usus halus, sehingga proses hidrolisis oligosakarida menjadi monosakarida tidak terjadi. Obat ini bekerja mengurangi absorpsi glukosa di usus halus, sehingga mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah sesudah makan.

Pada penelitian ini didapatkan bahwa isolate senyawa fraksi I, II dan tiga memiliki aktivitas inhibisi terhadap enzim α -glukosidase karena memiliki persentase inhibisi lebih dari 50%. Senyawa yang memiliki aktivitas inhibisi lebih besar dari 50% dinyatakan berpotensi sebagai agen antidiabetes. Penelitian yang dilakukan oleh Ruhi Sayana (2013) telah menemukan bahwa eugenol dan cyanidin adalah merupakan inhibitor enzim α -glukosidase, dan keduanya bisa, dengan eksperimen tambahan, digunakan untuk mengurangi postprandial hiperglikemia, yang mengarah ke solusi yang mungkin untuk tipe 2 Diabetes. Eugenol juga menghambat enzim, mengurangi tingkat ke 93,33 U / L pada 256 mM dan 3,13 U / L pada 384 mM. Cyanidin bekerja lebih baik daripada acarbose hampir 3,5 kali.

KESIMPULAN

Penelitian ini dapat disimpulkan bahwa isolate Fraksi I yang diisolasi dari minyak daun cengkeh adalah merupakan senyawa fenolat yang kemungkinan besar adalah senyawa eugenol. Isolat Fraksi I, Fraksi II dan Fraksi III memiliki aktivitas sebagai agen antidiabetes. Saran untuk penelitian ini adalah perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk membuktikan bahwa senyawa yang diuji adalah senyawa eugenol dengan menggunakan teknik pemisahan, instrumentasi, dan analisa fisika kimia lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Alma, M.H., M. Ertas, S. Nitz, H. Kollmannsberger. 2007. Chemical Composition and Content of Essential Oil from The Bud of Cultivated Turkish Clove (*Syzygium aromaticum* L.), *J. Bio Resources*, 2(2), pp.265-269.
- Arenas, Merchan D.R., A.M. Acevedo, L.Y. Mendez, V.V. Kouznetsov. 2011. Scavenger Activity Evaluation of the Clove Bud Essential Oil (*Eugenia caryophyllus*) and Eugenol Derivatives Employing ABTS+• Decolorization, *Science Pharmacy Research Article*, 79, pp.779-791.
- Ayoola, G.A., F.M. Lawore, T. Adelowotan, I.E. Albinu, E.Adenipekun, H.A.B. Coker, and T.O. Odugbemi. 2008. Chemical Analysis and Antimicrobial Activity of The Essential Oil of *Syzygium aromaticum*(Clove), *African Journal of Microbiology Research*, 2, pp. 162-166.
- Badan Standar Nasional Indonesia. 1996. SNI 06-4267-1996 tentang Minyak Bunga Cengkih, ICS 71.100.60.
- Bhuiyan M.N.I., Begum J., Nandi N.C., Akter F. 2010. Constituents of The Essential Oil from Leaves and Buds of Clove (*Syzygium caryophyllatum* (L.) Alston), *Afri. J. Plant. Sci.* 4(11), pp.451-454.
- Bnounham M., Abderrahim, Z., Hassane M., Abdel H.T and Abdelkhaleg L. 2006. Medical plants with potential antidiabetic activity – A review of 10 years of herbal medicine research (1990-2000). *Int. J. Diabet. and Metabolism* 14 : 1-25.
- Bnounham M., Hassane M., Abdelkhaleg L, Abderrahim, Z., 2002. Medical plants used in the treatment of Diabetes in Morocco. *Int. J. Diabet. and Metabolism* 10: 33-50.

- Budvari,S. (1989). The Merck Index en encyclopedia of Chemical Drugs and Biological, 11 ed. Merck.Co, Inc USA. P 3855.
- Gholamhoseinian A., Hosesin F., Fariba S., Mansour M., 2008. The inhibitor effect of some Iranian plants extract on the alpha glucosidase. Iran. J. of Basic Med. Scie. (1) 11 : 1-9.
- Guan W., Li S., Yan R., Tang S., Quan C. 2007. Comparison of Essential Oil of Clove Bud Extracted with Supercritical Carbon Dioxide and Other Three Traditional Extraction Methods, Food. Chem., 101, pp. 1558-1564.
- Guenther, E. 2011. Minyak Atsiri Jilid I, diterjemahkan oleh Ketaren. (1987). Jakarta, UI-Press.10
- Gunther Ernest. 1990. Minyak Atsiri. Jilid I. Ketaren (penerjemah). UI Press, Jakarta.
- Gunther Ernest. 1990. Minyak Atsiri. Jilid IV b. Ketaren (penerjemah). UI Press, Jakarta.
- Hadiman. 1980. Analisis Kromatografi Gas Minyak Sereh Wangi Dan Beberapa Prospek Dalam Evaluasi Kebenaran Kualitas. Thesis, Universitas Padjadjaran, Bandung
- Ketaren, S. 1985. Pengantar Teknologi Atsiri. PN Balai Pustaka
- Lutony, T.L., Rahmawati, Y. 2000. "Produksi Dan Perdagangan Minyak Atsiri", Penebar Swadaya, Jakarta.
- Nurdjannah, N. 2004. Diversifikasi Tanaman Cengkeh, J. Perspektif, 3(2), Hal. 61–70.275
- Nurdjannah, N dan T Hidayat. 1994. Pengaruh Cara dan Waktu Distilasi terhadap Mutu Minyak Bunga Cengkeh, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, 9(2).
- Nurjannah, D.A, R. Retnowati, U.P. Juswono. 2013. Aktivitas Antioksidan dari Minyak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Kering Berdasarkan Aktivitas Antiradikal yang Ditentukan Menggunakan ESR, Kimia Student Journal, Universitas Brawijaya, Malang.
- Memmu, F., R. Mahboub. 2012. Composition of Essential Oil from Fresh Flower of Clove, Jour. Of Sci. Res. In Phar, 1(2), pp. 3335.
- Srivastava A.K., SK Srivastava, K.V. Syamsundar. 2005. Bud and Leaf Essential Oil Composition of *Syzygium aromaticum* from India and Madagascar, Flavour Fragr. J., 20, pp.51-53.9.
- Sukandar, D., N. Radiastuti, dan Khoeriyah. 2010. Karakterisasi Senyawa Aktif Anti Bakteri Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.), JKTI, 12(1).4.
- Ruhi Sayana. 2013. Targeting Postprandial Hyperglycemia: Novel Use of Cyanidin and Eugenol to Inhibit alpha-Glucosidase for Type 2 Diabetes. California State Science Fair 2013 Project Summary.
- Tham, M.T. 2001. Distillation : an Introduction. [http://www. Acs.org/](http://www.Acs.org/)
- Vogel, A.L. 1988. Elementary Practical Organic Chemistry. Longmans, Green an Co., NewYork