

**PERBANDINGAN KADAR EUGENOL MINYAK ATSIRI
BUNGA CENGKEH (*Syzygium aromaticum* (L.) Meer. & Perry)
DARI MALUKU, SUMATERA, SULAWESI, DAN JAWA
DENGAN METODE GC-MS**

SKRIPSI



Oleh:
ELSARI DWI HARNANI
K 100060025

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2010**

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) merupakan jenis tanaman penghasil minyak atsiri yang tumbuh subur di Indonesia. Hal ini menunjang potensi Indonesia sebagai penghasil minyak cengkeh dalam jumlah besar (Guenther, 1950 *cit* Busroni, 2000) bahkan produk minyak atsiri cengkeh Indonesia cukup dominan menguasai pasar dunia yaitu sekitar 2500 ton per tahun (Gunawan, 2009). Indonesia adalah negara penghasil minyak cengkeh terbesar sehingga pemanfaatan minyak cengkeh dapat dilakukan secara optimal dari segi agrobisnis dan untuk dunia pendidikan (Busroni, 2000).

Komoditi minyak cengkeh Indonesia secara garis besar masih diekspor keluar negeri dalam bentuk bahan mentah dan hanya sebagian kecil yang diekspor dalam bentuk senyawa eugenol (Busroni, 2000). Kebutuhan eugenol sebagian besar masih diimpor untuk memenuhi kebutuhan industri makanan, minuman, dan farmasi. Volume impor berkisar antara 138,8-174,2 ton/tahun dengan nilai USD 1,191-1,3 juta (Anonim^a, 2008). Senyawa eugenol diproses lebih lanjut menjadi berbagai produk dengan kegunaan lebih untuk dijual kembali dengan harga yang lebih tinggi, sehingga diperoleh nilai tambah serta keuntungan yang tidak sedikit bagi negara importir (Busroni, 2000). Meskipun beberapa perusahaan di dalam negeri mulai memproduksi eugenol murni dan isoeugenol, jumlahnya belum mampu memenuhi kebutuhan (Anonim^a, 2008).

Eugenol memegang peranan penting sebagai bahan dasar pembuatan produk dalam industri farmasi. Proses lebih lanjut dari eugenol dapat menghasilkan isoeugenol, eugenol asetat, dan vanilin yang merupakan bahan baku industri parfum, dan makanan. Industri kesehatan gigi (obat kumur, pasta dan formulasi bahan penambal gigi) menggunakan bahan baku eugenol dalam minyak cengkeh karena mempunyai daya antiseptik (Anonim^b, 2004). Menurut Gunawan dan Mulyani (2004), eugenol banyak diproduksi sebagai analgetikum, stimulansia, korigen odoris, obat mulas, serta menghilangkan rasa mual dan muntah. Observasi Chaieb *et al* (2007) terhadap berbagai hasil penelitian menunjukkan bahwa eugenol terbukti memiliki aktivitas biologis sebagai antioksidan, antifungi, dan antiseptik.

Pemikiran bahan kajian eugenol didasarkan pada besarnya produksi bahan baku bunga cengkeh di dalam negeri serta penggunaan senyawa eugenol yang luas dalam dunia pengobatan. Namun, luasnya segi pemanfaatan eugenol belum didukung tersedianya eugenol dalam jumlah yang cukup sehingga diperlukan upaya-upaya untuk mengembangkan penyediaan eugenol sebagai bahan dasar pembuatan produk, salah satunya dengan menentukan daerah sentra penghasil bahan baku bunga cengkeh terkait dengan besarnya senyawa eugenol yang terkandung. Penelitian dilakukan dengan menentukan kandungan eugenol dalam minyak atsiri bunga cengkeh dari daerah di Maluku, Sumatera, Sulawesi, dan Jawa sebagai daerah sentra penghasil bahan baku bunga cengkeh di Indonesia. Penelitian ini diharapkan dapat menentukan banyaknya kandungan eugenol minyak atsiri bunga cengkeh dari beberapa daerah sehingga berdayaguna pada

pengembangan penyediaan bahan baku produk berbahan dasar eugenol di kalangan industri.

