

**KARAKTERISASI SIFAT FISIK MINYAK *Eucalyptus* DARI
Eucalyptus grandis SECARA ENZIMATIS**

S K R I P S I

Oleh:

**ANANTA AKRAM
1504310026
TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**



UMSU

Unggul | Cerdas | Terpercaya

**FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SUMATERA UTARA
MEDAN
2019**

**KARAKTERISASI SIFAT FISIK MINYAK *Eucalyptus* DARI
Eucalyptus grandis SECARA ENZIMATIS**

SKRIPSI

Oleh :

**ANANTA AKRAM
1504310026
TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

**Disusun Sebagai Salah Satu Syarat untuk Menyelesaikan Studi Strata 1 (S1)
pada Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara**

**Disetujui Oleh :
Komisi Pembimbing**

Ketua Pembimbing



**Dr. Muhammad Taufik, M.Si.
Ketua**

Anggota Pembimbing



**Dr. Ir. Desi Ardilla, M. Si.
Anggota**

Disahkan Oleh :

Dekan



Ir, Asri Munar, M.P.

Tanggal Lulus: 07-10-2019

PERNYATAAN

Dengan ini saya :

Nama : ANANTA AKRAM
NPM : 1504310026

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi dengan judul berdasarkan hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari KARAKTERISASI SIFAT FISIK MINYAK *Eucalyptus* DARI *Eucalyptus grandis* SECARA ENZIMATIS adalah saya sendiri. Jika terdapat karya orang lain, saya akan mencantumkan sumber yang jelas.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila di kemudian hari ternyata ditemukan adanya penjiplakan (plagiarisme), maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh. Demikian pernyataan ini saya buat dalam keadaan sadar tanpa paksaan dari pihak manapun.

Medan, 07 Oktober 2019



Yang menyatakan

ANANTA AKRAM

RINGKASAN

Judul penelitian adalah “Karakterisasi Sifat Fisik Minyak *Eucalyptus* dari *Eucalyptus grandis* Secara Enzimatis”. Penelitian ini Dibimbing Langsung oleh Bapak Dr. Muhammad Taufik, M.Si, Selaku Ketua Komisi Pembimbing dan Ibu Dr.Ir. Desi Ardilla, M.Si, Selaku Anggota Pembimbing.

Tujuan penelitian adalah untuk mengetahui waktu maserasi dan ukuran partikel pada Karakterisasi Sifat Fisik Minyak *Eucalyptus* dari *Eucalyptus grandis* Secara Enzimatis yang dilihat dari sifat fisik minyak yang dihasilkan.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan 2 (dua) ulangan. Faktor 1 adalah ukuran partikel dengan simbol huruf (U) yang terdiri dari 4 taraf yaitu $U_1= 20$ mesh, $U_2= 40$ mesh, $U_3= 60$ mesh, $U_4= 80$ mesh. Faktor 2 adalah waktu maserasi dengan simbol huruf (M) yang terdiri dari 4 taraf yaitu $M_1= 2$ hari, $M_2= 3$ hari, $M_3= 4$ hari, $M_4= 5$ hari. Parameter yang diamati meliputi Rendemen, Bobot Jenis, Indeks Bias, dan Aroma.

Hasil analisa secara statistik pada masing-masing parameter memberikan kesimpulan sebagai berikut :

Rendemen

Ukuran partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p<0,01$) terhadap parameter rendemen minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*. Rendemen tertinggi berada pada perlakuan ukuran partikel 80 mesh (U_4) yakni sebesar 0,228 % dan nilai terendah berada pada perlakuan ukuran partikel 20 mesh (U_1) yakni sebesar 0,163 %. Perlakuan waktu maserasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p<0,01$) terhadap parameter rendemen. Nilai tertinggi berada pada

perlakuan waktu maserasi 4 hari (M_3) yakni sebesar 0,202 % dan nilai terendah berada pada perlakuan waktu maserasi 1 hari (M_1) yakni sebesar 0,142 %. Nilai rata-rata rendemen dari keseluruhan perlakuan yaitu sebesar 0,166 %

Bobot Jenis

Pada analisa minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*, Ukuran partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter bobot jenis minyak atsiri. Bobot jenis yang tertinggi berada pada perlakuan ukuran partikel 80 mesh (U_4) yakni sebesar 0,874 g/ml dan nilai terendah berada pada perlakuan ukuran partikel 20 mesh (U_1) yakni sebesar 0,869 g/ml. Pada perlakuan waktu maserasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter bobot jenis minyak atsiri. Bobot jenis tertinggi berada pada perlakuan waktu maserasi 5 hari (M_4) yakni sebesar 0,883 g/ml dan nilai terendah berada pada perlakuan waktu maserasi 2 hari (M_1) yakni sebesar 0,863 g/ml. Nilai rata-rata bobot jenis dari keseluruhan perlakuan yaitu sebesar 0,860 g/ml.

Indeks Bias

Pada analisa produk minyak atsiri dari daun *Eucalyptus grandis*, ukuran partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter indeks bias minyak atsiri. Indeks bias tertinggi berada pada perlakuan ukuran partikel 80 mesh (U_4) yakni sebesar 1,312 m/s dan nilai terendah berada pada perlakuan ukuran partikel 20 mesh (U_1) yakni sebesar 1,306 m/s. Perlakuan waktu maserasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter indeks bias. Nilai tertinggi berada pada waktu maserasi 5 hari (M_4) yakni sebesar 1,363 m/s dan nilai terendah berada pada perlakuan waktu

maserasi 2 hari (M_1) yakni sebesar 1,258 m/s. Nilai rata-rata indeks bias yaitu berkisar 1,3008 m/s.

Aroma

Pada analisa minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*, ukuran partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter aroma minyak atsiri. Aroma minyak atsiri yang disukai berada pada perlakuan ukuran partikel (U_4) yakni sebesar 3,488 dan yang terendah berada pada perlakuan ukuran partikel (U_1) yakni sebesar 3,263. Pada perlakuan waktu maserasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter aroma minyak atsiri. Aroma tertinggi pada perlakuan 5 hari (M_4) yakni sebesar 3,550 dan nilai terendah berada pada perlakuan waktu maserasi 2 hari (M_1) yakni sebesar 3,263. Nilai rata-rata aroma dari keseluruhan perlakuan yaitu sebesar 3,384.

RIWAYAT HIDUP

Ananta Akram, dilahirkan di medan ,kecamatan percut sei tuan, Kabupaten Deli serdang, Sumatera Utara, Pada Tanggal 7 juni 1997, anak pertama dari 2 bersaudara dari ayahanda Alm Andi Alamsyah dan Dr.Ir.Desi Ardilla M.Si

Adapun Pendidikan yang pernah ditempuh penulis adalah :

1. Sekolah Dasar Madrasah Ibtidaiyah Negeri Medan (MIN) Medan (Tahun 2004-2010).
2. Madrasah Tsanawiyah Negeri Medan 2 (MTsN2) Medan (Tahun 2010-2012).
3. Madrasah Aliyah Negeri Medan (MAN2) Medan (Tahun 2012-2015)
4. Diterima sebagai mahasiswa Fakultas Pertanian Progam Studi Teknologi Hasil Pertanian, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara pada tahun 2015.

Adapun kegiatan dan pengalaman penulis yang pernah diikuti selama menjadi mahasiswa antara lain :

1. Mengikuti Masa Pengenalan dan Penyambutan Mahasiswa Baru (MPMB)
2. Melaksanakan Praktik Kerja lapangan di PPKS
3. Mengikuti Proses KIAM dan Kompri
4. Mengikuti Kegiatan Futsal Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Penulis

Ananta Akram

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikumWr.Wb

Alhamdulillah segala puji bagi Allah yang telah memberikan kesehatan sehingga saya dapat membuat skripsi saya yang berjudul KARAKTERISASI SIFAT FISIK MINYAK *EUCALYPTUS* DARI *EUCALYPTUS grandis* SECARA ENZIMATIS.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan program studi S1 Jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak untuk itu penulis mengucapkan banyak terimakasih kepada:

1. Teristimewa kepada Ibunda yang telah banyak memberikan dukungan moril dan materil juga doa restu sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan sebaik mungkin.
2. Bapak Dr. Agussani M.AP, selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
3. Ibu Ir. Asritanarni M.P, selaku Dekan Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
4. Bapak Dr. Muhammad Taufik M.Si selaku ketua komisi Pembimbing yang telah membantu dan membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

5. Ibu Dr. Ir. Desi Ardilla M.Si , Selaku ketua Program Studi Teknologi Hasil Pertanian sekaligus Anggota komisi pembimbing yang telah membantu dan membimbing penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Dosen-dosen Teknologi Hasil Pertanian yang senantiasa memberikan ilmu dan nasihatnya kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini
7. Kepada seluruh Staf Biro dan Pegawai Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas muhammadiyah Sumatera Utara.
8. Kepada yang Terkasih Enisa cita Mentari Yang Telah Membantu Dalam pembuatan skripsi ini.
9. Para sahabat jurusan Teknologi Hasil Pertanian Angkatan 2015 yang telah membantu serta memberikan motivasi dan masukkan dalam menyelesaikan skripsi ini

Medan 20 Juli 2019,

penulis

DAFTAR TABEL

Sifat Kimia dan Fisika Struktur Seneol	12
Skala Uji Organoleptik	50
Uji Pengaruh Konsentrasi Terhadap Minyak Atsiri Eucaliptus	52
Uji Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Minyak Atsiri dari Eucaliptus	52
Uji pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Rendemen Minyak Atsiri dan Eucaliptus	53
Uji Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Minyak Atsiri dan Eucaliptus	56
Uji Pengaruh Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi Terhadap Rendemen Minyak Atsiri	58
Uji Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Bobot Jenis Minyak Atsiri	60
Uji Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Bobot Jenis Minyak Atsiri dari Eucaliptus	62
Uji Pengaruh Interaksi Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi Terhadap Bobot Jenis	64
Uji Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Index Bias Minyak Atsiri	66
Uji Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Index Bias Minyak Atsiri	68
Uji Pengaruh Waktu Maserasi Aroma Minyak Atsiri dan Eucaliptus	70
Uji Pengaruh Ukuran Partikel Aroma	72

DAFTAR GAMBAR

Gambar Pohon Eucaliptus Grande	8
Gambar Daun Eucaliptus Grande.....	11
Struktur Kimia Seneol	12
Gambar Alat Ekstraksi.....	24
Gambar Prinsip Alat Maserasi	26
Gambar Maserasi Sederhana.....	28
Gambar Metode Perkolasi.....	32
Gambar Metode Soxhlet	32
Gambar Diagram Alir Minyak Atsiri	51
Grafik Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Rendemen Minyak Atsiri dan Eucaliptus.....	54
Grafik Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Rendemen Minyak Atsiri Daun Eucaliptus.....	57
Grafik Hubungan Interaksi Waktu Maserasi dan Ukuran Partikel Terhadap Rendemen	59
Gambar Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Bobot Jenis Minyak Atsiri	61
Gambar Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Bobot Jenis Minyak Atsiri.....	63
Grafik Pengaruh Interaksi Waktu Maserasi dan Ukuran Partikel Terhadap Bobot Jenis.....	64
Gambar Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Index Bias	67
Gambar Pengaruh Ukuran Partikel Index Bias	69

Gambar Pengaruh Waktu Maserasi Aroma Terhadap Minyak Atsiri Daun

Eucaliptus 72

DAFTAR LAMPIRAN

Tabel Data Rendemen Minyak Atsiri.....	77
Tabel Data Rataan Bobot Jenis Minyak Atsiri.....	78
Tabel Data Rataan Index Bias Minyak Atsiri	79
Tabel Data Rataan Aroma Minyak Atsiri	80

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Salah satu negara yang memiliki biodiversitas tinggi adalah Indonesia memiliki banyak jenis tanaman yang dapat menjadi sumber minyak atsiri salah satu tanaman yang telah dikembangkan adalah tanaman *Eucalyptus* yang nantinya menjadi komoditas khas. *Eucalyptus* merupakan tumbuhan yang mempunyai banyak manfaat selain digunakan sebagai bahan industri, *Eucalyptus* juga dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Tumbuhan *Eucalyptus* juga memiliki keunikan yaitu diadaptasi berkembang dan tumbuh secara cepat. Secara umum tumbuhan *Eucalyptus* dikenal sebagai tumbuhan kayu putih. Hutan Tanaman Industri *Eucalyptus* merupakan salah satu jenis prioritas yang dikembangkan dalam pengelolaan hutan tanaman Industri Indonesia yang diperuntukkan sebagai kayu serat (*pulp*). Kriteria jenis yang dikembangkan untuk Hutan Tanaman industri, dipilih jenis tanaman yang cepat tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia sangat memungkinkan *Eucalyptus* untuk bertumbuh secara cepat (Mindawati, 2017).

Komponen utama *Eucalyptus* adalah 1,8-cineole, yang secara luas digunakan dalam industri makanan dan obat - obatan. Minyak mentah *Eucalyptus* terutama diambil dari daun *Eucalyptus* yang diperoleh dengan cara distilasi uap. Ada banyak metode untuk purify minyak *Eucalyptus*, termasuk distilasi, kristalisasi, distilasi molekuler, reaksi kimia, silika gel kolom chro-matography dan seterusnya (Setianingsih, 2017).

Tanaman *Eucalyptus* termasuk famili Myrtaceae, genus *Eucalyptus* dengan spesies *Eucalyptus* spp. Spesies-spesies yang telah dikenal umum antara lain, *Eucalyptus alba* (ampupu), *Eucalyptus deglupta*, *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus plathylla*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus umbelle*, *Eucalyptus camadilentis*, *Eucalyptus pellita*, *Eucalyptus tereticornis*, *Eucalyptus torreliana*. *Eucalyptus grandis* sendiri banyak tumbuh di wilayah Indonesia khususnya di wilayah Sumatera utara dan di Riau, Hal ini memiliki potensi yang cukup besar karena terdapat banyaknya bahan baku daun *Eucalyptus grandis* (Khaeruddin, 2010).

Minyak atsiri juga dikenal mudah menguap dan disebut minyak terbang. Pengertian atau definisi minyak atsiri yang ditulis dalam *Encyclopedia of Chemical Technology* menyebutkan bahwa minyak atsiri merupakan senyawa berbentuk cairan yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, daun, batang, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan dan *hydrodistillation* (Hadjer, T, 2017).

Minyak Atsiri merupakan salah satu komoditas ekspor agroindustri potensial yang dapat menjadi andalan bagi Indonesia untuk mendapatkan devisa. Data statistik eksport-import dunia menunjukkan bahwa konsumsi minyak atsiri sekitar 10% dari tahun ketahun (Dewan Atsiri Indonesia, 2009).

Ekstraksi daun *Eucalyptus* merupakan usaha dalam memisahkan minyak atsiri dari tanaman atau bagian asal. Minyak atsiri dalam tanaman terdapat pada bagian dalam rambut kelenjar dan sel kelenjar. Minyak atsiri hanya dapat dipisahkan dari sel tanaman bila ada uap air atau pelarut lain yang sampai ketempat minyak tersebut, yang selanjutnya akan membawa butir-butir minyak menguap secara bersamaan. Agar minyak atsiri itu lebih cepat kontak dengan

pelarut maka bagian-bagian tanaman harus dipotong-potong (Koensoemardiyah, 2010).

Kuantitas dan komponen minyak atsiri dapat berubah karena pengaruh tertentu baik alami maupun buatan, seperti misalnya tempat tumbuh, iklim, kondisi musim dan geografis, dan metode yang digunakan untuk mengekstraksi. (Efruan, 2016). Ekstraksi *Eucalyptus europilla* menggunakan *Stahl* destilasi diperoleh kadar sineol sebanyak 58,34%. Hasil ekstraksi *Stahl* destilasi ini lebih tinggi dari destilasi uap yang diperoleh kadar sineol 45,4%. Hal ini disebabkan oleh destilasi uap yang dapat menyebabkan sineol menguap karena bagian bawah katel yang terlalu panas (Taufik, M, 2018).

