

PERBANDINGAN VARIABEL PADA ISOLASI DAN PEMURNIAN EUGENOL DARI MINYAK DAUN CENGKEH

Nyoman Fitri, J.A. Kawira*

Abstrak

Tanaman cengkeh (Eugenia aromatica O.K.) termasuk dalam familia Myrtaceae, tersebar luas di Indonesia, Malaysia, Pulau Madagaskar dan Tanzania. Tanaman ini mengandung minyak atsiri yang banyak dipakai untuk bahan baku eugenol dan pembuatan vanilin. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh suatu prosedur isolasi eugenol dari minyak daun cengkeh yang lebih efisien dengan membandingkan beberapa variabel, yaitu pendiaman setelah pengocokan dengan natrium hidroksida selama 19 dan 24 jam (variabel 1) dan perbandingan fase air: n-heksana yang digunakan dalam pencucian yaitu 1:1; 1:1; 1:1; dan 1: 1; 1: ½ ; 1: ½ (variabel 2); melakukan pemurnian terhadap eugenol yang diperoleh dari hasil isolasi tersebut dengan cara destilasi sederhana bervakum; dan membandingkan eugenol yang diperoleh dari hasil pemurnian tersebut dengan sediaan eugenol yang diperoleh dari perdagangan yaitu eugenol A (lokal) dan eugenol B (impor) dengan cara menggunakan kromatografi gas. Hasil yang diperoleh dari peragaman variabel menurut uji statistik, yaitu terdapat perbedaan bermakna dari rendemen hasil isolasi yang disebabkan oleh perbedaan lama pendiaman setelah pengocokan dengan natrium hidroksida dan perbedaan banyaknya n-heksana yang digunakan dalam pencucian. Artinya pemilihan variabel 19 jam untuk pendiaman setelah pengocokan dan pencucian dengan memakai rasio 1:1; 1:½ ; 1:½ akan lebih efisien. Proses pemurnian lebih lanjut dari eugenol hasil isolasi dilakukan dengan cara destilasi sederhana dengan vakum. Eugenol yang didapat mempunyai warna yang lebih baik yaitu kuning pucat, dan kemurniannya juga lebih tinggi daripada eugenol hasil isolasi dan telah menyamai sediaan eugenol dalam perdagangan.

Kata kunci: oils, plants, medicinal, eugenol

Pendahuluan

Tanaman cengkeh (*Eugenia aromatica* O.K.) termasuk dalam familia *Myrtaceae*, tersebar luas di Indonesia, Malaysia, Pulau Madagaskar dan Tanzania. Tanaman cengkeh mempunyai sifat yang khas karena semua bagian tanaman mengandung minyak, mulai dari dahan, ranting, sampai kepada bunga dan daun. Kadar minyak cengkeh pada bagian-bagian tersebut bervariasi, namun paling tinggi terdapat pada bagian bunga.¹

Komponen utama minyak cengkeh adalah eugenol, eugenol asetat dan kariofilen.² Penggunaannya cukup luas dalam industri makanan, farmasi, antara lain sebagai pengawet makanan, pewangi sabun dan obat analgesik gigi.^{3,4,5} Sebagai sumber eugenol minyak bunga dan tangkai bunga cengkeh terhitung mahal, maka industriawan

cenderung menggunakan minyak daun cengkeh sebagai penggantinya.

Saat ini sediaan eugenol untuk pengobatan gigi tersedia dalam perdagangan, baik itu produk lokal maupun produk impor dengan harga jual yang bervariasi. Saat ini produk lokal sedikit ditemui, sehingga konsumen lebih banyak menggunakan produk impor.

Pada penelitian ini dilakukan pengujian suatu prosedur isolasi eugenol yang telah diketahui dari penelitian sebelumnya dengan mengganti variabel untuk mendapatkan yang lebih efisien, artinya dengan mengganti variabel tertentu maka akan diperoleh penghematan biaya maupun waktu pelaksanaan dengan mutu yang sama atau lebih baik. Variabel yang digunakan yaitu pendiaman setelah pengocokan dengan natrium hidroksida selama 19 dan 24 jam (variabel 1) dan perbandingan fase air: n-heksana yang diguna-

* Puslitbang Biomedis dan Farmasi

kan dalam pencucian yaitu 1:1; 1:1; 1:1; dan 1:1; 1:½ ; 1:½ (variabel 2). Setelah itu dilakukan pemurnian terhadap eugenol yang diperoleh dari hasil isolasi tersebut dengan cara destilasi sederhana bervakum dan membandingkan eugenol yang diperoleh dari hasil pemurnian tersebut dengan sediaan eugenol yang diperoleh dari perdagangan yaitu eugenol A (lokal) dan eugenol B (impor) dengan cara analisis kromatografi gas.