B. Perumusan Masalah

Bagaimanakah kandungan eugenol minyak atsiri bunga cengkeh dari daerah di Maluku, Sumatera, Sulawesi, dan Jawa?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar eugenol minyak atsiri bunga cengkeh dari beberapa daerah sentra penghasilnya (Maluku, Sumatera, Sulawesi, dan Jawa).

D. Tinjauan Pustaka

1. Tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Meer. & Perry)

a. Sistematika tanaman cengkeh berdasarkan hasil studi pustaka

- Divisi : *Spermatophyta*
- Sub divisi : *Angiospermae*
- Kelas : *Dicotyledoneae*
- Sub kelas : *Monochlamydae*
- Bangsa : *Caryophyllales*
- Suku : *Caryophyllaceae*
- Famili : *Myrtaceae*
- Spesies : *Syzygium aromaticum* (L.) Meer. & Perry

(Syamsuhidayat dan Hutapea, 1991)

b. Lokasi tumbuh

Cengkeh cocok ditanam di berbagai daerah di Indonesia, baik di daerah dataran rendah dekat pantai maupun di pegunungan pada ketinggian 900 m dpl. Pohon cengkeh akan tumbuh dengan baik jika mendapat cukup air dan sinar matahari langsung (Armando, 2009). Curah hujan yang dibutuhkan 2.210-3.607 mm/tahun dan suhu udara berkisar 24-30°C (Hernani dan Rahardjo, 2006).

c. Daerah produksi bahan baku cengkeh

Daerah produksi cengkeh di Indonesia berlokasi di sekitar Padang, Bengkulu, dan Lampung (di Pulau Sumatera), dekat Minahasa (di Pulau Sulawesi) dan Ternate, Tidore, Makian, Amboyna, Nusa Laut, Saparua, Amadina, Seram, dan Banda (di Kepulauan Maluku). Kepulauan Maluku masih merupakan daerah penghasil cengkeh utama bagi Indonesia. Maluku berperingkat pertama ditinjau dari besarnya produksi cengkeh, disusul dengan Sumatera dan Sulawesi (Guenther, 1990). Beberapa perusahaan di Indonesia yang memproduksi eugenol murni berlokasi di Cileungsi (Jawa Barat), Purwokerto (Jawa Tengah) dan Gresik (Jawa Timur) (Anonim^d, 2009).

d. Kondisi wilayah sentra penghasil cengkeh

Letak geografis Provinsi Maluku adalah 8°30'-2°30' LS dan 125°20'-135°10' BT (Anonim^b, 2010). Secara topografis, Maluku memiliki lahan dataran (14,6%) dan bukit serta pegunungan (57,2%). Kepulauan Maluku memiliki iklim tropis dan Muson (Anonim^b, 2009).

Provinsi Sumatera Barat terletak pada 3°50' LS-1°20' LU 98°10'-102°10' BT (Anonim^e, 2010). Berdasarkan keadaan topografisnya, Provinsi

Sumatera Barat memiliki lahan dengan morfologi dataran, bergelombang dan perbukitan (Anonim^b, 2008). Berdasarkan letaknya, Provinsi Sumatera Barat mempunyai iklim tropis basah (Anonim^f, 2010).

Letak geografis dari Sulawesi Selatan adalah 8°-0°12' LS dan 116°48' - 122°36' BT (Anonim^d, 2010). Kota Palopo sebagai salah satu kota di Sulawesi Selatan secara garis besar memiliki keadaan topografis berupa dataran rendah sepanjang pantai, wilayah perbukitan bergelombang dan datar dan wilayah perbukitan dan pegunungan (Anonim^c, 2010). Curah hujan rata-rata Provinsi Sulawesi Selatan adalah 1.000-1.500 mm per tahun (Anonim^c, 2009).