Hasil ekstraksi daun *Eucalyptus Pellita* menggunakan destilasi uap hasil minyak rata-rata adalah 0,15% dengan hasil tertinggi 0,4593% daun disimpan selama 3 hari. Kualitas minyak atsiri terbaik berasal dari daun yang telah disimpan selama 3 hari dengan berat jenis 0,9186,60% sineol konten, indeks bias 1,4603 dan kelarutan alkohol 80% dengan 1:1 (Ratnaningsih, A, T, 2018).

Proses Ekstraksi untuk memperoleh minyak Atsiri pada kembang lesan dilakukan dengan destilasi air *Stahl*. Kelebihan dari destilasi air adalah prinsip kerja sederhana karena bahan uji direndam dengan air dan dididihkan sampai titik didihnya. Hasil destilasi minyak atsiri kembang lesan diperoleh sebanyak 15 ml dari 2 kg kembang lesan basah yang didestilasi selama 5 jam. Sehingga diperoleh kadar minyak atsiri dari kembang lesan sebesar 0,75% (v/b).

Ekstraksi enzimatis pada prinsipnya sama dengan ekstraksi konvensional. Hanya saja disini digunakan enzim yang berfungsi mengambil zat yang akan diekstrak. Dengan demikian tidak diperlukan lagi pelarut khusus dalam proses

ekstraksi. Pelarut yang biasanya ditambahkan dalam ekstraksi enzimatis adalah air. Cara ekstraksi enzimatis ini memiliki beberapa keunggulan jika dibanding dengan ekstraksi konvensional, diantaranya ekstraksi tidak menggunakan solvent organik, sehingga dampak terhadap lingkungan sedikit, produk yang dihasilkan aman untuk konsumsi manusia karena tidak mengandung bahan kimia dan kualitas produk lebih baik (Hartati, I, 2010).

Debrah dan ohta (1997) telah melaporkan bahwa untuk mengekstrak minyak kelapa dengan konsentrasi protease netral dari *Aspergillus oryzae* sebanyak 1% diperoleh minyak dengan rendemen minyak yang baik. Chen and Diosady (2003) Mengekstrak minyak kelapa menggunakan enzim kompleks dengan konsentrasi dibawah 2% menghasilkan rendemen minyak yang optimal dengan intensitas warna yang baik dan kadar air yang rendah.

Menurut penelitian oktavia (2004), karakteristik enzim kasar *Selulase* kapang endofit dari lamun diperoleh nilai pH dan suhu optimum kerja enzim *Selulase* yaitu pH dan suhu 60°C. Karakterisasi enzim *Selulase* yang dihasilkan oleh *Lactobacillus planatorum* diperoleh L. Planatorum menghasilkan enzim *selulase* pada suhu optimum 65°C dengan aktifitas *Selulase* 0,052 U/mL, optimum pada pH 7 (netral) dengan aktifitas *Selulase* 0,054 U/mL (Putri, 2016).

Pada penelitian ini *Eucalyptus grandis* diekstraksi dengan metode enzimatis dengan menggunakan enzim *Selulase* yang akan memecah serat atau sel yang saling mengikat kuat pada daun *Eucalyptus grandis*, sehingga hasil dari ekstraksi minyak *Eucalyptus grandis* dapat lebih baik karena tidak adanya pemberian panas yang dapat menguapkan minyak atsiri.

Lama ekstraksi pada bahan baku akan berkaitan dengan karakteristik bahan baku seperti ukuran partikel bahan, karena semakin lama ekstraksi semakin lama kontak antara bahan dengan pelarut dan semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut sampai pada batas senyawa yang diekstrak habis dalam bahan, waktu maserasi dan perendaman *Eucalyptus* menggunakan pelarut kimia (Aryani,dkk, 2014).

Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh Waktu maserasi terhadap sifat fisik minyak Atsiri dari daun *Eucalyptus grandis*
2. Untuk mengetahui pengaruh ukuran partikel terhadap sifat fisik minyak Atsiri dari daun *Eucalyptus grandis*.
3. Untuk mengetahui interaksi antara waktu maserasi dan ukuran partikel dengan memvariasikan minyak *Eucalyptus grandis* secara enzimatis

Kegunaan Penelitian

1. Sebagai sumber data dalam skripsi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. Penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi tentang mengetahui ukuran partikel dan waktu maserasi terhadap sifat fisik minyak *Eucalyptus*
3. Sebagai syarat untuk menyelesaikan tugas akhir perkuliahan

Hipotesa Penelitian

1. Ada pengaruh ukuran partikel terhadap rendemen minyak *Eucalyptus*.
2. Ada pengaruh lamanya waktu maserasi terhadap *Eucalyptus*.
3. Ada pengaruh interaksi waktu maserasi dan ukuran partikel terhadap sifat fisik minyak atsiri dari *Eucalyptus grandis*.

TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman Eucalyptus

Eucalyptus sp. merupakan salah satu tanaman yang bersifat tanaman cepat tumbuh, (*fast growing*) dan mampu bertahan hidup pada lahan yang kering, namun jika ditanam di daerah yang memiliki curah hujan rendah maka perakarannya akan cenderung membentuk jaringan rapat pada permukaan tanah agar akar dapat menyerap setiap tetes air yang jatuh diatas permukaan tanah (Samosir, S, J, 2018)

Tanaman *Eucalyptus* merupakan tanaman obat yang penggunaannya cenderung semakin meningkat, namun penggunaan tersebut tetap harus memperhatikan indikasi, dosis dan efek samping. Penggunaan produk-produk bahan alam dari tumbuhan ini masih menggunakan cara-cara tradisional, yaitu diseduh, dihaluskan, diambil sarinya dan sebagainya yang semuanya itu sulit untuk menentukan keseragaman dosis dari produk yang digunakan. Demikian juga bentuk sediaan obat tradisional yang beredar di masyarakat bermacam-macam, baik asal bahan mentah, proses pengolahan dan bentuk sediaannya, sehingga dapat dipastikan kemungkinan betapa besarnya ketidak seragaman komposisi senyawa yang terdapat pada produk jadinya. Tanaman *Eucalyptus* tidak rapat dan bervariasi seperti jenis *Eucalyptus alba* (*ampupu*) dapat mencapai 35 meter dengan diameter 120 cm adapun jenis lainnya dapat mencapai 25 meter dan 80 cm sedangkan jenis leda mencapai 40 meter dengan diameter 125 cm. Bila dilihat dari luasnya area tanaman untuk tanaman *Eucalyptus grandis* yang tumbuh seperti daerah Sumatera mencapai kisaran 820.000 Ha sangat berpotensi

menempatkan Indonesia sebagai penghasil minyak atsiri dunia (Khaeruddin, 2010). Pohon *Eucalyptus grandis* dapat dilihat pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Pohon *Eucalyptus grandis*

Tanaman *Eucalyptus grandis* merupakan tanaman yang memiliki beberapa manfaat salah satunya sebagai obat-obatan, pengolahan tanaman obat menjadi bentuk sediaan yang mudah digunakan. Ada lebih dari 150 jenis minyak atsiri yang banyak diperdagangkan di pasar Internasional 40 jenis diantaranya diproduksi di Indonesia, hal ini menunjukkan potensi Indonesia sebagai penghasil minyak atsiri dunia begitu besar.

Minyak atsiri yang ditulis dalam *Encyclopedia of Chemical Technology* menyebutkan bahwa minyak atsiri merupakan senyawa, yang pada umumnya berwujud cairan, yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga dengan cara penyulingan dengan uap atau hydrodistillation (Hadjer. T, 2017).

Selain *Eucalyptus grandis* *Eucalyptus citriodora* merupakan salah satu jenis yang berpotensi untuk dikembangkan di Indonesia, tanaman asal Australia

ini dapat tumbuh baik di daerah tropis dan tanaman jenis ini belum begitu dikenal bila dibandingkan dengan *Eucalyptus grandis* (Small, 2000).

Penelitian berbeda telah menunjukkan bahwa minyak atsiri *Eucalyptus citriodora* memiliki berbagai spektrum kegiatan biologis yang termasuk anti mikroba aktivitas melawan bakteri, jamur dan ragi, analgetik dan anti inflamasi efek, aktivitas antioksidan dan insektisida efek. Pada sifat lainnya yang konstituen utama monoterpen, Citronellal, telah dieksplorasi. Minyak atsiri *Eucalyptus* memiliki aktivitas antioksidan yang efektifitas terhadap bakteri Gram negatif dan positif (Hadjer,2017).

Tanaman *Eucalyptus pellita* terdapat banyak keunggulan untuk berbagai keperluan seperti untuk pengobatan sehingga tanaman *Eucalyptus pellita* dapat dimanfaatkan sebagai bioherbisida dan minyak atsiri yang dihasilkan bersifat antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sebagai bahan obat untuk minyak gosok, sabun, obat kumur, permen, emulsi antiseptik, salep dan obat sakit gigi. Pemanfaatan daun *E. pellita* menjadi minyak atsiri dilakukan dengan melakukan proses penyulingan bagian bunga, daun dan kulit batang tanaman (Setianingsih, 2017). Senyawa aktif pada minyak atsiri daun *Eucalyptus* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah 1,8-cineole, linalool dan pinocarveol. Minyak atsiri daun *Eucalyptus* diformulasikan dalam bentuk sediaan krim (Intan Martha Cahyani, 2018).

Minyak atsiri daun *Eucalyptus* berdasarkan hasil uji GCMS didapatkan senyawa myrcene (40,14%), β -pinene (2,10%), α - pinene (3,76%), 1,8 cineole (45,44%), α - terpineol (2,51) dan terpinen-4- ol (6,04%). Senyawa 1,8 cineole mempunyai konsentrasi yang tertinggi yaitu 45,44%. Senyawa dalam minyak

atsiri daun eukaliptus yang berperan sebagai antibakteri adalah 1,8 $\mu\text{g/ml}$ (Vratnica *dkk*; 2011).

Dengan mengidentifikasi daun *Eucalyptus* sehingga kemudian diperoleh *Eucalyptus* spesies Robusta. Untuk dapat mengetahui kandungan senyawa dan juga kadar sineol dihasilkan terlebih dahulu minyak dari sampel daun dengan metode hidrodestilasi atau destilasi air. Metode ini dilakukan berdasarkan perbandingan peneliti terdahulu dengan membandingkan metode destilasi minyak dengan daun *Eucalyptus* yang sama. Peneliti sebelumnya dengan spesies *Eucalyptus* yang sama telah mendestilasi tanaman ini untuk memperoleh kadar kelimpahan sineol yang 58,34% jauh lebih banyak dibandingkan dengan destilasi uap yang diperoleh kadar kelimpahan sebesar 45,4 % (Juliana, 2018).

Perlakuan Ekstrak tanaman herbal telah dilakukan para peneliti untuk mengembangkan potensi terapeutik obat-obatan. Berbagai tanaman *Eucalyptus* merupakan sumber yang kaya dari senyawa bioaktif alami, termasuk ellagitannins, Ester galloyl, flavonoid, chromones dan terpenoids. *Eucalyptus globulus* Labill. (Myrtaceae) adalah yang paling dominan dibudidayakan. Meskipun *Eucalyptus* ekstrak dikenal memiliki efek antioksidan yang kuat serta antibakteri, aktivitas antioksidan dari senyawa terisolasi dari *E. globulus* belum ekstensif diteliti (Ganesan, 2017).

Eucalyptus grandis

Eucalyptus grandis memiliki ciri-ciri umum batang yang tinggi, kulit batang halus dan kasar agak bersisik memiliki warna abu-abu hingga coklat keabu-abuan dikenal sebagai gum atau mawar. Pada tanaman dewasa, mencapai

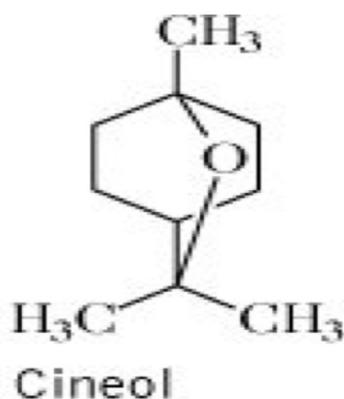
50 meter (160 kaki) tinggi, meskipun spesimen terbesar dapat melebihi 80 meter (260 kaki). Daun *Eucalyptus grandis* dapat dilihat pada Gambar 2 berikut ini.



Gambar 2. Daun *Eucalyptus grandis*

Daerah pesisir dan sub-garis pantai dari sekitar Newcastle di New South Wales utara ditemukan *Eucalyptus grandis* ditemukan dengan populasi terpisah Townsville dan Daintree di Queensland utara, terutama di dataran yang datar dan lereng yang lebih rendah. Tanahnya adalah tanah aluvial yang subur curah hujan tahunan bervariasi dari 1100 hingga 3500 mm, pohon inidominan dari hutan basah dan hutan hujan baik tumbuh di tegakan murni atau dicampur dengan pohon seperti blackbutt (*E. pilularis*), tallowwood (*E. microcorys*), mahoni merah (*E.resinifera*), getah biru Sydney (*E. saligna*), bloodwood merah muda (*Corymbiaintermedia*), terpentin (*Syncarpia glomulifera*), kotak sikat (*Lophostemonconfertus*) dan pohon hutan (*Allocasuarina torulosa*). *Eucalyptus grandis* telah didirikan di perkebunan di Uruguay utara dan dijual dengan nama dagang "Red Grandis (William, 2006).

Berdasarkan penelitian Sen-Sung Cheng, dkk, komposisi minyak *Eucalyptus urophylla* adalah hidrokarbon monoterpen, oksigen asimono terpen, hidrokarbon sesquiterpendan oksigen asises quiterpen, sebagian monoter pendan sesquiterpen terdiri dari unit isoprene (C₅H₈). Saat ini yang terpenting adalah 1,8-cineol (Barton Allan, 2000). Cineol merupakan etersiklik dengan rumus empiris C₁₀H₁₈O dan nama sistematik 1,3,3-trimethy 1-2-oxabicyclo [2.2.2] octane yang termasuk kedalam kelompok komponen oksigen asimonomerpen ini dalam perdagangan komersial disebut sebagai “eucalyptol”. Struktur kimia dari *cineol* dapat dilihat pada gambar 3 berikut ini.



Gambar 3.struktur kimia dari *cineol*

Adapun sifat-sifat kimia dan fisika dari 1,8-cineol dapat dilihat pada table 1.

Tabel. 1. Sifat Kimia dan Fisika 1,8-cineol

Rumus Kimia	C ₁₀ H ₁₈ O
Kelarutan dalam Air	3,5 g/l (21 °C)
Titik Leleh	1,5°C
Massa Molar	154,25 g/mol
Densitas	0,925 g/cm ³ (20°C)
Titik Didih	174-177°C
Titik Nyala	49°C

Sumber : Ahmad Anes, *dkk*; (2009)

Enzim Selulase

Ekstraseluler yaitu enzim yang dihasilkan di dalam sel, selulase termasuk enzim ekstra seluler tetapi selanjutnya dikeluarkan ke media fermentasi di luar sel untuk mendegradasi senyawa polimer sehingga mudah larut dan dapat diserap melalui dinding sel (Stanbury dan Whitaker, 1984). Melalui proses katalis yang bekerja secara sinergis untuk melepaskan gula (glukosa) enzim selulase mampu mendegradasi selulosa (Santos *dkk*; 2012).