Bahan dan Cara Kerja

Bahan Uji

Minyak daun cengkeh yang diperoleh dari perdagangan; sediaan eugenol untuk pengobatan gigi yang diperoleh dari perdagangan, yaitu eugenol A (lokal) dan eugenol B (impor) sebagai bahan pembanding, dan eugenol standar.

Pelarut dan Perekasi

Natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl), natrium sulfat anhidrat (Na₂SO₄), etanol absolut p.a., n-heksana teknis, salisaldehid standar.

Alat

Timbangan analitik, shaker, pengaduk ultrasonik, alat destilasi sederhana dengan vakum, alat kromatografi gas, detektor ionisasi nyala, penangas air, refraktometer, piknometer, dan alat-alat gelas.

Cara Kerja

Penelitian dibagi dalam 4 tahap :

1. Isolasi eugenol dari minyak daun cengkeh

Sebanyak 80 ml minyak cengkeh ditambah larutan NaOH 4% dengan perbandingan 1:5. Lalu dilakukan pengocokan dengan kecepatan 100 rpm selama 3 jam, kemudian diamkan (variabel 1). Campuran pisahkan dengan corong pisah, dan diambil lapisan eugenol yang larut dalam NaOH. Larutan kemudian dicuci dengan n-heksana teknis 3 kali (variabel 2). Lapisan eugenol

yang tidak larut dalam n-heksana dipisahkan, kemudian ditambah HCl 3% dengan perbandingan 1:2, lalu didiamkan selama 24 jam. Selanjutnya lapisan eugenol dipisahkan dengan corong pisah dan dicuci dengan aquadestilata, lalu ditambahkan Na₂SO₄ anhidrat dan didekantasi.

2. Pemurnian eugenol hasil isolasi

Tiap 40 ml sampel eugenol hasil isolasi kemudian dimurnikan lagi dengan cara destilasi sederhana bervakum. Cairan kuning pucat yang terdapat pada labu penampung kemudian diukur volumenya. Rendemen eugenol murni ditentukan dengan membandingkan volume eugenol yang diperoleh dengan volume eugenol mula-mula (% v/v). Eugenol yang diperoleh diuji bobot jenis dan indeks biasnya,

3. Uji sifat fisika

Uji ini terdiri dari pemeriksaan warna dan bau, pemeriksaan bobot jenis serta pemeriksaan indeks biasnya. Uji ini dilakukan terhadap minyak daun cengkeh, masing-masing sampel hasil isolasi dan eugenol hasil pemurnian, serta eugenol A dan eugenol B.

4. Analisis secara kromatografi gas

Analisis ini dilakukan terhadap minyak daun cengkeh, masing-masing sampel hasil isolasi dan eugenol hasil pemurnian, serta eugenol A dan eugenol B.

Hasil Percobaan

1. Isolasi eugenol dari minyak daun cengkeh

Berdasarkan perhitungan statistik ditunjukkan bahwa adanya perbedaan pada minyak asal, perbedaan pada lama pendiaman setelah pengocokan dengan natrium hidroksida, dan perbedaan pada banyaknya n-heksana yang digunakan mempengaruhi hasil rendemen. Hasil isolasi tersebut dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 1. Variasi Perlakuan Saat Isolasi

No.	Sampel	Variasi Perlakuan Saat Isolasi	
		Lama Pendiaman setelah Pengocokan dengan NaOH 4% (jam)	Rasio Fase Air: n-heksana yang Digunakan untuk Pencucian
1.	Minyak daun cengkeh (D1)	24	1:1, 1:1, 1:1
2.	Minyak daun cengkeh (D2)	19	1:1, 1:1, 1:1
3.	Minyak daun cengkeh (D3)	24	1:1, 1:½, 1:½
4.	Minyak daun cengkeh (D4)	19	1:1, 1:½, 1:½

Tabel 2. Rendemen Eugenol Hasil Isolasi

Sampel	Volume Awal (ml)	Volume Akhir (ml)	Rendemen (%)
Eugenol 1 (ED1)	80,0	52,7	65,9
Eugenol 2 (ED2)	80,0	54,1	67,6
Eugenol 3 (ED3)	80,0	53,7	67,1
Eugenol 4 (ED4)	80,0	56,5	70,6