Provinsi Jawa Tengah terletak pada 8°30'-5°40' LS 108°30'-111°30' BT. Kondisi wilayah Jawa Tengah berupa dataran rendah, pegunungan, dan perbukitan. Jawa Tengah memiliki iklim tropis dengan curah hujan tahunan rata-rata 2.000 meter, dan suhu rata-rata 21-32°C (Anonim^a, 2010).

e. Minyak atsiri bunga cengkeh

Tanaman cengkeh memiliki kandungan minyak atsiri dengan jumlah cukup besar, baik dalam bunga (10-20%), tangkai (5-10%) maupun daun (1-4%) (Nurdjannah, 2004). Bagian bunga mengandung *fixed oil* (lemak), resin, tanin, protein, selulosa, pentosan dan mineral dengan minyak atsiri sebagai komponen yang paling banyak (Purseglove *et al.*, 1981 *cit* Nurdjannah, 2004). Kandungan utama minyak atsiri bunga cengkeh adalah eugenol (70-80%) (Nurdjannah, 2004).

Kualitas minyak cengkeh dievaluasi dari kandungan fenol, terutama eugenol (Guenther, 1990). Kadar eugenol minyak atsiri kuncup bunga relatif lebih tinggi daripada tangkai bunganya (Sudarsono dkk., 2002). Besarnya komponen

kimia minyak atsiri cengkeh dapat berbeda tergantung pada faktor iklim, musim, lokasi geografis, geologi, bagian tanaman dan metode yang digunakan untuk memperoleh minyak atsiri (Viuda *et al.*, 2007). Menurut Nurdjannah (2004), rendemen dan mutu minyak juga dipengaruhi oleh mutu bahan dan penanganan bahan sebelum penyulingan. Standar mutu minyak atsiri bunga cengkeh menurut Standar Nasional Indonesia (SNI): 06-4267-1996 meliputi aspek warna, bobot jenis, indeks bias, putaran optik, kelarutan dalam etanol, dan kandungan eugenol (Tabel 1).

Tabel 1. Standar Mutu Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Menurut SNI: 06- 4267-1996

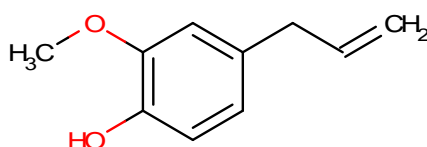
Parameter mutu minyak atsiri bunga cengkeh	Karakteristik
Warna	Tak berwarna hingga kuning muda
Bobot jenis (25°C)	1,030- 1,060
Indeks bias (25°C)	1,527-1,535
Putaran optic	0°-1°35'
Kelarutan (dalam etanol)	1 : 2
Eugenol total (b/b)	80-95 %

Sumber: Armando, 2009

Minyak atsiri cengkeh memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Campylobacter jejuni*, *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* (Burt and Reinders, 2003; Feres *et al.*, 2005; Larhsini *et al.*, 2001; Cressy *et al.*, 2003; Friedman *et al.*, 2002 *cit* Chaieb *et al.*, 2007). Ekstrak *Syzygium aromaticum* terbukti pula aktif secara kuat dalam menghambat replikasi virus hepatitis C (HCV) melalui metode *in vitro* (Hussein *et al.*, 2000). *Syzygium aromaticum* (L.) menunjukkan aktivitas antioksidan terhadap kondisi hiperlipidemia pada tikus (Shyamala *et al.*, 2003).

f. Eugenol dalam minyak cengkeh

Eugenol (Gambar 1) merupakan suatu metoksifenol dengan rantai hidrokarbon pendek (Anonim^a, 2004). Eugenol mempunyai nama lain 1-allil-3-metoksi-4-hidroksi benzena atau 1-(3-metoksi-4-hidroksi-benzena)-1-propena. Eugenol mengandung beberapa gugus fungsional yaitu allil, fenol, dan eter (Busroni, 2000). Eugenol sedikit larut dalam air namun mudah larut pada pelarut organik. Warnanya bening hingga kuning pucat, kental seperti minyak (Anonim^a, 2009).