Enzim selulase merupakan enzim kompleks yang terdiri dari tiga tipe enzim yaitu endoglukanase (endo-1,4- β -D-glukanase), eksoglukanase (ekso-1,4- β -D-glukanase) dan selobiase (β -D-glukosidase), (Murashima *dkk*; 2002). Ketiga komponen enzim tersebut bekerjasama dalam menghidrolisis selulosa yang tidak dapat larut menjadi glukosa. Kemampuan enzim selulase dalam mendegradasi selulosa menyebabkan enzim ini semakin dibutuhkan oleh industri yang memproduksi bioetanol dari bahan berselulosa (Sukumaran *dkk*; 2005).

Enzim selulase dapat diproduksi oleh mikroorganisme seperti fungi dan bakteri meskipun aktivitas enzim selulase dari beberapa spesies fungi lebih tinggi, namun bakteri lebih banyak digunakan karena memiliki beberapa kelebihan (Supriyatna, 2015).

Enzim adalah protein yang diproduksi dari sel hidup dan digunakan oleh sel-sel untuk mengkatalisis reaksi kimia yang spesifik. Hidrolisis enzimatis adalah proses pemecahan polimer menjadi monomer - monomer penyusunnya dengan bantuan enzim. Enzim amilase adalah enzim yang mampu menurunkan energi aktivasi sehingga dapat mempercepat pemecahan rantai polimer polisakarida menjadi monomer gula penyusunnya. Enzim selulase adalah campuran beberapa enzim yaitu endoglukanase, eksoglukanase dan β -glukosidase. Fungi berfilamen

seperti *Trichoderma* dan *Aspergillus* adalah penghasil selulase secara komersial (Ul-Haq, *et al*, 2005).

Selulosa adalah polimer glukosa yang berbentuk rantai linear dan dihubungkan dengan ikatan β -1,4 glikosidik. Struktur yang linear yang menyebabkan selulosa bersifat kristalin dan tidak mudah larut. Selulosa tidak mudah didegradasi secara kimia maupun mekanis (Putri, 2016).

Selulosa di alam memiliki dua tipe yakni pektoselulosa dan ligniselulosa. Selulosa tidak pernah ditemukan dalam keadaan murni di alam, tetapi selalu berasosiasi dengan polisakarida seperti lignin, pektin, hemiselulosa dan xilan. Kebanyakan selulosa berasosiasi dengan lignin sehingga sering disebut lignoselulosa (Putri, 2016).

Enzim selulose memegang peranan penting dalam aplikasi-aplikasi di bidang industri, diantaranya digunakan untuk proses konversi penanganan air limbah berselulosa pada industri pulp, kertas, pembuatan suplemen dalam industri pakan ternak, produksi protein sel tunggal, produksi protoplas, teknik genetik dan lain-lain. Enzim ini juga penting dalam bidang industri tekstil terutama dalam hal aplikasi deterjen untuk mengembalikan sifat-sifat tekstil yang berkaitan dengan selulosa, serta produksi biofuel dari biomassa berselulosa (Ariyani, *dkk*; 2014).

Putri (2016), karakterisasi enzim selulose yang dihasilkan oleh *Lactobacillus planatarum* diperoleh *L. planatarum* menghasilkan enzim selulose pada suhu optimum 65°C dengan aktivitas selulase 0,052 U/ml, optimum pada pH 7 (netral) dengan aktivitas selulase 0,054 U/ml, optimum pada konsentrasi substrat CMC 1,5% dengan aktivitas enzim selulase 0,060 U/ml.

Mekanisme pemotongan rantai ikatan oleh enzim selulose sangatlah kompleks karena melibatkan sinergisitas kerja tiga komponen besar yaitu

endoglukanase yang bekerja dengan memotong secara acak pada sisi internal dari rantai selulosa dan menghasilkan oligosakarida dengan panjang rantai yang bervariasi. Efek yang terjadi adalah panjang rantai polisakarida semakin berkurang dengan cepat dan diikuti peningkatan jumlah pereduksi secara bertahap (Amakura, Y et al, 2002).

Konsentrasi substrat juga mempengaruhi tinggi rendahnya aktivitas enzim. Tingginya konsentrasi akan menyebabkan meningkatnya kecepatan reaksi, namun kecepatan reaksi akan menurun pada batas konsentrasi tertentu. Oleh sebab itu perlu dilakukan optimasi suhu, pH, jenis dan konsentrasi substrat untuk aktivitas enzim selulose dari *Candida utilis* sehingga dihasilkan aktivitas enzim selulose yang optimal sehingga dapat diaplikasikan dalam bidang industri. Sebab Kerja suatu enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, kondisi suhu, pengaruh pH dan pengaruh inhibitor. Faktor ini akan mempengaruhi kerja enzim dalam menghasilkan suatu produk salah satunya dalam bidang industri (Rosyida, I. 2016).

Setiap enzim memiliki kondisi optimum yang berbeda dalam kerjanya. Setiap enzim berfungsi secara optimal pada suhu pH tertentu. Peningkatan suhu secara umum mempercepat reaksi kimia enzim, kenaikan suhu terlalu tinggi menyebabkan enzim mengalami denaturasi atau perubahan struktur prortein. Adanya perubahan pH terlalu asam atau terlalu basa pada media menyebabkan aktivitas enzim akan mengalami perubahan (Irawati, 2016).

Mekanisme Kerja Enzim Selulase

Secara enzimatik, proses degradasi selulosa melibatkan kompleks enzim selulosa spesifik, yaitu endo-1,4- β -D-glukanase (endoselulase atau CMC-ase),

ekso-1,4- β -D-glukanase (selobiohidrolase) dan β -glukosidase (selobiase) (Ikram ., *dkk* 2005). Hidrolisis selulosa menjadi glukosa secara konsisten melewati dua tahap penting dalam sistem enzimatik. Tahap pertama yaitu pemecahan ikatan glikosidik pada selulosa menjadi selobiosa oleh β -1,4-glukanase dan tahap kedua yaitu pemecahan ikatan β -1,4-glukosidik pada selobiosa menjadi glukosa oleh β -glukosidase (Fox, 1991). Pada dasarnya mekanisme pemotongan rantai ikatan oleh enzim selulase sangat kompleks karena melibatkan sinergitas kerja 3 komponen besar yaitu (Lynd et al., 2002) :

1. Endoglukanase bekerja dengan memotong secara acak pada sisi internal dari rantai selulosa dan menghasilkan oligosakarida dengan panjang adalah panjang rantai polisakarida semakin berkurang dengan cepat dan diikuti peningkatan jumlah gula pereduksi secara bertahap.
2. Eksoglukanase berperan dalam memproses ujung reduksi maupun nonreduksi dari rantai polisakarida selulosa dan menghasilkan glukosa (glukanohidrolase) atau selobiosa (selobiohidrolase) sebagai produk utamanya. Efek yang terjadi dari hidrolisis ini yaitu peningkatan jumlah gula pereduksi secara cepat dan secara keseluruhan hanya terjadi sedikit perubahan panjang rantai dalam jangka waktu yang singkat.
3. β -glukosidase menghidrolisis selobiosa menjadi glukosa.

Aktivitas Enzim Selulase

Aktivitas enzim didefinisikan sebagai kecepatan pengurangan substrat atau kecepatan pembentukan produk pada kondisi optimum. Satu unit aktivitas enzim selulase didefinisikan sebagai jumlah enzim yang menghasilkan satu mikromol gula reduksi (glukosa) setiap menit (Lehninger, 1993). Untuk menentukan aktivitas enzim selulase, dapat dilakukan dengan menggunakan substrat yang

spesifik. Enzim endoglukanase merupakan enzim yang mampu menghidrolisis selulosa secara acak menghasilkan selodekstrin, selobiosa dan glukosa (Gong dan Tsao, 1979). Aktivitas enzim endoglukanase dapat ditentukan dengan menguji pada substrat CMC (Carboxymethyl cellulose), sehingga enzim endoglukanase disebut dengan istilah CMC-ase (Zhang et al., 2006). Aktivitas enzim ini dapat diukur dengan memantau jumlah glukosa pereduksi yang dihasilkannya (Enari, 1983). Penentuan aktivitas enzim selulase akan sulit apabila filtrat yang akan diukur aktivitas enzimnya merupakan campuran dari berbagai enzim selulase. Enzim-enzim ini tidak hanya dapat menghidrolisis substrat yang sama tetapi juga dapat bekerja secara sinergis memecah substrat yang sama, sehingga menyebabkan aktivitas yang diukur dipengaruhi oleh proporsi dari masing-masing enzim yang ada (Enari, 1983). Penggunaan substrat CMC sebagai media dalam penelitian ini dimaksudkan untuk mengukur aktivitas enzim endoglukanase, dimana enzim ini merupakan enzim yang berperan dalam proses awal pemecahan selulosa murni berbentuk amorf. Enzim ini bekerja pada rantai dalam CMC menghasilkan oligosakarida atau rantai selulosa yang lebih pendek (Lynd et al., 2002).

Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Aktivitas Enzim Selulase

Aktivitas enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain suhu, pH, konsentrasi substrat dan enzim serta keberadaan inhibitor (Hames dan Hooper, 2005). Berikut akan dijelaskan secara rinci mengenai faktor-faktor yang mempengaruhi aktivitas enzim sebagai berikut:

Suhu Faktor

suhu dapat mempengaruhi reaksi yang dikatalisis oleh enzim melalui dua cara. Pertama, kenaikan suhu dapat meningkatkan energi termal molekul substrat. Kenaikan ini akan menghasilkan sejumlah energi yang dapat melebihi energi aktivasi dan meningkatkan tingkat reaksi. Kedua, kenaikan suhu akan mengubah struktur protein yang menyusun enzim sehingga terjadi pemutusan interaksi nonkovalen (ikatan hidrogen, gaya van der Waals dan interaksi lainnya) yang menopang struktur tiga dimensi enzim (Hames dan Hooper, 2005). Peningkatan suhu eksternal secara umum akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia enzim, tetapi kenaikan suhu yang terlalu tinggi akan menyebabkan terjadinya denaturasi enzim yaitu berubahnya struktur protein enzim, terutama perubahan pada ikatan ionik dan ikatan hidrogennya sehingga menyebabkan terjadinya penurunan kecepatan reaksi yang dikatalisis enzim tersebut (Saropah., *dkk* 2012). Energi panas yang terlalu tinggi dapat meningkatkan kinetika enzim untuk mencapai titik yang dapat melampaui batas energi yang diperlukan untuk merusak ikatan kovalen yang menyusun struktur tiga dimensi enzim. Akibatnya, rantai polipeptida menjadi tidak terlipat (*unfolding*) atau terdenaturasi dan disertai dengan penurunan aktivitas katalitik secara drastis. Suatu enzim dapat tetap stabil pada rentang suhu tertentu (Murray et al., 2003). Suhu untuk aktivitas enzim CMC-ase berada pada kisaran suhu inkubasi 35-80 0C (Fitriani, 2003).

pH Faktor

pH sangat berpengaruh terhadap struktur dan aktivitas biologis enzim. Interaksi ionik yang terjadi di dalam strukturnya, akan menstabilkan enzim dan memungkinkan enzim untuk mengenali dan berikatan dengan substratnya (Nelson dan Cox, 2005). Karakteristik pH yang menunjukkan aktivitas katalitik maksimum

disebut pH optimum. Sedikit perubahan pH akan menyebabkan perubahan besar pada reaksi yang dikatalis enzim. Perubahan pH akan menyebabkan denaturasi pada protein penyusun enzim itu sendiri. pH untuk aktivitas enzim selulase adalah 5,5-8, (Murray et al., 2003). Konsentrasi ion hidrogen, yaitu keasaman atau kebasaan larutan sangat mempengaruhi aktivitas suatu enzim. Hal ini disebabkan karena asam amino yang merupakan pusat aktif enzim harus berada dalam keadaan ionisasi yang tetap agar menjadi aktif. Setiap enzim memiliki pH maksimum, optimum dan minimum. Nilai-nilai pH tersebut bervariasi dengan suhu, tipe dan konsentrasi substrat, tipe larutan penyangga (buffer), ada atau tidaknya senyawa penghambat atau pengaktif dan waktu yang dibutuhkan enzim tersebut bekerja (Salle, 1974).

Konsentrasi Substrat

Konsentrasi substrat pada tahap awal reaksi mencerminkan kenaikan yang proporsional terhadap kecepatan reaksi. Saat sisi aktif pada enzim mulai berikatan dengan substrat maka kecepatan maksimum reaksi akan tercapai. Saat titik ini telah tercapai, penambahan substrat berikutnya tidak akan mempengaruhi tingkat reaksi. Hal ini disebabkan oleh seluruh sisi aktif enzim telah jenuh atau dipakai untuk mengikat molekul substrat (Nelson dan Cox, 2005). Semakin tinggi konsentrasi substrat mungkin dapat meningkatkan atau mengurangi kecepatan suatu reaksi enzimatik. Jika konsentrasi substrat jumlahnya lebih sedikit dari pada jumlah enzim maka suatu peningkatan kandungan substrat akan meningkatkan kecepatan reaksi. Laju aktivitas enzim akan meningkat dengan meningkatnya kadar substrat sampai suatu titik tertentu. Ketika enzim jenuh dengan substrat,

maka penambahan kadar substrat tidak akan berpengaruh pada kecepatan reaksi (Volk dan Wheeler, 1988).

Konsentrasi Enzim

Kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim tergantung pada konsentrasi enzim tersebut. Pada konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim (Poedjiadi, 2006). Semakin tinggi konsentrasi enzim maka kecepatan reaksi akan meningkat hingga batas konsentrasi tertentu. Namun, hidrolisis substrat akan konstan dengan naiknya konsentrasi enzim. Hal ini disebabkan karena penambahan enzim sudah tidak efektif lagi (Reed, 1975)

Inhibitor Enzim

Inhibitor enzim merupakan molekul yang dapat mengganggu katalisis baik dengan cara memperlambat maupun menghentikan reaksi enzimatik (Nelson dan Cox, 2005). Terdapat dua tipe inhibisi enzim yaitu reversibel dan irreversibel. Inhibisi reversibel dapat dibagi menjadi dua yaitu inhibitor kompetitif dan nonkompetitif. Inhibitor kompetitif memiliki struktur yang menyerupai substrat dan akan bersaing dengan substrat untuk berikatan dengan sisi aktif enzim. Akibatnya, kompetisi yang terjadi akan bergantung pada konsentrasi substrat dan inhibitor.

Tidak semua inhibitor enzim bekerja dengan memperebutkan sisi aktif enzim, inhibitor nonkompetitif bekerja dengan cara berikatan pada bagian enzim sehingga mengubah konformasi tiga dimensi protein penyusun enzim. (Sari, 2010). Inhibisi irreversibel terjadi akibat adanya ikatan kovalen yang kuat antara inhibitor dan residu asam amino pada enzim. Akibatnya, inhibitor secara efektif

merusak gugus fungsional pada enzim yang esensial bagi aktivitas enzim. Pembentukan ikatan kovalen antara inhibitor irreversible dan enzim lazim terjadi. Inhibitor jenis ini banyak digunakan untuk mempelajari mekanisme suatu reaksi. Asam amino dengan fungsi katalitik pada sisiaktif enzim dapat diidentifikasi dengan menentukan residu mana yang secara kovalen berhubungan dengan inhibitor setelah enzim diinaktivasi (Sari, 2010). Beberapa senyawa logam dan senyawa lainnya yang dapat menghambat aktivitas selulase adalah Hg^{2+} , Ag^{2+} dan Cu^{2+} (Oikawa et al., 1994), glukanolakton (Kulp, 1975), surfaktan, senyawa pengkelat khususnya Sodium Dodecyl Sulphate (SDS), Ethylene Diamine Tetraacetic Acid (EDTA) (Oikawa et al., 1994) dan etanol serta alkohol (Ooshima et al., 1985). Senyawa penghambat tersebut dapat menekan seluruh kecepatan hidrolisis dengan menghambat adsorpsi eksoglukanase dan endoglukanase pada selulosa dan menghambat aksi sinergis eksoglukanase dan endoglukanase yang bekerja pada permukaan selulosa.