Tabel 3. Rendemen Eugenol Hasil Pemurnian

Sampel	Volume Awal (ml)	Volume Akhir (ml)	Rendemen (%)
Eugenol 'D1 (E'D1)	40,0	13,2	33,0
Eugenol 'D2 (E'D2)	40,0	13,0	32,5
Eugenol 'D3 (E'D3)	40,0	13,3	33,2
Eugenol 'D4 (E'D4)	40,0	15,0	37,5

Tabel 4. Hasil Uji Sifat Fisik Minyak Daun Cengkeh, Eugenol Hasil Isolasi dan Hasil Pemurnian, serta Eugenol dalam Perdagangan

Sampel	Bobot Jenis (25°) (g/ml)	Indeks Bias (20° C)
MDC	1,0383 ± 0,0009	1,5326
ED1	1,0762 ± 0,0001	1,5406
ED2	1,0764 ± 0,0009	1,5406
ED3	1,0761 ± 0,0009	1,5406
ED4	1,0762 ± 0,0011	1,5403
E'D1	1,0656 ± 0,0001	1,5406
E'D2	1,0675 ± 0,0047	1,5401
E'D3	1,0653 ± 0,0002	1,5401
E'D4	1,0664 ± 0,0046	1,5404
Eugenol A	1,0669 ± 0,0020	1,5402
Eugenol B	1,0668 ± 0,0035	1,5401

2. Pemurnian eugenol hasil isolasi
 Pemurnian terhadap eugenol hasil isolasi dilakukan dengan cara destilasi sederhana dengan vakum. Dari proses destilasi yang dilakukan terhadap eugenol yang didapat dari proses isolasi dengan beberapa variabel tersebut didapat eugenol yang mempunyai warna

yang lebih pucat dari sebelumnya, tetapi rendemen yang didapat terlalu rendah. Hasil dari proses pemurnian ini dapat dilihat pada tabel 3.

3. Uji sifat fisik
 Minyak daun cengkeh berwarna coklat kehitaman, eugenol hasil isolasi berwarna coklat

kehitaman dan eugenol hasil pemurnian seluruhnya berwarna kuning pucat. Sedangkan sediaan eugenol dalam perdagangan berwarna kuning pucat (eugenol A) dan kuning kecoklatan (eugenol B). Bau yang dimiliki oleh semua bahan tersebut adalah bau khas cengkeh.

Pada pengujian bobot jenis, didapat hasil untuk eugenol hasil isolasi lebih besar dari range syarat mutu yang telah ditetapkan di Indonesia, sedangkan minyak daun dan eugenol hasil pemurnian telah memenuhi syarat mutu Indonesia, yaitu antara 1,527– 1,541 untuk minyak daun, 1,540–1,542 untuk eugenol. Hasil uji sifat fisik ini dapat dilihat pada tabel 4.

4. Analisis secara kromatografi gas

Dari seluruh sampel yang diperiksa, eugenol hasil isolasi belum dapat menyamai sediaan eugenol dalam perdagangan, yaitu kemurnian 95,38% b/b (eugenol A) dan 97,50% b/b (eugenol B). Tetapi untuk eugenol hasil pemurnian telah dapat menyamai kadar sediaan eugenol dalam perdagangan. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.

Pembahasan

Pada penelitian ini dilakukan perbandingan variabel untuk memperoleh prosedur isolasi yang

lebih efisien daripada prosedur isolasi yang telah diketahui sebelumnya. Variabel yang dipilih disini yaitu:

- (1) Lama pendiaman setelah pengocokan dengan natrium hidroksida. Pada prosedur awal digunakan waktu selama 24 jam, dan disini sebagai pembanding dipakai waktu selama 19 jam. Pemilihan 19 jam berdasarkan waktu minimal yang dapat dicapai saat pelaksanaan isolasi tersebut.
- (2) Rasio banyaknya n-heksana yang digunakan untuk pencucian. Pada prosedur awal digunakan rasio fase air: n-heksana adalah 1:1; 1:1; 1:1. Dan disini sebagai pembanding dipakai rasio fase air: n-heksana adalah 1:1; 1:½; 1:½. Tetap dipakai 3 kali pencucian karena jumlah pencucian sangat berpengaruh, dimana semakin banyak jumlah pencucian akan semakin baik. Pada pencucian pertama digunakan rasio 1:1 karena pada pencucian pertamalah dimana pengotor terdapat paling banyak dalam isolat. Pada pencucian kedua dan ketiga, rasio yang dipakai 1:½; 1:½ karena telah dianggap cukup baik untuk pencucian dan cukup menghemat bahan pencuci yaitu n-heksana.