Gambar 1. Struktur Kimia Eugenol

Eugenol digunakan oleh dokter gigi untuk meredakan gangguan syaraf akibat kerusakan bagian dalam gigi (Cai and Wu, 1996 *cit* Alma *et al.*, 2007). Eugenol dalam minyak cengkeh juga merupakan konstituen yang paling aktif terhadap *T. mentagrophytes* dan *M. canis* penyebab *dermatophytes* (Park *et al.*, 2007). Eugenol menunjukkan aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* dengan metode uji *Semisolid Agar Antifungal Susceptibility (SAAS)*. Eugenol juga memiliki aktivitas biologis antioksidan (Ogata *et al.*, 2000 *cit* Chaieb *et al.*, 2007). Turunan eugenol digunakan dalam pembuatan parfum dan perasa. Senyawa tersebut juga digunakan dalam formulasi produk penarik serangga, penyerap UV, analgesik, antiseptik dan juga sebagai *stabilizer* dalam industri plastik (Lee and Shibamoto, 2001 *cit* Alma *et al.*, 2007).

2. Metode isolasi minyak atsiri

Metode destilasi merupakan metode yang paling lazim untuk mengisolasi minyak atsiri disamping metode penyarian dengan pelarut yang cocok, pengepresan dan *enfleurage* (Gunawan dan Mulyani, 2004). Metode destilasi yang paling sederhana untuk mendapatkan minyak cengkeh adalah metode destilasi uap dan air. Metode ini digunakan untuk minyak-minyak yang dapat rusak akibat panas kering. Sistem ini lebih unggul dibandingkan dengan metode destilasi air karena proses dekomposisi minyak lebih kecil misalnya dikarenakan reaksi hidrolisis. Kerusakan minyak juga lebih kecil dibandingkan dengan minyak yang diperoleh dari hasil destilasi uap langsung karena suhu penyulingan tidak akan melebihi suhu uap jenuh pada tekanan 1 atmosfer (pada tekanan atmosfer, suhu uap tidak pernah lebih dari 100°C) sehingga dapat mencegah bahan yang disuling menjadi gosong. Keuntungan menggunakan sistem ini adalah uap mampu berpenetrasi secara merata ke dalam jaringan bahan. Namun, sistem ini membutuhkan uap dalam jumlah besar dan waktu penyulingan yang lebih lama (Ketaren, 1985).

Proses pengolahan minyak atsiri dengan metode penyulingan uap dan air meliputi tahapan persiapan bahan dan tahap penyulingan. Tahap penyulingan yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Bahan tanaman dimasukkan dalam ketel suling sesuai dengan kapasitas suling.
- b. Bahan dalam ketel suling dipanasi dengan uap yang basah sehingga memanasi sel atau kantung kelenjar yang berisi minyak.

- c. Uap yang telah memasuki seluruh bahan akan keluar melalui leher ketel suling menuju kondensor atau pendingin.
- d. Uap yang terdiri air dan minyak akan diembunkan di dalam kondensor menjadi fase cair/destilat.
- e. Destilat akan tertampung dalam wadah pemisah air dan minyak. Perbedaan berat jenis menyebabkan minyak dan air terpisah (Guenther, 1987). Proses pemisahan minyak dan air terdapat 2 kemungkinan, yaitu lapisan minyak diatas lapisan air atau sebaliknya. Jika berat jenis minyak lebih besar dari 1 (lebih besar dari berat jenis air) maka minyak berada dibawah lapisan air (Ketaren, 1985).
- f. Proses penyulingan selesai ketika destilat yang ditampung tidak menghasilkan minyak lagi (Guenther, 1987).

3. Analisis sifat fisik minyak atsiri

Pemeriksaan sifat fisik minyak atsiri berupa pemeriksaan pendahuluan, bobot jenis dan indeks bias. Pemeriksaan pendahuluan meliputi pemeriksaan warna, kejernihan, dan bau. Minyak atsiri cengkeh yang baru disuling memiliki bau dan rasanya bersifat tipikal rempah, aromatik tinggi, kuat, dan tahan lama (Guenther, 1990). Analisis kemurnian dan mutu minyak dapat digambarkan melalui pemeriksaan bobot jenis dan pemeriksaan indeks bias (Ketaren, 1985).

4. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)

Komposisi kimia minyak atsiri bunga cengkeh dapat dianalisa dengan metode *GC-MS* (Alma *et al.*, 2007). *GC-MS* merupakan teknik analisis terbaik untuk mengidentifikasi konstituen bahan menguap, *long chain*, rantai cabang

hidrokarbon, asam alkohol, dan ester (Ruikar *et al.*, 2009). Senyawa-senyawa yang dapat ditetapkan dengan kromatografi gas sangat banyak namun memiliki keterbatasan. Senyawa tersebut harus mudah menguap dan stabil pada temperatur pengujian, utamanya pada 50-300°C (Mardoni, 2007).