Aktivator Enzim

Beberapa substansi yang dapat memulihkan aktivitas enzim disebut dengan aktivator. Adanya aktivator enzim dapat mempermudah enzim berikatan dengan substratnya. Jika aktivator berikatan dengan enzim maka akan menyebabkan kenaikan kecepatan reaksi enzim (Whittaker, 1994). Komponen kimia yang membentuk enzim disebut juga kofaktor. Kofaktor tersebut dapat berupa ion-ion anorganik seperti Fe, Ca, Mn, Mg, Cu atau dapat pula sebagai molekul organik kompleks yang disebut dengan koenzim (Martoharsono, 1997).

Waktu kontak atau reaksi antara enzim dan substrat mempengaruhi efektivitas kerja enzim. Semakin lama waktu reaksi maka kerja enzim juga

akan semakin optimum (Azis, 2012). Produk Akhir Reaksi enzimatis selalu melibatkan dua hal, yaitu substrat dan produk akhir. Dalam beberapa hal, produk akhir juga dapat menurunkan produktivitas kerja enzim (Azis, 2012). Selobiosa dan glukosa merupakan produk akhir hasil hidrolisis enzim selulosa yang dapat menghambat kerja enzim. Hal ini disebabkan karena selobiosa dan glukosa adalah inhibitor dalam proses degradasi (Ahmed et al., 2001)

Bekicot (*Achatina Fulica*) tercakup di dalam subkelas Pulmonata dari kelas Gas tropoda yang merupakan kelompok molusca yang sangat besar. Meskipun didalam subkelas ini sudah terdapat spesialisasi untuk hidup di daratan kering, tetapi masih menunjukkan banyak sifat pokok kelas Gastropoda sebagai keseluruhannya. Di Sumatera dan Jawa, hewan ini telah merusak perkebunan karet. Enzim selulase juga dihasilkan dari hewan bekicot (*Achatina fulica*) yang merupakan kelas Gastropoda yang sama dengan keong mas.

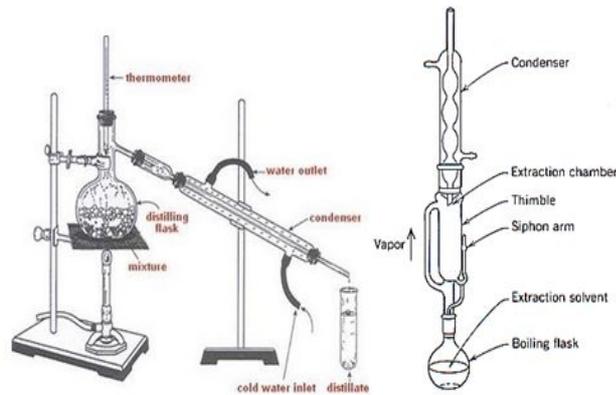
Bekicot merupakan salah satu hewan yang menggunakan selulosa sebagai sumber energi sehingga didalam tubuhnya, Sewaktu bekicot ditangkap, biasanya perut bekicot dibuang agar tidak ikut dimasak. Padahal dalam getah lambung dan pankreas terdapat enzim yang dapat menghidrolisa selulosa menjadi glukosa, sedangkan glukosa merupakan sumber energi. Isolasi enzim selulase bertujuan untuk mendapatkan enzim selulase yang dapat digunakan untuk mengkonversi selulosa menjadi glukosa dalam industri pangan (Siregar, 1999). Enzim selulase selain dihasilkan oleh mikroba selulolitik yang hidup di alam bebas juga dapat dihasilkan oleh mikroba selulolitik yang terdapat dalam tubuh hewan. Secara komersil, harga enzim selulase yang dihasilkan dari jamur atau bakteri cukup mahal sehingga permasalahan yang sering muncul dalam hidrolisis enzimatis adalah kurang tersedianya enzim selulase yang murah dan efisien. Oleh karena itu

dilakukan upaya mencari sumber enzim lain yang dapat memproduksi enzim selulase. Enzim ini dianggap lebih efektif dan efisien karena isolasi enzim dari bekicot cukup mudah, murah dan tidak membutuhkan waktu yang lama serta enzim dapat disimpan dalam waktu 4 bulan dalam suhu -15°C (Soedigdo,et al). Enzim selulase yang diproduksi mikroba sebagian besar disimpan dalam hepatopankreas yang salurannya bermuara ke saluran pencernaan. Sementara itu, cangkang bekicot dapat dimanfaatkan sebagai hiasan, dan pembuatan kitosan. Dengan demikian bekicot bisa dijadikan alternatif sumber enzim selulase sehingga diharapkan bekicot dapat bermanfaat bagi kehidupan, Masfufatun (2009) telah melakukan penelitian tentang hidrolisis Carboxy Methyl Cellulose (CMC) dengan enzim selulase dari bekicot untuk produksi etanol dengan menggunakan *Zymomonas mobilis*. Dari hasil penelitiannya didapatkan bahwa enzim selulase bekerja pada kondisi optimum 50°C dan pH 5,2 dan menghasilkan etanol sebesar 0,457 g/g glukosa atau yield etanol sebesar 89,6%.

Ekstraksi

Ada beberapa metode umum ekstraksi yang sering dilakukan yaitu ekstraksi dengan pelarut (maserasi), destilasi, supercritical fluid extraction (SFE), pengepresan mekanik dan sublimasi, serta secara enzimatik. Seiring dengan perkembangan zaman serta adanya tuntutan terhadap metode ekstraksi yang bertujuan untuk memperoleh hasil yang tinggi dengan waktu yang relatif singkat untuk meminimalkan keterbatasan teknik ekstraksi konvensional.

Ekstraksi merupakan pemisahan suatu zat dari campurannya dengan pembagian sebuah zat terlarut antara dua pelarut yang tidak dapat tercampur untuk mengambil zat terlarut tersebut dari satu pelarut ke pelarut yang lain.



Gambar 4. Contoh alat ekstraksi

Ekstraksi bertujuan untuk melarutkan senyawa-senyawa yang terdapat dalam jaringan tanaman ke dalam pelarut yang dipakai untuk proses ekstraksi tersebut. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil.

Ultrasound - Assisted Solvent Extraction Merupakan metode maserasi yang dimodifikasi dengan menggunakan bantuan ultrasound (sinyal dengan frekuensi tinggi, 20 kHz). Wadah yang berisi serbuk sampel ditempatkan dalam wadah ultra-sonic dan ultrasound. Hal ini dilakukan untuk memberikan tekanan

mekanik pada sel hingga menghasilkan rongga pada sampel. Kerusakan sel dapat menyebabkan peningkatan kelarutan senyawa dalam pelarut dan meningkatkan hasil ekstraksi (Yuli Witono,2007).

Metode Maserasi

Maserasi istilah aslinya adalah *macerare* (bahasa Latin, artinya merendam) adalah sediaan cair yang dibuat dengan cara mengekstraksi bahan nabati yaitu direndam menggunakan pelarut bukan air (pelarut nonpolar) atau setengah air, misalnya etanol encer, selama periode waktu tertentu sesuai dengan aturan dalam buku resmi kefarmasian (Farmakope Indonesia, 1995). Selama ini dikenal ada beberapa cara untuk mengekstraksi zat aktif dari suatu tanaman atau pun hewan menggunakan pelarut yang cocok. Pelarut tersebut ada yang bersifat polar (contohnya air sendiri, disebut pelarut polar) ada juga pelarut yang bersifat non polar (contohnya aseton, etilasetat, alkohol, disebut pelarut non polar atau pelarut organik).

Metode maserasi umumnya menggunakan pelarut non air atau pelarut non-polar. Teorinya, ketika simplisia atau bahan yang akan di maserasi direndam dalam pelarut yang dipilih, maka ketika direndam, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam sel yang penuh dengan zat aktif dan karena ada pertemuan antara zat aktif dan penyari itu terjadi proses pelarutan (zat aktifnya larut dalam penyari) sehingga penyari yang masuk kedalam sel tersebut akhirnya akan mengandung zat aktif, katakan 100%, sementara penyari yang berada di luar sel belum terisi zat aktif (0%) akibat adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel ini akan muncul gaya difusi, larutan yang terpekatakan didesak menuju keluar berusaha mencapai keseimbangan konsentrasi antara zat

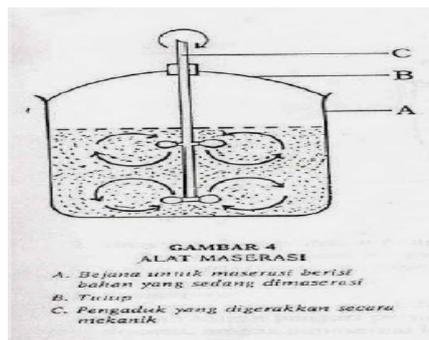
aktif di dalam dan di luar sel. Proses keseimbangan ini akan berhenti, setelah terjadi keseimbangan konsentrasi (Puspita, 2008).

Keuntungan dari metode ini:

1. Unit alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendam cara pengerjaan dan peralatan sederhana dan mudah diusahakan.
2. Biaya operasional nya relative rendah, Prosesnya relative hemat penyaringan pemanasan.

Kelemahan dari metode ini:

1. Proses penyaringannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja dan prosesnya lama, butuh waktu beberapa hari.



Gambar 5. Prinsip Alat maserasi

Terdapat banyak metode yang dapat digunakan dalam berbagai penelitian, Metode maserasi dipilih karena prosesnya yang sangat sederhana dan pelarut yang digunakan untuk mengekstrak sampel adalah air, menurut Parasetia (2012), air mampu melarutkan berbagai zat kimia seperti garam, gula, asam, beberapa jenis gas dan sebagian molekul organik. Air dipilih karena karena harganya murah dan sangat mudah untuk didapatkan. Ekstraksi menggunakan bahan yang berukuran lebih kecil akan menghasilkan kandungan tanin yang lebih banyak, ini dikarenakan menurut (Parasetia, 2012).

Dalam penelitian ini destilasi yang digunakan adalah destilasi air dan uap dengan rata-rata rendemen minyak E. pellita sebesar 0,15%. Nilai ini jauh lebih rendah jika dibandingkan dengan penelitian Astiani et al., (2014) yang mendestilasi E.pellita dengan metode destilasi uap menghasilkan rendemen sebesar 0,89%. Metode destilasi akan mempengaruhi nilai rendemen dari minyak atsiri (Astiani et al., 2014).

Prinsip Maserasi

Prinsip maserasi adalah pengikatan/pelarutan zat aktif berdasarkan sifat kelarutannya dalam suatu pelarut (like dissolved like). Langkah kerjanya adalah merendam simplisia dalam suatu wadah menggunakan pelarut penyari tertentu selama beberapa hari sambil sesekali diaduk, lalu disaring dan diambil beningannya. Selama ini dikenal ada beberapa cara untuk mengekstraksi zat aktif dari suatu tanaman ataupun hewan menggunakan pelarut yang cocok. Pelarut-pelarut tersebut ada yang bersifat “bisa campur air” (contohnya air sendiri, disebut pelarut polar) ada juga pelarut yang bersifat “tidak campur air” (contohnya aseton, etil asetat, disebut pelarut non polar atau pelarut organik). Metode Maserasi umumnya menggunakan pelarut non air atau pelarut non-polar.

Teorinya, ketika simplisia yang akan di maserasi direndam dalam pelarut yang dipilih, maka ketika direndam, cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang penuh dengan zat aktif dan karena ada pertemuan antara zat aktif dan penyari itu terjadi proses pelarutan (zat aktifnya larut dalam penyari) sehingga penyari yang masuk ke dalam sel tersebut akhirnya akan mengandung zat aktif, katakan 100%, sementara penyari yang berada di luar sel belum terisi zat aktif (0 %) akibat adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam

dan di luar sel ini akan muncul gaya difusi, larutan yang terpekat akan didesak menuju keluar berusaha mencapai keseimbangan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel. Proses keseimbangan ini akan berhenti, setelah terjadi keseimbangan konsentrasi (istilahnya “jenuh”).

Dalam kondisi ini, proses ekstraksi dinyatakan selesai, maka zat aktif di dalam dan di luar sel akan memiliki konsentrasi yang sama, yaitu masing-masing 50%. Alat maserasi ditunjukkan pada gambar 6



Gambar 6. Maserasi Sederhana

Kelebihan dan Kekurangan Metode Maserasi

Kelebihan dari ekstraksi dengan metode maserasi adalah:

- a) Unit alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendam
- b) Biaya operasionalnya relatif rendah
- c) Prosesnya relatif hemat penyari dan tanpa pemanasan

Kelemahan dari ekstraksi dengan metode maserasi adalah:

- a) Proses penyariannya tidak sempurna, karena zat aktif hanya mampu terekstraksi sebesar 50% saja
- b) Prosesnya lama, butuh waktu beberapa hari.

Maserasi dapat dilakukan modifikasi misalnya:

1. Digesti

Digesti adalah cara maserasi dengan menggunakan pemanasan lemah, yaitu pada suhu 40–50°C. Cara maserasi ini hanya dapat dilakukan untuk simplisia yang zat aktifnya tahan terhadap pemanasan. Dengan pemanasan diperoleh keuntungan antara lain:

- a. Kekentalan pelarut berkurang, yang dapat mengakibatkan berkurangnya lapisan-lapisan batas.
- b. Daya melarutkan cairan penyari akan meningkat, sehingga pemanasan tersebut mempunyai pengaruh yang sama dengan pengadukan.
- c. Koefisien difusi berbanding lurus dengan suhu absolute dan berbanding terbalik dengan kekentalan, sehingga kenaikan suhu akan berpengaruh pada kecepatan difusi. Umumnya kelarutan zat aktif akan meningkat bila suhu dinaikkan.
- d. Jika cairan penyari mudah menguap pada suhu yang digunakan, maka perlu dilengkapi dengan pendingin balik, sehingga cairan akan menguap kembali ke dalam bejana.

2. Maserasi dengan Mesin Pengaduk

Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus-menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6 sampai 24 jam.

3. Remaserasi

Cairan penyari dibagi menjadi, Seluruh serbuk simplisia di maserasi dengan cairan penyari pertama, sesudah diendapkan, tuangkan dan diperas, ampas dimaserasi lagi dengan cairan penyari yang kedua.

4. Maserasi Melingkar

Maserasi dapat diperbaiki dengan mengusahakan agar cairan penyari selalu bergerak dan menyebar. Dengan cara ini penyari selalu mengalir kembali secara berkesinambungan melalui serbuk simplisia dan melarutkan zat aktifnya.

5. Maserasi Melingkar Bertingkat

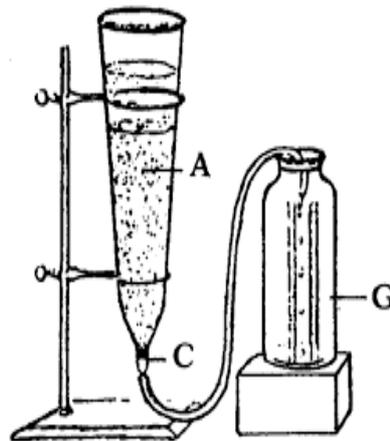
Pada maserasi melingkar, penyarian tidak dapat dilaksanakan secara sempurna, karena pemindahan massa akan berhenti bila keseimbangan telah terjadi masalah ini dapat diatasi dengan maserasi melingkar bertingkat (M.M.B), yang akan didapatkan :

- a. Serbuk simplisia mengalami proses penyarian beberapa kali, sesuai dengan bejana penampung. Pada contoh di atas dilakukan 3 kali, jumlah tersebut dapat diperbanyak sesuai dengan keperluan.
- b. Serbuk simplisia sebelum dikeluarkan dari bejana penyari, dilakukan penyarian dengan cairan penyari baru. Dengan ini diharapkan agar memberikan hasil penyarian yang maksimal.
- c. Hasil penyarian sebelum diuapkan digunakan dulu untuk menyari serbuk simplisia yang baru, hingga memberikan sari dengan kepekatan yang maksimal.
- d. Penyarian yang dilakukan berulang-ulang akan mendapatkan hasil yang lebih baik dari pada yang dilakukan sekali dengan jumlah pelarut yang sama (Anonim. 2011).