Proses pemisahan eugenol dari minyak daun cengkeh dilakukan secara kimia, yaitu dengan penambahan natrium hidroksida 4% kedalam minyak dan diaduk selama 3 jam dengan kecepatan

Tabel 5. Hasil Penetapan Kemurnian Sampel

Sampel	% b/v sampel diinjeksi	% b/v eugenol didapat	% b/b kemurnian
MDC	1,083	0,860	79,41
ED1	1,087	0,977	89,85
ED2	1,107	0,999	90,31
ED3	1,018	0,918	90,13
ED4	0,977	0,885	90,59
E'D1	1,166	1,122	96,20
E'D2	1,213	1,155	95,19
E'D3	1,099	1,052	95,70
E'D4	1,148	1,104	96,17
EA	1,009	0,962	95,38
EB	1,033	1,007	97,50

an 100 rpm. Larutan tersebut kemudian didiamkan selama 19 atau 24 jam. Basa akan bereaksi dengan fenol membentuk garamnya (Na-fenolat). Lapisan non fenol yang tidak larut dalam natrium hidroksida dipisahkan dengan corong pisah. Setelah itu bagian fenol yang larut, termasuk juga eugenol, dicuci dengan n-heksana teknis. Pencucian ini dimaksudkan untuk menarik pengotor-pengotor yang mungkin ada atau terbawa saat pemisahan berlangsung. Perbandingan eugenol dengan n-heksana teknis yang digunakan adalah 1:1 dengan 3 kali pencucian untuk sampel D1 dan D2 atau 1:1; 1:½; 1:½ untuk sampel D3 dan D4.

Untuk membebaskan fenol dari bentuk garamnya ditambah HCl 3%, yang kemudian akan membentuk dua lapisan, yaitu lapisan fenol, yang sebagian besar kandungannya adalah eugenol, dan larutan NaCl. Selanjutnya bagian fenol dan larutan NaCl dipisahkan dengan corong pisah. Penambahan air pada eugenol setelah dipisah untuk mengurangi sisa asam yang ada. Selanjutnya penambahan Na₂SO₄ anhidrat akan mengikat sisa air dari bagian eugenol.

Dari eugenol hasil isolasi ini, ditunjukkan bahwa rendemen eugenol berbeda secara bermakna dengan adanya perbedaan pada metode isolasi yang digunakan, yaitu perbedaan lama pendiaman setelah pengocokan dengan natrium hidroksida, dan perbedaan banyaknya n-heksana yang digunakan. Artinya semua perbedaan itu mempengaruhi rendemen hasil isolasi, dimana pemilihan variabel 19 jam untuk pendiaman setelah pengocokan dan pencucian dengan memakai rasio 1:1; 1:½; 1:½ menjadi lebih efisien.

Pada uji sifat fisik terlihat bahwa bobot jenis eugenol hasil isolasi lebih besar dari *range* syarat mutu Indonesia, sedangkan minyak daun cengkeh dan eugenol hasil pemurnian telah memenuhi syarat mutu Indonesia. Eugenol hasil isolasi mempunyai bobot jenis yang lebih besar daripada eugenol hasil pemurnian. Hal ini dapat disebabkan karena adanya komponen lain yang mempunyai bobot jenis lebih besar dari eugenol. Pada uji indeks bias diperoleh hasil semua sampel telah memenuhi syarat mutu di Indonesia. Pada uji bobot jenis maupun indeks bias terhadap sediaan eugenol A dan B, keduanya telah memenuhi syarat mutu tersebut.

Syarat mutu dari minyak cengkeh yang diakui di Indonesia itu didasarkan pada Standar Nasional Indonesia (SNI). Karakteristik bobot jenis minyak cengkeh pada suhu 25°C yaitu 1,03–

1,06, untuk indeks biasanya pada suhu 20°C adalah 1,527–1,541, dan kadar eugenol yang dikandungnya sebesar 78-93% (v/v).

Sedangkan syarat mutu eugenol yaitu bobot jenisnya pada suhu 25°C adalah 1,064–1,070, untuk indeks biasanya pada suhu 20°C adalah 1,540–1,542, dan kemurnian minimalnya adalah 95%.