Metode *GC-MS* memiliki sensitivitas yang tinggi dan berperan dalam analisis secara kuantitatif maupun kualitatif senyawa menguap (Kaluzna, 2007). *GC-MS* merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan campuran yang rumit dan menghasilkan data mengenai struktur serta identitas senyawa organik. Efek penguapan dapat dihindari bahkan dihilangkan sama sekali dengan penggunaan *GC* (Agusta, 2000).

GC-MS merupakan gabungan dua buah alat yaitu kromatografi gas dan spektrometri massa. *GC-MS* ini digunakan untuk mendeteksi massa antara m/z 10 hingga m/z 700 (Hartomo dan Purba, 1986 *cit* Yasmien *et al.*, 2008). Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel (Agusta, 2000). Prinsip kerja dari kromatografi gas terkait dengan titik didih senyawa yang dianalisis dan perbedaan interaksi analit dengan fase diam dan fase gerak. Senyawa yang mendidih pada temperatur yang lebih tinggi daripada temperatur kolom, menghabiskan hampir seluruh waktunya untuk berkondensasi sebagai cairan pada awal kolom. Senyawa dengan titik didih yang tinggi memiliki waktu retensi yang lama. Senyawa yang lebih terikat dalam fase cair pada permukaan fase diam juga memiliki waktu retensi yang lebih lama (Clark, 2007). Spektrometri massa berfungsi untuk mendeteksi masing-masing

molekul komponen yang telah dipisahkan pada sistem kromatografi gas (Agusta, 2000). Prinsip kerja spektrometri massa adalah menembak bahan yang sedang dianalisis dengan berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu spektrum fragmen ion positif. Fragmen-fragmen tersebut berkelompok sesuai dengan massanya (Hartomo dan Purba, 1986 *cit* Yasmien *et al.*, 2008).

Beberapa unsur penting yang harus diperhatikan dalam sistem *GC-MS* adalah:

a. Gas pembawa

Gas pembawa yang dipakai adalah helium (He), argon (Ar), nitrogen (N₂), hidrogen (H₂), dan karbon dioksida (CO₂). Gas pembawa harus memenuhi sejumlah persyaratan, antara lain harus inert (tidak bereaksi dengan sampel, pelarut sampel, material dalam kolom), murni, dan mudah diperoleh (Agusta, 2000). Gas pembawa He (helium) paling umum digunakan karena ringan, relatif mudah dihilangkan dengan sistem pompa hampa. Helium mempunyai kelebihan lain yaitu potensial pengionannya tinggi (24,6 eV) pada kondisi pengaruh elektron, sehingga sumber ion spektrometer massa dapat dijalankan pada potensial yang lebih rendah (20-24 eV), tanpa mengionkan gas pembawa (Munson, 1991).

b. Kolom

Ada dua macam kolom, yaitu kolom kemas dan kolom kapiler. Kolom kemas adalah pipa yang terbuat dari logam, kaca, plastik yang berisi penyangga padat yang inert sedangkan pada kolom kapiler terdapat rongga pada bagian dalam kolom yang menyerupai pipa. Daya tarik yang paling diminati dari kolom kapiler ini adalah kehebatan daya pisahnya (Agusta, 2000).

Kolom kapiler dibedakan menjadi 4 tipe yang didasarkan pada diameter sebelah dalamnya, yaitu *narrow bore* (Ø 0,1 mm), *middle bore* (Ø 0,22-0,25 mm), *semi wide bore* (Ø 0,32 mm), dan *wide bore* (Ø 0,50-0,53 mm). Berdasarkan pengalaman di laboratorium, analisis komponen minyak atsiri lebih disarankan menggunakan kolom kapiler *middle bore* sampai *semi wide bore* agar diperoleh hasil analisis yang memiliki daya pisah tinggi dan sekaligus memiliki sensitivitas yang tinggi pula (Agusta, 2000).