Metode Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel

senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu.



Gambar 7. Metode perkolasi

Metode Soxhlet

Metode Soxhlet ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux.



Gambar 8. Metode Soxhlet

Keuntungan dari metode ini adalah proses ekstraksi yang kontinyu, sampel terekstraksi oleh pelarut murni hasil kondensasi sehingga tidak membutuhkan banyak pelarut dan tidak memakan banyak waktu. Kerugiannya adalah senyawa yang bersifat termolabil dapat terdegradasi karena ekstrak yang di peroleh terus-menerus berada pada titik didih (Mukhriani, 2014).

beberapa teknik untuk ekstraksi minyak atsiri telah dikembangkan. Metode ini meliputi: ekspresi, distilasi uap, ekstraksi dengan pelarut mudah menguap dan ekstraksi oleh superkritis CO₂. Jenis ekstraksi proses secara langsung mempengaruhi kualitas minyak esensial dan hasil ekstraksi. Hydrodistillation adalah salah satu metode utama yang direkomendasikan oleh standar untuk memiliki ekstrak yang dapat diklasifikasikan sebagai minyak esensial (Yuli Witono,2007).

Ada juga Enzim protease yang dapat dapat memecah globula-globula protein yang menyelimuti minyak sehingga dapat mempercepat proses pembuatan minyak kelapa murni tanpa mengurangi manfaat dan kualitas minyak kelapa murni yang dihasilkan. Santan sebagai bahan baku dari minyak kelapa merupakan suatu sistem emulsi minyak dalam air. Salah satu agen pengemulsi yang berperan penting dalam sistem tersebut adalah protein. Melalui proses pemecahan protein dalam sistem emulsi santan kelapa, maka antar globula minyak atau lemak akan saling bergabung. Enzim protease bersifat sebagai destabilizer, yakni mampu menghidrolisis misel santan kelapa yang menyelubungi globula-globula minyak sehingga sistem emulsi tidak stabil. Dengan pecahnya misel santan maka antar globula minyak akan bergabung dan membentuk lapisan yang mudah dipisahkan (Yuli Witono,2007) .

Pada awalnya, hasil panen meningkat cepat, mencirikan minyak esensial diekstrak diperoleh selama pertama 30 menit kemudian, hasil menstabilkan (Jalur horisontal), menandai berakhirnya ekstraksi prosedur, yang dicapai setelah 120 menit. Ekstraksi waktu dipilih untuk menjadi 90 min dan berpadanan dengan waktu Kapan lagi tetes minyak yang diamati dalam distilat. Distilasi dari daun *Eucalyptus citriodora* Uap menghasilkan minyak berwarna kuning pucat (menghasilkan: 2.26%, w/w, kering dasar berat) (Tolba Hadjer, 2017).

Dalam Proses ekstraksi tanaman adalah metode maserasi dingin dilakukan Perry et al. Memang, 1 k g bubuk daun tanaman dimaserasi di 3 L heksana selama 3 hari dalam stoples kaca (5 L) dan maserasi berubah dua kali sehari. Kemudian maserasi adalah sehingga menghasilkan melalui Whatman No.1 filter paper untuk mendapatkan heksana Filtrat dan residu. Kemudian, residu adalah kering dan kemudian dimaserasi di 3L aseton dan diproses seperti yang dijelaskan sebelumnya untuk mendapatkan Filtrat aseton dan residu. Akhirnya, residu kering adalah dimaserasi di 3 L metanol pelarut seperti yang dijelaskan sebelumnya untuk mendapatkan metanol Filtrat dan residu. Filtrat setiap yang terkonsentrasi secara terpisah menggunakan rotavapor (BÜCHI R-124) untuk memperoleh heksana, aseton dan metanol ekstrak. Ekstrak tanaman kering yang disimpan di -4°C hingga untuk pemutaran fitokimia dan uji hayati (Abdoulaye Mahama, 2018).

Sifat Fisik

Sifat fisik merupakan sifat kareteristik dari fisik suatu bahan, Minyak atsiri sebagai bahan wewangian, penyedap masakan dan obat-obatan sudah dipergunakan sejak lama. Minyak atsiri, minyak yang mudah menguap atau terbang merupakan senyawa yang berwujud cairan atau padatan yang memiliki komposisi

maupun titik didih yang beragam, Minyak atsiri dapat diperoleh dari bagian tanaman meliputi akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga (Sastrohamidjojo, 2004).

Minyak atsiri pada tanaman mempunyai 3 fungsi yaitu membantu proses penyerbukan dengan menarik beberapa jenis serangga atau hewan, mencegah kerusakan tanaman oleh serangga atau hewan lain dan sebagai cadangan makanan dalam tanaman. Minyak atsiri merupakan salah satu hasil sisa proses metabolisme dalam tanaman, yang terbentuk karena reaksi antara berbagai persenyawaan kimia dalam tanaman. Minyak tersebut disintesa dalam sel kelenjar pada jaringan tanaman dan ada juga yang terbentuk dalam pembuluh resin (ketaren, 1985).

Analisis kualitas Indeks Bias dilakukan terhadap minyak hasil penyulingan sejumlah contoh daun kayu putih yang berasal dari TN Wasur (Merauke). Penyulingan dilakukan dengan metode uap dengan ketel berkapasitas 12 kg daun kayu putih segar. Penyulingan berlangsung selama 4-5 jam dan setiap 30 menit minyak kayu putih hasil penyulingan dikumpulkan secara kumulatif. Penyulingan minyak kayu putih berikut pengujian hasil (analisis) berturut-turut dilakukan di Laboratorium Hasil Hutan Non Kayu dan Laboratorium Pengujian Penelitian Terpadu Universitas Gadjah Mada (Yogyakarta). Analisis kualitas minyak kayu putih mengacu pada prosedur SNI 06-3954-2006, yaitu berat jenis (BJ), indeks bias, kelarutan dalam alkohol, putaran optik dan kadar sineol. Hasil analisis selanjutnya dibandingkan dengan standar (SNI). Selain itu dihitung pula rendemen minyak kayu putih, karena bermanfaat dan terkait dengan kelayakan finansial pengembangannya (Mulyadi, 2005).

Ukuran Partikel

Eucalyptus dapat diekstrak dari bahan bakunya dipengaruhi oleh ukuran partikel bahan dan lama ekstraksi. Hal tersebut telah terbukti pada temulawak dengan ukuran partikel bahan 40 dan 60 mesh dan lama ekstraksi 4, 6 dan 8 jam. Rendemen tertinggi dihasilkan pada ukuran partikel bahan 60 mesh dan lama ekstraksi 6 jam dengan menggunakan pelarut etanol (Sembiring et al., 2006).

Pada penelitian ini ukuran partikel bahan yang digunakan adalah 40 dan 60 mesh dan lama ekstraksi yang dilakukan adalah 3, 5 dan 7 jam. Lama ekstraksi pada bahan baku akan berkaitan dengan karakteristik bahan baku yang bersangkutan seperti ukuran partikel bahan, karena semakin lama ekstraksi semakin lama kontak antara bahan dengan pelarut dan semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut sampai pada batas senyawa yang diekstrak habis dalam bahan (Ariyani., *dkk* 2014).

Faktor yang mempengaruhi efektifitas kelarutan adalah jangka waktu sampel kontak dengan cairan pengekstraksi (waktu ekstraksi) dan perbandingan antara ukuran partikel sampel terhadap cairan pengekstraksi (ukuran partikel). Penelitian Denni *dkk*, 2012 mengenai kandungan total fenol yang diekstraksi dengan metode metode ultrasonik dengan variasi suhu dan waktu menyatakan bahwa semakin lama waktu ekstraksi dengan ultrasonik maka perolehan kadar senyawa fenolik yang diperoleh semakin tinggi. Penelitian yang telah dilakukan Fakhrudin, 2011 mengenai karakteristik oleoresin jahe berdasarkan ukuran partikel menjelaskan bahwa simplisia dengan ukuran 20 mesh menghasilkan fenol oleoresin sebesar 3% dengan rendemen 8%. Pada ukuran sebesar 30 mesh menghasilkan fenol oleoresin sebesar 4% dengan rendemen 11,83%. Pada ukuran

sebesar 50 mesh menghasilkan fenol oleoresin sebesar 5,7% dengan rendemen 12,83%. Heat dan Reineccius (1986) mengatakan bahwa semakin kecil ukuran bahan maka semakin banyak sel-sel yang pecah sehingga semakin luas bidang kontak antara bahan dan pelarut. Berdasarkan penelitian di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa lama waktu getaran saat ekstraksi dan ukuran partikel simplisia berpengaruh terhadap kandungan fenol (Fakhrudin, 2011).

Pengaruh waktu pengadukan saat ekstraksi dan ukuran partikel sebagai contoh yaitu daun wungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff.) terhadap kadar polifenol dan aktivitas antioksidan belum diketahui, oleh karena itu pada penelitian ini diteliti mengenai pengaruh waktu pengocokan dan ukuran partikel terhadap kadar polifenol dan aktivitas antioksidan daun wungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff.). Penelitian Farah (2008) menyatakan bahwa cairan penyari etanol 70% merupakan pelarut yang optimum dalam penarikan senyawa flavonoid dalam Daun Jati Belanda. Flavonoid termasuk ke dalam golongan polifenol, oleh karena itu dalam penelitian ini untuk menarik polifenol dari daun wungu (*Graptophyllum pictum* L.Griff.) digunakan etanol 70% sebagai pengekstraksi (Deni, 2012)

Pada penelitian ini dilakukan untuk menentukan pengaruh waktu pengadukan (0,5, 1, 2 dan 3 jam) dan ukuran partikel (mesh 20, 30, 40 dan 50) terhadap kadar polifenol pada daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.). mengalir sampai bersih, dan ditiriskan untuk membebaskan dari partikel-partikel air. Daun yang telah bersih dan bebas dari air cucian dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu $\pm 450C$, setelah simplisia kering, kemudian disortasi untuk bagian- bagian yang tidak dapat dibersihkan pada saat sortasi sebelumnya.

Kualitas yang diuji adalah berat jenis, Rendemen minyak E.pellita diperoleh dengan membandingkan hasil minyak yang diperoleh dari hasil destilasi dengan bahan baku daun E. pellita yang digunakan. Jumlah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destiasi daun yang disimpan selama 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 hari bervariasi diketahui adanya variasi nilai rendemen minyak atsiri E. pellita dengan waktu penyimpanan daun yang berbeda. Rendemen paling besar diperoleh setelah daun E.pellita disimpan selama 3 hari yaitu 0,4593%, dan paling kecil setelah daun disimpan selama 6 hari yaitu 0,0016% (Shahidi, 2016).

Kandungan minyak E.pellita semakin meningkat pada penyimpanan daun hari pertama, kedua dan ketiga. Hal ini dimungkinkan oleh kadar air yang tinggi di dalam daun E. pellita yang mengalami waktu penyimpanan pendek yang menyebabkan jumlah daun yang sedikit pada berat yang sama jika dibandingkan dengan daun yang mengalami waktu penyimpanan yang panjang. Pada saat penyimpanan, terjadi penguapan air yang menyebabkan menurulkannya berat daun pada jumlah yang sama (Lukman daru et al., 2004).

Adsorpsi

Adsorpsi adalah suatu proses yang terjadi ketika suatu fluida cairan atau pun gas, terikat kepada suatu padatan atau cairan (zat penjerap, adsorben) dan akhirnya membentuk suatu lapisan tipis atau film (zat terjerap, adsorbat) pada permukaannya. Berbeda dengan adsorpsi yang merupakan penyerapan fluida oleh fluida lainnya dengan membentuk suatu larutan.

Definisi lain menyatakan adsorpsi sebagai suatu peristiwa penyerapan pada lapisan permukaan atau antar fasa, di mana molekul dari suatu materi terkumpul pada bahan pengadsorpsi atau adsorpsi. Adsorpsi dibedakan menjadi

dua jenis, yaitu adsorpsi fisika (disebabkan oleh gaya Van Der Waals (penyebab terjadinya kondensasi gas untuk membentuk cairan) yang ada pada permukaan adsorbens) dan adsorpsi kimia (terjadi reaksi antara zat yang diserap dengan adsorben, banyaknya zat yang teradsorpsi tergantung pada sifat khas zat padatnya yang merupakan fungsi tekanan dan suhu) (Mc Cabe et al, 1989).

Berhubungan dengan gaya Van der Waals. Apabila gaya tarik menarik antara zat terlarut dengan adsorben lebih besar dari gaya tarik menarik antara zat terlarut dengan pelarutnya, maka zat yang terlarut akan diadsorpsi pada permukaan adsorben. Adsorpsi ini mirip dengan proses kondensasi dan biasanya terjadi pada temperatur rendah. Pada proses ini gaya yang menahan molekul fluida pada permukaan solid relatif lemah dan besarnya sama dengan gaya kohesimolekul pada fase cair (gaya van der waals) mempunyai derajat yang sama dengan panas kondensasi dari gas menjadi cair, yaitu sekitar 2.19-21.9 kg/mol. Keseimbangan antara permukaan solid dengan molekul fluida biasanya cepat tercapai dan bersifat reversibel. Adsorpsi dapat memurnikan suatu larutan dari zat-zat pengotorannya.

Adsorpsi kimia

Yaitu reaksi yang terjadi antara zat padat dengan zat terlarut yang teradsorpsi. Adsorpsi ini bersifat spesifik dan melibatkan gaya yang jauh lebih besar dari pada adsorpsi fisika. Panas yang dilibatkan adalah sama dengan panas reaksi kimia. Menurut Langmuir, molekul teradsorpsi ditahan pada permukaan oleh gaya valensi yang tipenya sama dengan yang terjadi antara atom-atom dalam molekul. Karena adanya ikatan kimia maka pada permukaan adsorben akan terbentuk suatu lapisan, di mana terbentuknya lapisan tersebut akan menghambat

proses penyerapan selanjutnya oleh bantuan adsorben sehingga efektifitasnya berkurang.

Faktor–Faktor yang Mempengaruhi Adsorpsi

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi proses adsorpsi, yaitu:

1. Agitation (Pengadukan).

Tingkat adsorpsi dikontrol baik oleh difusi film maupun difusi pori, tergantung pada tingkat pengadukan pada system.

2. Karakteristik Adsorban (Karbon Aktif)

Ukuran partikel dan luas permukaan merupakan karakteristik penting karbon aktif sesuai dengan fungsinya sebagai adsorban. Ukuran partikel karbon mempengaruhi tingkat adsorpsi. Tingkat adsorpsi naik dengan adanya penurunan ukuran partikel.

3. Kelarutan Adsorbat

Senyawa terlarut memiliki gaya tarik-menarik yang kuat terhadap pelarutnya sehingga lebih sulit diadsorpsi dibandingkan senyawa tidak larut.

1. Ukuran Molekul Adsorbat

Tingkat adsorpsi pada aliphatic, aldehyde, atau alkohol biasanya naik diikuti dengan kenaikan ukuran molekul. Hal ini dapat dijelaskan dengan kenyataan bahwa gaya tarik antara karbon dan molekul akan semakin besar ketika ukuran molekul semakin mendekati ukuran pori karbon. Tingkat adsorpsi tertinggi terjadi jika pori karbon cukup besar untuk dilewati oleh molekul.