Setelah proses isolasi, eugenol yang didapat kemudian didestilasi untuk mendapatkan eugenol yang lebih murni. Proses ini dilakukan dengan cara destilasi sederhana dengan vakum. Eugenol hasil isolasi dimasukkan ke dalam labu destilasi, kemudian dipanaskan. Eugenol akan menguap, melewati pendingin, mengembun dan turun ke dalam labu penampung. Vakum yang digunakan dihubungkan pada labu penampung. Vakum ini akan menurunkan tekanan udara dalam labu destilasi, akibatnya titik didih eugenol akan menurun sehingga proses destilasi akan lebih cepat dan mencegah kerusakan bahan lebih lanjut karena pemanasan yang terlalu tinggi.

Dari 40,0 ml eugenol yang didestilasi, didapat rendemen eugenol murni yang dianggap terlalu rendah, yaitu antara 32–37,75 %. Artinya proses destilasi ini tidak efektif dilakukan untuk memproduksi suatu sediaan eugenol murni. Tidak baiknya metode pada proses ini juga ditunjukkan oleh sisa yang dihasilkan pada proses pemurnian ini yang berupa cairan kental berwarna hitam. Cairan kental ini dapat disebabkan karena kerusakan eugenol hasil isolasi oleh pemanasan tinggi dalam waktu yang lama saat proses pemurnian berlangsung.

Pada penelitian ini penetapan kadar eugenol dilakukan dengan metode kromatografi gas (KG), karena analisis dengan KG praktis, cepat dan hasilnya akurat. Untuk analisis ini digunakan kolom kapiler DB-Wax (Carbowax) yang bersifat polar yang tersusun atas komponen-komponen polietilen glikol (PEG), yang dapat memisahkan campuran senyawa-senyawa polar dan non polar dalam suatu cuplikan dengan menahan komponen-komponen polar. Detektor yang digunakan, FID (*Flame Ionization Detector*) merupakan detektor untuk analisis zat yang bersifat umum karena memberikan respon pada hampir semua senyawa.

Dari pemeriksaan kadar eugenol dalam minyak daun dan didapat kadar eugenol telah memenuhi syarat mutu SNI yaitu sebesar 79,41% b/b. Sedangkan dari seluruh sampel yang diperik-

sa, didapat kadar eugenol yang terkandung dalam sampel hasil isolasi yaitu sebesar 89,85–90,59% b/b untuk hasil isolasi dari minyak daun belum menyamai kemurnian sediaan eugenol untuk pengobatan gigi, yaitu 95,38% b/b (eugenol A) dan 97,50% b/b (eugenol B). Hal ini karena pada proses isolasi bukan hanya eugenol saja yang tertarik, tetapi ada juga fenol-fenol lain. Tetapi pada sampel hasil pemurnian, kadar eugenol yang terkandung telah menyamai sediaan eugenol dalam perdagangan, yaitu antara 95, 19–96, 20% b/b. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada tabel 5.

Dari percobaan ini didapatkan kadar eugenol dalam sampel hasil isolasi dipengaruhi oleh perbedaan lama pendiaman setelah pengocokan dengan natrium hidroksida, tetapi tidak dipengaruhi oleh perbedaan banyaknya n-heksana yang digunakan, karena pada pemilihan banyaknya n-heksana yang digunakan 1:1; 1:½; 1:½ perbedaan hasil rendemen eugenol yang didapat tidak berbeda secara bermakna. Artinya pemilih-

an perbandingan 1:1; 1:½; 1:½ akan lebih ekonomis. Jadi pemilihan 19 jam dan pemilihan banyaknya n-heksana yang digunakan 1:1; 1:½; 1:½ dinilai lebih efisien.

Daftar Pustaka

1. Ketaren, S. Pengantar Teknologi Minyak Atsiri. PN Balai Pustaka Jakarta; 1985. 239-253.
2. Guenther, E. Minyak Atsiri. Jilid IVB. terj.S. Ketaren. UI Press; 1990. 483, 489.
3. Kemala, S. Peran dan Prospek Cengkeh dalam Perekonomian Nasional. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor. 1995. 5-6.
4. Moestafa, A. Difersifikasi Penggunaan Cengkeh dan Hasil Ikutannya. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Industri Hasil Pertanian Bogor. 1994. 65-67.
5. Hidayat, T., Nurdjannah, N. Masalah dan Standar Mutu Cengkeh. Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat. Bogor. 1995. 3.