Berdasarkan sifat minyak atsiri yang nonpolar sampai sedikit polar, untuk keperluan analisis sebaiknya digunakan kolom dengan fase diam yang bersifat sedikit polar. Penggunaan kolom yang lebih polar menghasilkan sejumlah puncak yang lebar (tidak tajam) dan sebagian puncak tersebut juga membentuk ekor bahkan kemungkinan besar komponen yang bersifat nonpolar tidak akan terdeteksi sama sekali (Agusta, 2000). Fase diam lain yang biasa digunakan adalah RxiTM-1ms. Kolom RxiTM-1ms merupakan kolom *dimethyl polysiloxane* yang bersifat nonpolar. Kolom ini secara umum dapat ditujukan untuk analisis minyak atsiri, obat, senyawa hidrokarbon, pestisida, dan lain-lain (Anonim, 2007).

c. Suhu

Suhu merupakan salah satu faktor utama penentu hasil analisis kromatografi gas dan spektrometri massa. Parameter yang sangat menentukan adalah pengaturan suhu injektor dan kolom (Agusta, 2000). Minyak atsiri didominasi oleh senyawa monoterpena dan fenol sederhana. Hasil pemisahan dapat memuaskan jika suhu kolom diprogram mulai dari 40 atau 50°C sampai 150

atau 200°C dengan kecepatan kenaikan suhu 2-4°C/menit, sedangkan suhu injektor dapat diprogram antara 150 dan 200°C (Agusta, 2000).

d. Sistem injeksi

GC-MS memiliki dua sistem pemasukan sampel, yaitu secara langsung (*direct inlet*) dan melalui sistem kromatografi gas (*indirect inlet*). Sampel campuran seperti minyak atsiri, pemasukan sampel harus melalui sistem *GC*, sedangkan untuk sampel murni dapat langsung dimasukkan kedalam ruang pengion (*direct inlet*) (Agusta, 2000).

e. Detektor

Spektrometer massa pada sistem *GC-MS* berfungsi sebagai detektor itu sendiri yang terdiri dari sistem ionisasi dan sistem analisis. *Electron Impact (EI) ionization* adalah metode ionisasi yang umum digunakan untuk analisis spektrometer massa (Agusta, 2000).

Detektor lain dalam sistem *GC* adalah *Flame Ionization Detektor (FID)*. *FID* merupakan detektor non spesifik (Martono, 2008) dan kurang sensitif dibandingkan dengan *MS* (Lehrle *et al.*, 1999). Hasil penelitian Lehrle *et al* (1999) menunjukkan *MS* mampu meningkatkan respon *peak* secara signifikan dibandingkan dengan *FID* (Lehrle *et al.*, 1999). *FID* memberikan tanggapan terhadap sebagian besar senyawa kecuali air, senyawa anorganik dan beberapa senyawa organik tertentu seperti karbon disulfida (Munson, 1981). Detektor *MS* sangat spesifik terutama untuk konfirmasi mutlak terhadap keberadaan suatu senyawa (Martono, 2008). Kedua detektor ini merupakan detektor yang destruktif.

FID bekerja berdasarkan pada pembakaran rantai karbon (Munson, 1991) dan *MS* bekerja dengan menembak bahan yang dianalisis dengan berkas elektron berenergi tinggi (Hartomo dan Purba, 1986 *cit* Yasmien *et al.*, 2008).

f. Sistem pengolahan data dan identifikasi senyawa

Analisis *GC-MS* memberikan dua informasi dasar yaitu hasil analisis kromatografi gas dalam bentuk kromatogram dan hasil analisis spektrometri massa dalam bentuk spektrum massa. Kromatogram menunjukkan jumlah komponen kimia dalam campuran yang dianalisis dan spektrum massa menunjukkan jenis dan jumlah fragmen molekul yang terbentuk dari suatu komponen kimia (Agusta, 2000).

E. Keterangan Empiris

Penelitian ini memberikan informasi mengenai kualitas minyak atsiri bunga cengkeh yang paling baik di beberapa daerah sentra penghasil di Indonesia ditinjau dari kandungan eugenolnya.