2. pH

Asam organik lebih mudah teradsorpsi pada pH rendah, sedangkan adsorpsi basa organik efektif pada pH tinggi.

3. Temperatur

Tingkat adsorpsi naik diikuti dengan kenaikan temperatur dan turun diikuti dengan penurunan temperatur (Bernasconi et al, 1995)

Berat Jenis

Nilai berat jenis merupakan salah satu kriteria penentuan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Jika dibandingkan dengan minyak kayu putih berdasarkan standar SNI 01-5009.11- 2001, maka dapat diketahui minyak kayu putih memiliki berat jenis 0,9-0,93 sedangkan berat jenis yang didapat dari hasil pengujian minyak E.pellita dari daun yang disimpan 1,2 dan 3 hari (0,90- 0,91) masuk kedalam standar SNI minyak kayu putih. Berat jenis minyak E.pellita dari daun yang disimpan 4,5 dan 6 hari sebesar 0,94-0,98 dan memiliki nilai yang lebih besar dari standar SNI minyak kayu putih. Apabila nilai berat jenis dari minyak terlalu tinggi atau terlalu rendah, dapat dipastikan adanya senyawa lain yang tidak seharusnya berada di minyak tersebut. Selain itu adanya kotoran yang masuk ke dalam minyak atsiri akan mempengaruhi perubahan berat jenis (Siarudin dan Widiyanto, 2014).

Nilai berat jenis minyak atsiri didefinisikan sebagai perbandingan antara berat minyak dengan berat air pada volume air yang sama dengan volume minyak pada yang sama pula. Berat jenis minyak E.pellita pada beberapa lama penyimpanan daun diketahui berat jenis minyak dari destilasi daun E.pellita sebesar 0,90 – 0,98. Berat jenis semakin meningkat dengan semakin lamanya daun E. pellita disimpan. Berat jenis minyak E. pellita hampir sama dengan

minyak Eucalyptus lain yaitu Eucalyptus deglupta sebesar 0,89 (Lumkandaru et al., 2004),

Rendemen

Dalam kimia, rendemen kimia, rendemen reaksi, atau hanya rendemen merujuk pada jumlah produk reaksi yang dihasilkan pada reaksi kimia. Rendemen absolut dapat ditulis sebagai berat dalam gram atau dalam mol (rendemen molar). Rendemen relatif yang digunakan sebagai perhitungan efektivitas prosedur, dihitung dengan membagi jumlah produk yang didapatkan dalam mol dengan rendemen teoretis dalam mol. Untuk mendapatkan rendemen persentase, kalikan rendemen fraksional dengan 100%. Satu atau lebih reaktan dalam reaksi kimia sering digunakan berlebihan. Rendemen teoritisnya dihitung berdasarkan jumlah mol pereaksi pembatas. Untuk perhitungan ini, biasanya diasumsikan hanya terdapat satu reaksi yang terlibat.

Nilai rendemen kimia yang ideal (rendemen teoretis) adalah 100%, sebuah nilai yang sangat tidak mungkin dicapai pada prakteknya. menghitung persen rendemen yaitu dengan menggunakan persamaan berikut persen rendemen = berat hasil/berat rendemen dibagi berat sampel dikali 100% (Prentice Hall, 1996).

Rendemen minyak Eukaliptus diperoleh dengan membandingkan hasil minyak yang diperoleh dari hasil destilasi dengan bahan baku daun E. pellita yang digunakan. Jumlah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destiasi daun yang disimpan selama 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 hari bervariasi (Astiani et al., 2014).

Rendemen simplisia dapat dihitung dengan cara :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{Bobot Akhir}}{\text{Bobot Awal}} \times 100\%$$

Organoleptik

Uji organoleptik atau uji indra atau uji sensori merupakan cara pengujian dengan menggunakan indra manusia sebagai alat utama untuk pengukuran daya penerimaan terhadap produk. Pengujian organoleptik mempunyai peranan penting dalam penerapan mutu. Pengujian organoleptik dapat memberikan indikasi kebusukan, kemunduran mutu dan kerusakan lainnya dari produk (Soekarto ST. 2008).

Dalam penilaian bahan pangan sifat yang menentukan diterima atau tidak suatu produk adalah sifat indrawinya. Penilaian indrawi ini ada lima tahap yaitu pertama menerima bahan, mengenali bahan, mengadakan klarifikasi sifat-sifat bahan, mengingat kembali bahan yang telah diamati dan menguraikan kembali sifat indrawi produk tersebut. Indra yang digunakan dalam menilai sifat indrawi suatu produk adalah: Penglihatan yang berhubungan dengan warna kilap, viskositas, ukuran dan bentuk, volume kerapatan dan berat jenis, panjang lebar dan diameter serta bentuk bahan.

Indra peraba yang berkaitan dengan struktur, tekstur dan konsistensi. Struktur merupakan sifat dari komponen penyusun, tekstur merupakan sensasi tekanan yang dapat diamati dengan mulut atau perabaan dengan jari dan konsistensi merupakan tebal, tipis dan halus.

Indra pembau juga dapat digunakan sebagai suatu indikator terjadinya kerusakan pada produk, misalnya ada bau busuk yang menandakan produk

tersebut telah mengalami kerusakan, indra pengecap, dalam hal kepekaan rasa, maka rasa manis, asin, asam, pahit dan gurih. Serta sensasi lain seperti pedas, astringent (sepat).

Syarat agar dapat disebut uji organoleptik adalah: ada contoh yang diuji yaitu benda perangsang, ada panelis sebagai pemroses respon ada pernyataan respon yang jujur, yaitu respon yang spontan, tanpa penalaran, imaginasi, asosiasi, ilusi atau meniru orang lain (Soekarto ST. 2008).

Indeks Bias

Indeks bias suatu zat adalah perbandingan kecepatan cahaya dala udara dan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Jika cahaya melewati media kurang padat ke media lebih padat maka sinar akan membelok atau membias dari garis normal. Indeks bias berguna untuk identifikasi suatu zat dan deteksi ketidakmurnian, penentuannya menggunakan alat refraktometer (ketaren, 1985).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Bahan Penelitian

- Daun *Eucalyptus grandis*
- Enzim selulosa
- Aquades

Alat Penelitian

- Timbangan
- Pisau
- Wadah
- Oven
- Ayakan 20, 40, 60, 80 Mesh
- Pipet Tetes
- Gelas Ukur
- Thermometer
- Piknometor
- Tabung Reaksi

Metode Penelitian

Metode penelitian dilakukan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dan terdiri dari 2 faktor.

Faktor I: Pengaruh ukuran partikel (U) :

U1 = 20 Mesh

U2 = 40 Mesh

U3 = 60 Mesh

U4 = 80 Mesh

Faktor II: Pengaruh waktu maserasi (M) yang terdiri dari empat taraf yaitu:

M1 = 1 hari

M2 = 2 hari

M3 = 3 hari

M4 = 4 hari

Kombinasi perlakuan adalah (Tc) = 4 x 4, dengan jumlah ulangan minimum perlakuan (n) adalah :

$$Tc (n-1) \geq 15$$

$$16 (n-1) \geq 15$$

$$16 n \geq 31 n \geq 1,94 \dots \text{di bulatkan menjadi } 2$$

untuk memperoleh ketelitian penelitian di lakukan ulangan sebanyak 2 kali

Model Rancangan Percobaan

Penelitian dilakukan dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan model :

$$\tilde{Y}_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana :

\tilde{Y}_{ijk} : Pengamatan dari faktor U dari taraf ke-i dan faktor M pada taraf ke-j dengan ulangan ke-k.

μ : Efek nilai tengah

α_i : Efek dari factor U pada taraf ke-i.

β_j : Efek dari faktor M pada taraf ke-j.

$(\alpha\beta)_{ij}$: Efek interaksi faktor U pada taraf ke-i dan faktor M pada taraf ke-j.

ϵ_{ijk} : Efek galat dari faktor U pada taraf ke-i dan faktor M pada taraf ke-j dalam ulangan ke-k.

Pelaksanaan Penelitian

Pada pelaksanaan penelitian dilakukan tahap – tahap ekstraksi daun eucalyptus secara enzimatis

- Daun eukaliptus di keringkan sampai berat konstan
- Diblender sampai halus
- Disaring Menggunakan Mesh ukuran 20, 40, 60, 80 Mesh
- Diamati hasil waktu maserasi
- Pengamatan

Parameter Pengamatan

Pengamatan dan analisa parameter meliputi :

Berat Jenis

Nilai berat jenis minyak atsiri didefinisikan sebagai perbandingan antara berat minyak dengan berat air pada volume air yang sama dengan volume minyak pada yang sama pula (Siarudin dan Widiyanto, 2014). Cara pengujian berat jenis

1. Piknometer dicuci dan dibersihkan lalu dibilas dengan ethanol dan dietil eter
2. Kemudian dikeringkan bagian dalam piknometer dengan udara kering
3. Dimasukkan piknometer dalam timbangan, biarkan selama 3 menit dan timbang
4. Piknometer diisi dengan aquadest, hindari timbulnya gelembung.
5. Piknometer dimasukkan dalam timbangan, biarkan selama 3 menit, lalu ditimbang
6. Dikongkan piknometer dan dibilas dengan ethanol dan dietil eter
7. Dikeringkan bagian dalam piknometer dengan udara kering
8. Piknometer diisi dengan sampel, hindari timbulnya gelembung
9. Piknometer dimasukkan dalam timbangan, biarkan selama 3 menit dan ditimbang

Dalam suatu persamaan berat jenis sering ditulis dalam bentuk rumus:

$$s = w/v$$

keterangan :

S= berat jenis benda

w = berat benda

V = volume benda

Indeks Bias

Indeks bias merupakan ukuran yang menunjukkan pembiasan cahaya antara minyak dan udara. Indeks bias menunjukkan kemampuan seluruh komponen minyak atsiri untuk membiaskan cahaya yang terlewat dan merubah arah sudut dari garis normal (Safwani, 2015). Cara pengujian indeks bias yaitu. Ukur indeks bias sampel menggunakan refraktometer dengan ketelitian 0,0002.

$$n = \frac{c}{v}$$

Keterangan:

n = indeks bias mutlak medium

c = cepat rambat cahaya di ruang hampa (3×10^8 m/s)

v = cepat rambat cahaya di dalam medium.

Rendemen

Rendemen minyak Eukaliptus diperoleh dengan membandingkan hasil minyak yang diperoleh dari hasil destilasi dengan bahan baku daun E. pellita yang digunakan. Jumlah minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destiasi daun yang disimpan selama 1, 2, 3, 4, 5 dan 6 hari bervariasi (Astiani et al.,2014).

Rendemen simplisia dapat dihitung dengan cara :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{—————}}{\text{—————}} \times 100\%$$

Organoleptik (Warna)

Uji organoleptik aroma terhadap tempe biji karet dilakukan dengan uji kesukaan atau uji hedonik (Soekarto, 2010). Pengujian dilakukan dengan cara dicoba oleh 10 orang panelis yang melakukan penilaian dengan skala seperti tabel berikut :

Tabel 2. Skala uji organoleptik terhadap minyak *Eucalyptus grandis*

Skala Hedonik	Skala Numerik
Sangat Suka	4
Suka	3
Agak Suka	2
Tidak Suka	1

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian dan uji statistik, secara umum menunjukkan bahwa waktu maserasi dan ukuran partikel berpengaruh terhadap Analisis sifat fisika minyak atsiri dan daun *Eucalyptus grandis* yang diamati.

A. Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Data-rata hasil pengamatan pengaruh Waktu maserasi dan Ukuran partikel terhadap masing-masing parameter dapat diketahui pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Pengaruh Waktu maserasi terhadap parameter Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*.

Waktu maserasi	Rendemen (%)	Bobot jenis (g/ml)	Indeks bias (m/s)	Aroma
M ₁ =48 jam	0,142	0,863	1,258	3,263
M ₂ =72jam	0,181	0,865	1,267	3,375
M ₃ =96jam	0,202	0,874	1,351	3,450
M ₄ =120jam	0,142	0,883	1,363	3,550

Tabel diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi Waktu maserasi, maka bobot jenis, Indeks bias dan aroma maka akan semakin meningkat. Sedangkan pada Rendemen akan berfluktuatif. Rata-rata hasil pengamatan pengaruh Ukuran partikel terhadap parameter dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 4. Pengaruh Ukuran partikel terhadap Parameter Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*.

Ukuran Partikel	Rendemen (%)	Bobot jenis (g/ml)	Indeks bias (m/s)	Aroma
U ₁ = 20Mesh	0,163	0,869	1,3065	3,263
U ₂ = 40Mesh	0,157	0,870	1,3088	3,363
U ₃ = 60Mesh	0,184	0,872	1,3105	3,425
U ₄ = 80Mesh	0,228	0,874	1,3123	3,488

Tabel diatas dapat menunjukan bahwa semakin lama waktu maserasi, maka bobot jenis, rendemen dan aroma semakin meningkat. Sedangkan Indeks bias menunjukkan penurunan seiring bertambahnya waktu maserasi.

Hasil uji statistik dan pembahasan dari pengaruh Waktu maserasi dan Ukuran partikel terhadap parameter yang diamati dapat dilihat secara terperinci dibawah ini :

Rendemen

Pengaruh waktu maserasi

Berdasarkan daftar sidik ragam (Lampiran 1) dapat dilihat bahwa Lama Waktu Maserasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter Rendemen. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 5.

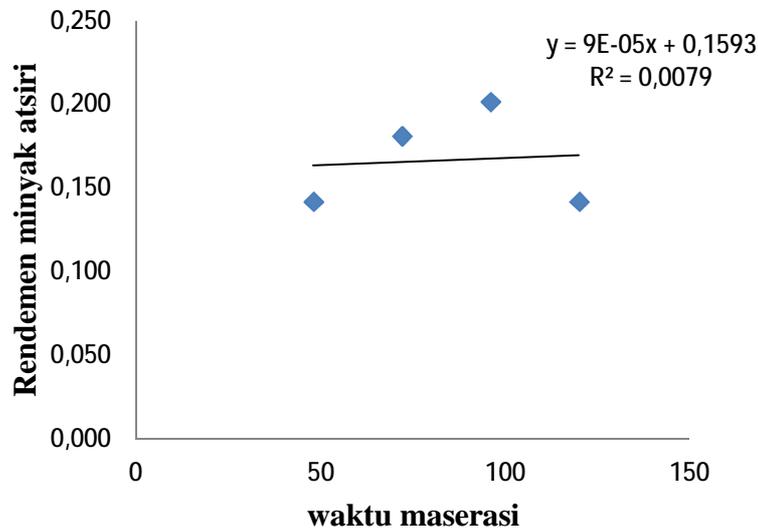
Tabel 5. Uji Pengaruh Lama waktu maserasi Terhadap Rendemen Minyak atsiri Daun *Eucalyptus grandis*.

Jarak	LSR		Perlakuan M	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	48	0,142	c	C
2	0,00094	0,00129	72	0,181	b	B
3	0,00098	0,00136	96	0,202	a	A
4	0,00101	0,00139	120	0,142	c	C

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%.

Berdasarkan Tabel 5 dapat diketahui bahwa perlakuan M_1 berbeda sangat nyata terhadap perlakuan M_2 , M_3 tidak berbeda sangat nyata dengan M_4 . Perlakuan M_2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan M_3 dan M_4 . Perlakuan M_3 berbeda sangat nyata dengan perlakuan M_4 . Nilai rataaan Rendemen tertinggi berada pada perlakuan M_3 yaitu sebesar 0,202% sedangkan nilai terendah berada

pada perlakuan M_1 yaitu sebesar 0,142%. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 10.



Gambar 10. Grafik Pengaruh Waktu maserasi terhadap rendemen Minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa Rendemen yang dihasilkan dari perlakuan Lama waktu maserasi 48 jam sampai ke perlakuan 96 jam mengalami peningkatan. Pada lama waktu maserasi 120 jam Mengalami Penurunan. Pada lama waktu maserasi 48 jam berada pada titik 0,142% kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada lama waktu maserasi 72 jam pada titik 0,181%. Hal ini menunjukkan bahwa nilai Rendemen yang diperoleh dari keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,142% sampai 0,202% dan rata-ratanya yaitu 0,166 %. Nilai tersebut tidak berbeda jauh dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Fadli, (2015) yakni sebesar 0,93%.

Grafik diatas menunjukkan bahwa hasil terendah berada pada perlakuan 120 jam. Hal ini disebabkan karena perlakuan 120 jam merupakan perlakuan dengan waktu yang paling lama, sedangkan puncak tertinggi rendemen yaitu pada

waktu 100 jam telah tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel daun eukaliptus sehingga bila waktu maserasi diteruskan akan menyebabkan terjadi penguapan air dan senyawa volatile minyak atsiri maka perlakuan 120 jam memiliki Rendemen yang terendah. Hal ini dikuatkan oleh hasil penelitian Lukmandaru karena semakin lama waktu maserasi menyebabkan minyak atsiri menjadi menguap. Lukmandaru (2004). Rendahnya rendemen pada waktu 120 jam dapat juga dikaitkan dengan kinetika adsorpsi yaitu laju penyerapan suatu fluida oleh absorben dalam jangka waktu tertentu, karena waktu maserasi yang terlalu lama 120 jam menyebabkan laju penyerapan absorben semakin lemah sehingga rendemen semakin rendah.

Pengaruh Ukuran Partikel

Berdasarkan daftar sidik ragam (Lampiran 1) dapat dilihat bahwa Ukuran Partikel memberikan pengaruh sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter Rendemen. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan menggunakan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 6

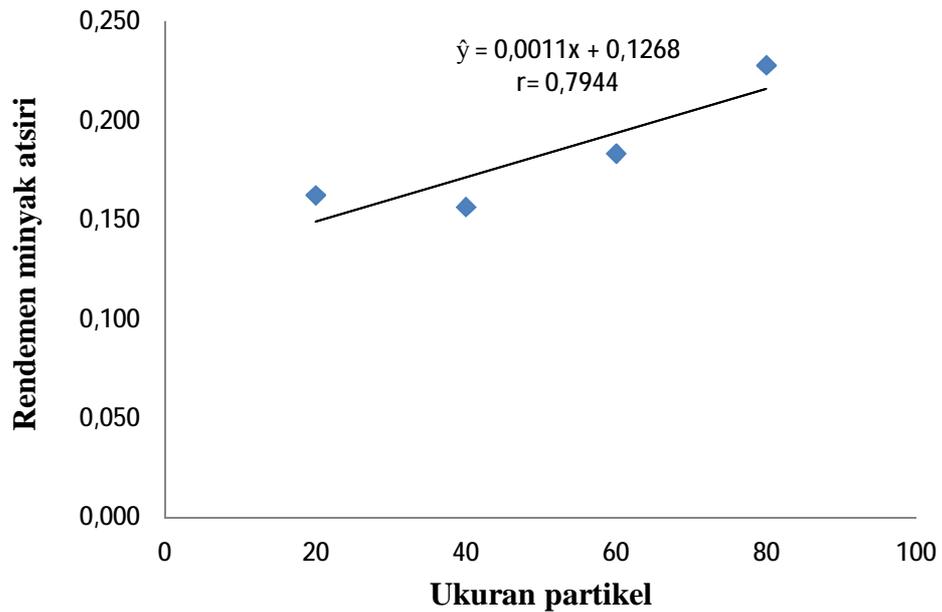
Tabel 6. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Ukuran Partikel terhadap Parameter Rendemen.

Jarak	LSR		Perlakuan	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			U	0,05
-	-	-	20	0,163	c	D
2	0,00094	0,00129	40	0,157	d	C
3	0,00098	0,00136	60	0,184	b	B
4	0,00101	0,00139	80	0,228	a	A

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%.

Berdasarkan Tabel 6 dapat diketahui bahwa Rendemen mengalami peningkatan seiring dengan jumlah ukuran partikel. Perlakuan U_1 berbeda sangat

nyata dengan perlakuan U₂, Perlakuan U₃ tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan U₄ dan perlakuan U₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan U₄. Nilai rata-rata Rendemen terendah Ukuran partikel berada pada perlakuan U₂ yakni 0,157%. Nilai tertinggi pada perlakuan U₄ yakni 0,228%. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 11.



Gambar 11. Grafik pengaruh ukuran partikel terhadap rendemen minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis*

Ukuran Partikel sangat berpengaruh dalam perlakuan Rendemen, Ukuran Partikel 80 mesh dengan hasil yang terbaik dalam waktu maserasi selama 40 jam dengan menggunakan Enzim selulose. Ukuran partikel yang digunakan yaitu 20 mesh, 40 mesh, 60 mesh dan 80 mesh dengan waktu masing-masing yang telah ditetapkan .

Lama maserasi pada bahan baku akan berkaitan dengan karakteristik bahan baku yang bersangkutan seperti ukuran partikel bahan, karena semakin

lama maserasi semakin lama kontak antara bahan dengan pelarut dan semakin kecil ukuran bahan yang digunakan maka semakin luas bidang kontak antara bahan dengan pelarut sampai pada batas senyawa yang diekstrak habis dalam bahan.

Interaksi Antara Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi Terhadap Rendemen Minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis*

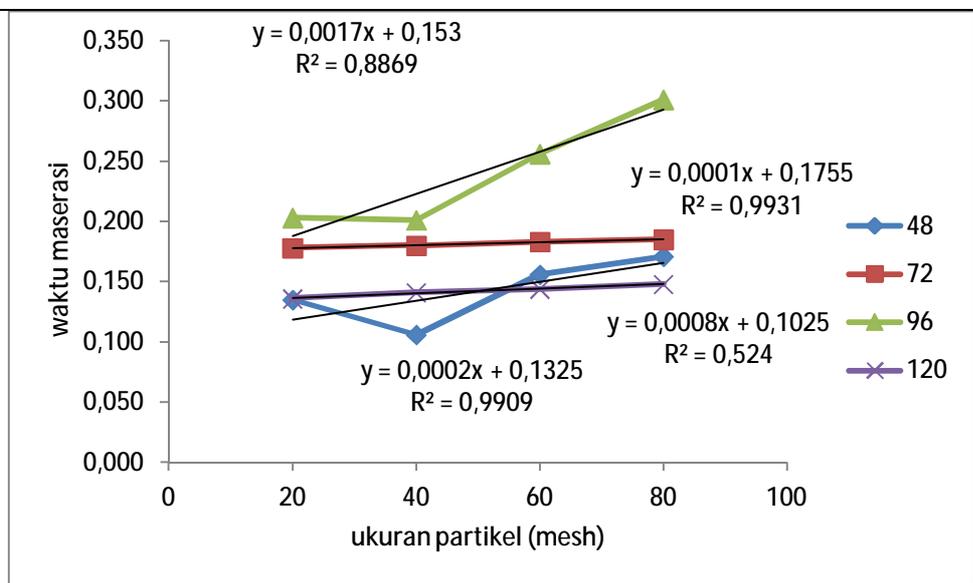
Berdasarkan daftar sidik ragam (lampiran 1) diketahui bahwa interaksi ukuran Partikel dan waktu maserasi terhadap rendemen Minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis* memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap Rendemen yang diperoleh. Hasil uji beda rata-rata pengaruh Ukuran partikel dan waktu maserasi terhadap rendemen terlihat pada tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Rata-rata pengaruh Ukuran Partikel dan Waktu Maserasi Terhadap Rendemen Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Jarak	LSR		Perlakuan	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	M1U1	0,13500	k	L
2	0,001875	0,00258	M1U2	0,10600	l	M
3	0,001969	0,00271	M1U3	0,15600	g	H
4	0,002019	0,00278	M1U4	0,17100	f	G
5	0,002062	0,00284	M2U1	0,17800	e	F
6	0,002087	0,00287	M2U2	0,18000	e	E
7	0,002106	0,00292	M2U3	0,18300	d	DE
8	0,002119	0,00295	M2U4	0,18500	d	D
9	0,002131	0,00297	M3U1	0,20300	c	C
10	0,002144	0,00299	M3U2	0,20100	c	C
11	0,002144	0,00301	M3U3	0,25600	b	B
12	0,002150	0,00302	M3U4	0,30100	a	A
13	0,002150	0,00304	M4U1	0,13600	k	L
14	0,002156	0,00305	M4U2	0,14100	j	K
15	0,002156	0,00306	M4U3	0,14400	i	J
16	0,002162	0,00307	M4U4	0,14800	h	I

Keterangan. Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang

Berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%. Berdasarkan Tabel diatas dapat diketahui bahwa perlakuan Waktu Maserasi 96 jam dan ukuran partikel 80 mesh (M3U4) memperoleh nilai rendemen yang tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebesar 0,30100%. Sedangkan Nilai terendah yaitu pada perlakuan waktu maserasi 48 jam dan ukuran partikel 20 mesh (M1U2) sebesar 0,10600%. Hubungan interaksi antara Waktu maserasi dan Ukuran partikel terhadap rendemen yang dihasilkan dapat dilihat secara jelas pada gambar12.



Gambar 12. Grafik Hubungan Interaksi Waktu Maserasi Dan Ukuran Partikel terhadap Rendemen Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan gambar diatas diketahui bahwa seiring bertambah waktu maserasi, maka rendemen yang diperoleh antar masing-masing perlakuan akan berflutuaktif. Hal tersebut dapat dilihat dari grafik Interaksi bahwa hubungan Interaksi waktu maserasi dan ukuran Partikel terhadap rendemen minyak atsiri Daun *Eucalyptus grandis* dari perlakuan waktu maserasi 48 jam dan ukuran partikel 20 mesh (M1U1) memperoleh nilai rendemen yang diperoleh yaitu 0,13500%. Nilai tertinggi yaitu 0,30100% (M3U4), Kemudian terjadi penurunan

Nilai terendah yaitu pada perlakuan waktu maserasi 48 jam dan ukuran partikel 20 mesh (M1U2) sebesar 0,10600%.

Hal tersebut dapat diketahui bahwa nilai hubungan interaksi waktu maserasi dan ukuran Partikel terhadap rendemen minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis* yang didapat antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,1667% sampai 0,1663% atau jika dirata-ratakan yaitu 0,167%. Nilai tersebut sama dengan hasil penelitian yang dilaporkan oleh Fadli (2015) yakni 0,1668%.

Bobot Jenis

Pengaruh Waktu Maserasi

Berdasarkan daftar sidik ragam (Lampiran 2) dapat dilihat bahwa Pengaruh waktu maserasi memberikan pengaruh yang berbedasangat nyata ($P > 0,01$) terhadap parameter Bobot jenis. Tingkat Perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Uji Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Bobot jenis Minyak Atsiri dari

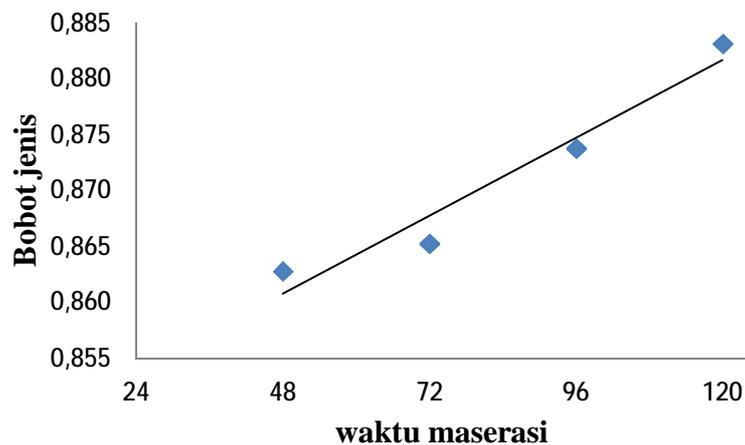
Daun *Eucalyptus grandis*

Jarak	LSR		perlakuan M	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	48	0,863	d	D
2	0,0000143	0,0000197	72	0,865	c	C
3	0,0000150	0,0000207	96	0,874	b	B
4	0,0000154	0,0000212	120	0,883	a	A

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%

Berdasarkan tabel dapat diketahui bahwa perlakuan M1 Berbeda sangat nyata terhadap perlakuan M2, M3 dan M1 berbeda sangat nyata dengan M4. Pada Perlakuan M2 dan perlakuan M4 berbeda sangat nyata dengan perlakuan M3 dan M1. Perlakuan M4 dan M2 sangat berbeda nyata dengan M3. Nilai rataan bobot

jenis tertinggi berada pada perlakuan M4 yaitu sebesar 0,883 g/ml sedangkan nilai terendah pada perlakuan M1 yaitu sebesar 0,863 g/ml. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada gambar 13.



Gambar 13. Grafik pengaruh Waktu maserasi Terhadap bobot jenis Minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan Gambar diatas dapat diketahui bahwa bobot jenis yang dihasilkan dari Waktu maserasi 48 jam sampai ke perlakuan 120 jam mengalami peningkatan. Pada waktu maserasi 48 jam bobot jenis berada pada titik 0,863 g/ml kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada waktu maserasi 120 jam menjadi 0,883 g/ml. Hal ini menunjukkan bahwa nilai bobot jenis yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,863 g/ml sampai 0,883 g/ml dan rata-ratanya 0,88 g/ml. Nilai tersebut tidak jauh berbeda dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Ratnaningsih (2018) dengan metode destilasi yakni sebesar 0,89 g/ml.

Gambar diatas menunjukkan bahwa Hasil terendah berada pada perlakuan waktu maserasi 48 jam. Hal ini disebabkan karena perlakuan dengan waktu maserasi 48 jam merupakan perlakuan dengan waktu terendah. Akibatnya,

senyawa lain (kotoran) yang ada pada minyak dapat menurunkan kualitas mutu minyak atsiri. Pengotoran dan lama waktu maserasi akan mempengaruhi perubahan bobot jenis. Adanya perlakuan waktu yang kurang terhadap minyak atsiri akan mempengaruhi perubahan bobott jenis (Widiyanto, 2014).

Pengaruh Ukuran Partikel

Berdasarkan daftar sidik ragam (Lampiran 2) dapat dilihat bahwa Ukuran partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter bobot jenis. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 9.

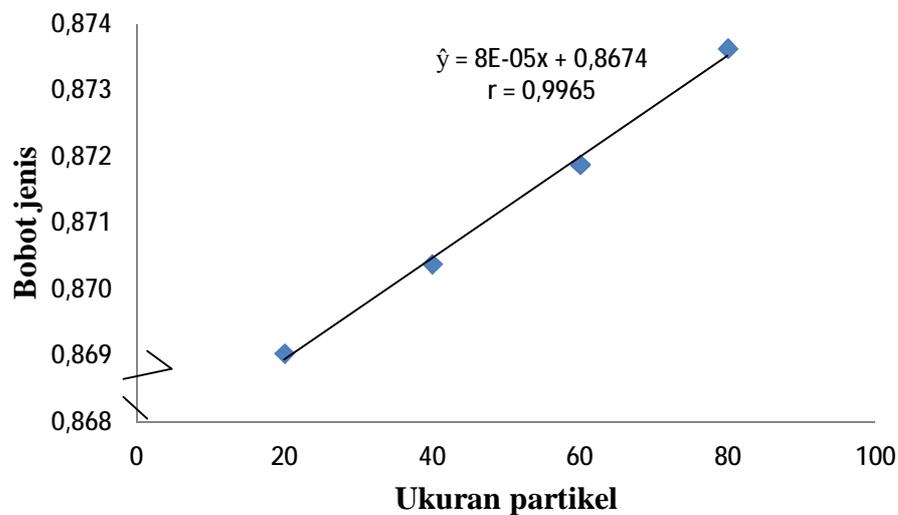
Tabel 9. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Ukuran Partikel Pada Parameter Bobot jenis Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*.

Jarak	LSR		Perlakuan U	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	20	0,869	c	D
2	0,0000143	0,0000197	40	0,870	c	C
3	0,0000150	0,0000207	60	0,872	b	B
4	0,0000154	0,0000212	80	0,874	a	A

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%.

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui bahwa Bobot jenis mengalami peningkatan seiring dengan jumlah Ukuran partikel. Tabel 9 menunjukkan bahwa perlakuan U_1 berbeda tidak nyata dengan perlakuan U_2 dan berbeda sangat nyata dengan perlakuan U_3 dan U_4 . Perlakuan U_2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan U_3 dan U_4 . Perlakuan U_3 berbeda sangat nyata dengan perlakuan U_4 . Nilai rataan Bobot jenis tertinggi berada pada perlakuan U_4 yaitu 0,874 g/ml sedangkan nilai terendah berada perlakuan U_1 yaitu sebesar 0,869 g/ml . Hal tersebut dapat dilihat pada Gambar .

Bobot jenis merupakan konstanta atau tetapan bahan yang bergantung pada suhu untuk padat, cair dan bentuk gas yang homogen. Bobot jenis juga dipengaruhi oleh besar atau kecilnya nilai kerapatan, semakin besar kerapatan, maka berat jenis juga semakin besar juga. Uji bobot jenis dilakukan mengetahui perbandingan zat udara terhadap bobot air dengan volume dari suhu yang sama (Ade, 2017)



Gambar 14. Grafik Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Bobot jenis Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan Gambar 14 dapat diketahui bahwa bobot jenis yang dihasilkan dari perlakuan 20 mesh sampai ke perlakuan 80 mesh mengalami peningkatan. Pada ukuran 20 mesh bobot jenis berada pada titik 0,869 g/ml. Kemudian terus terjadi peningkatan sampai pada perlakuan 80 mesh menjadi 0,874 g/ml. Hal ini menunjukkan bahwa nilai bobot jenis yang didapat antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,869 g/ml sampai 0,874 g/ml atau jika dirata-ratakan yaitu 0,871 g/ml.

Jika dibandingkan dengan standard minyak *Eucalyptus* menurut SNI 01-5009.11-2001, dapat diketahui minyak *Eucalyptus* memiliki kisaran bobot jenis

antara 0,900-0,930. Sedangkan bobot jenis yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* 0,869 g/ml-0,874 g/ml. Dari nilai bobot jenis ini menunjukkan bahwa bobot jenis yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* tidak berbeda jauh dengan minyak *Eucalyptus* menurut SNI 01-5009.11-2001.

Interaksi Antara Waktu Maserasi dan Ukuran Partikel terhadap Bobot Jenis Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan daftar sidik ragam (lampiran 2) diketahui bahwa interaksi Waktu maserasi dan Ukuran Partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap bobot jenis yang diperoleh. Hasil uji beda rata-rata pengaruh interaksi Antara Waktu maserasi dan Ukuran partikel terlihat pada

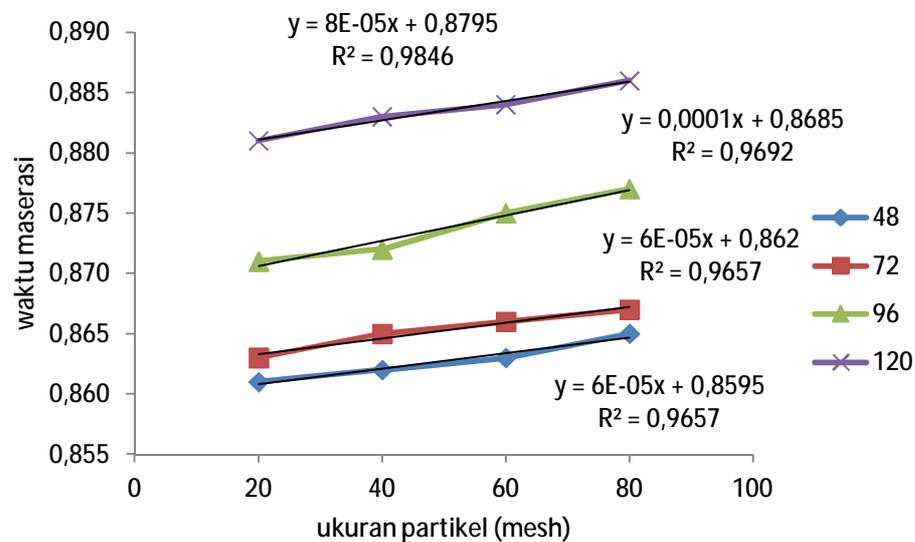
Tabel 10. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Interaksi Waktu maserasi dan Ukuran partikel terhadap Bobot jenis Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Jarak	LSR		Perlakuan	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	M1U1	0,861	L	K
2	0,0000286	0,0000393	M1U2	0,862	K	JK
3	0,0000300	0,0000413	M1U3	0,863	Jk	J
4	0,0000307	0,0000424	M1U4	0,865	I	I
5	0,0000314	0,0000432	M2U1	0,863	J	J
6	0,0000318	0,0000438	M2U2	0,865	I	HI
7	0,0000321	0,0000445	M2U3	0,866	Hi	GH
8	0,0000323	0,0000449	M2U4	0,867	H	G
9	0,0000325	0,0000453	M3U1	0,871	G	F
10	0,0000327	0,0000456	M3U2	0,872	G	F
11	0,0000327	0,0000459	M3U3	0,875	F	E
12	0,0000327	0,0000461	M3U4	0,877	E	D
13	0,0000327	0,0000463	M4U1	0,881	D	C
14	0,0000328	0,0000465	M4U2	0,883	C	C
15	0,0000328	0,0000466	M4U3	0,884	B	B
16	0,0000329	0,0000467	M4U4	0,886	A	A

keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%.

Berdasarkan tabel diatas, dapat diketahui bahwa perlakuan dengan Waktu maserasi sebesar 120 jam dan Ukuran partikel 80 mesh (M4U4) memperoleh nilai Bobot jenis yang tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebesar 0,886 g/ml. Sedangkan nilai terendah yaitu pada perlakuan dengan Waktu maserasi sebesar 48 jam dan Ukuran partikel (M1U1).

Hubungan interaksi antara Waktu maserasi dan Ukuran partikel terhadap Bobot jenis dapat dilihat secara jelas pada Gambar 15.



Gambar 15. Grafik Hubungan Interaksi Waktu Maserasi dan Ukuran Partikel terhadap Minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa seiring dengan lamanya waktu maserasi, maka angka Bobot jenis yang diperoleh antar masing-masing perlakuan akan berfluktuatif, hal tersebut dapat dilihat pada grafik antar perlakuan waktu maserasi. Pada perlakuan M₁U₁ bilangan bobot jenis diperoleh yaitu 0,861 g/ml, kemudian terjadi peningkatan pada perlakuan M₁U₄ yaitu 0,865 g/ml dan Terjadi penurunan pada perlakuan M₂U₁ yaitu 0,863 g/ml dan meningkat kembali pada angka 0,886 g/ml.

Namun jika seluruh perlakuan M_1 sampai dengan M_4 dirata-ratakan, maka Bobot jenis akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya Ukuran partikel. Sedangkan pada perlakuan Ukuran partikel tidak terjadi perbedaan dengan waktu maserasi bahwa banyaknya Waktu maserasi akan menghasilkan Bobot jenis yang berfluktuatif.

Ini dikarenakan pada Waktu maserasi yang lama akan meningkatkan kualitas minyak *Eucalyptus grandis*. Menurut Penelitian Widiyanto (2014). Mengenai Bobot jenis sangat berpengaruh dengan waktu maserasi yang lama sehingga mendapatkan kualitas minyak *Eucalyptus grandis*.

Indeks Bias

Pengaruh Waktu Maserasi

Berdasarkan daftar sidik ragam (Lampiran 3) dapat dilihat bahwa Waktu maserasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter Indeks bias. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 11.

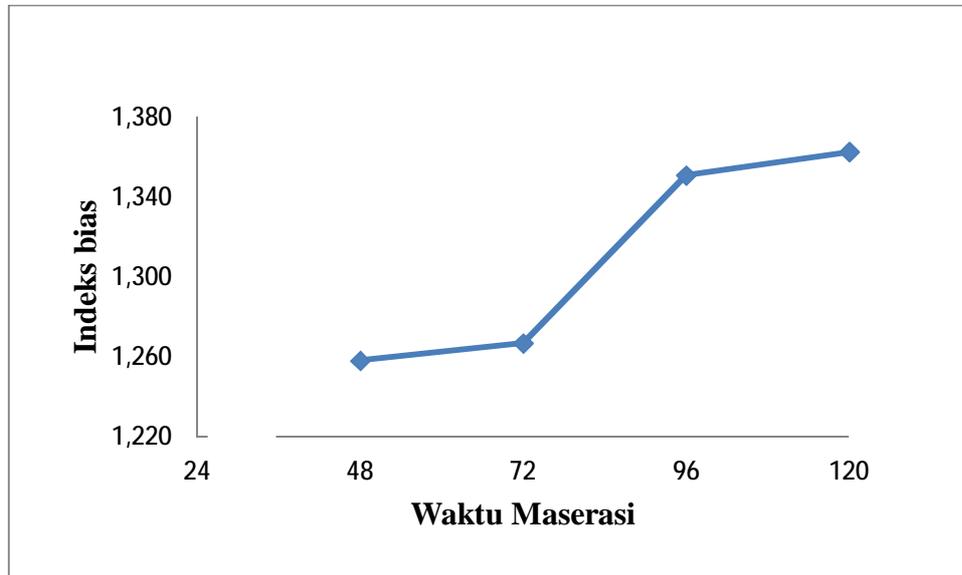
Tabel 11. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Waktu Maserasi terhadap Indeks Bias Minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis*.

Jarak	LSR		perlakuan M	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	48	1,258	d	D
2	0,00075	0,00103	72	1,267	c	C
3	0,00079	0,00109	96	1,351	b	B
4	0,00081	0,00111	120	1,363	a	A

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%.

Berdasarkan tabel diatas dapat diketahui bahwa perlakuan M_1 berbeda sangat nyata dengan perlakuan M_2 , M_3 dan M_4 . Perlakuan M_2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan M_3 dan M_4 . Perlakuan M_3 berbeda sangat nyata dengan

Perlakuan M₄. Nilai rata-rata Indeks Bias tertinggi berada pada perlakuan M₄ yaitu sebesar 1,363 g/ml. Sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan M₁ yaitu sebesar 1,258 g/ml. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada gambar 16.



Gambar 16. Grafik Pengaruh Waktu Maserasi terhadap Indeks Bias Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan Gambar 16 dapat diketahui bahwa Indeks bias yang diperoleh dari perlakuan 48 jam sampai ke perlakuan 120 jam mengalami peningkatan. Pada Waktu maserasi 48 jam Indeks bias berada pada titik 1,258. Kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada Waktu maserasi 120 jam menjadi 1,363. Hal ini menunjukkan bahwa nilai Indeks bias yang didapatkan keseluruhan perlakuan berkisar antara 1,258 sampai 1,363 g/ml dan dirata-ratakan yaitu 1,308 g/ml. Jika dibandingkan dengan standar Minyak *Eucalyptus* menurut SNI 01-5009.11-2001.

Gambar di atas menunjukkan bahwa hasil terendah berada pada perlakuan Waktu maserasi 48 jam. Hal ini disebabkan karena perlakuan Waktu maserasi 48 jam merupakan perlakuan dengan waktu yang sedikit sehingga tidak dapat

menguapkan Minyak atsiri dengan jumlah yang besar sehingga air mempengaruhi Nilai indeks bias dari minyak. Menurut Guenther (1998), Nilai indeks bias juga dipengaruhi dengan adanya air dalam kandungan minyak tersebut, semakin banyak kandungan air, semakin kecil indeks biasnya.

Pengaruh Ukuran Partikel

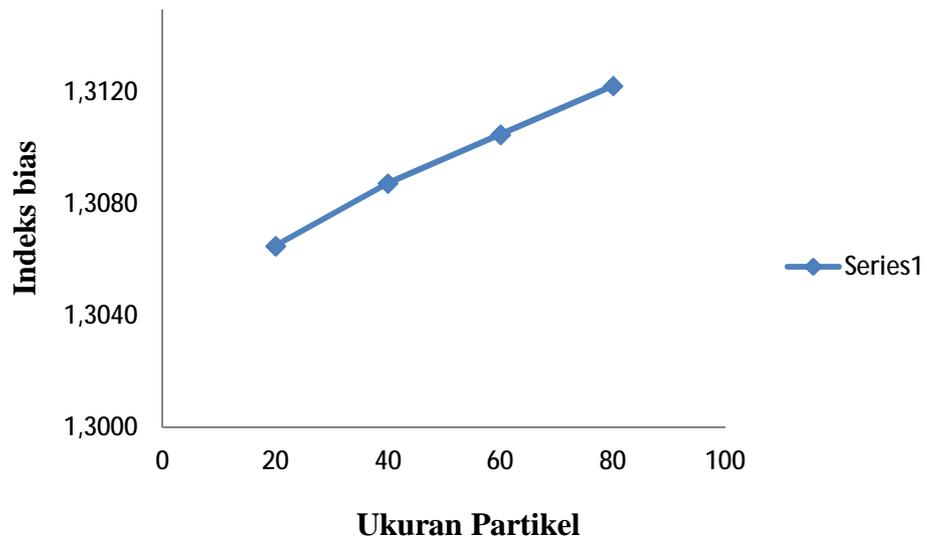
Berdasarkan daftar sidik ragam (Lampiran 3) dapat dilihat bahwa Ukuran Partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter Indeks bias. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Ukuran Partikel terhadap Parameter Indeks bias Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*.

Jarak	LSR		Perlakuan U	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	20	1,3065	d	D
2	0,00075	0,00103	40	1,3088	c	C
3	0,00079	0,00109	60	1,3105	b	B
4	0,00081	0,00111	80	1,3123	a	A

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%.

Berdasarkan Tabel 12 dapat diketahui bahwa perlakuan U_1 berbeda sangat nyata dengan perlakuan U_2 , dan U_3 dan U_4 . namun berbeda sangat nyata dengan perlakuan U_3 dan U_4 . Perlakuan U_2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan U_3 , akan tetapi berbeda sangat nyata dengan perlakuan U_4 . Perlakuan U_3 berbeda Sangat nyata dengan perlakuan U_4 . Indeks bias terendah antar perlakuan waktu maserasi berada pada perlakuan U_1 yakni 1,3065 g/ml dan nilai tertinggi pada perlakuan U_4 yakni 1,3123 g/ml sampel. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 17.



Gambar 17. Grafik Pengaruh ukuran Partikel terhadap indeks bias Minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis*.

Bilangan Indeks Bias meningkat seiring dengan banyaknya Ukuran partikel. Banyaknya ukuran partikel sejalan dengan lamanya Waktu maserasi terhadap minyak yang dihasilkan. Oleh karena itu, semakin lama waktu maserasi, maka kemungkinan untuk terjadinya hidrolisis oleh mikroorganisme akan semakin meningkat. Hal ini sesuai pernyataan Albertina *et al.* (2015) bahwa reaksi hidrolisis dapat disebabkan oleh lipase yang berasal dari mikroorganisme, serta adanya sejumlah air yang terkandung dalam minyak tersebut.

Menurut Guenther (1988), Nilai Indeks bias juga dipengaruhi dengan adanya air dalam kandungan Minyak tersebut semakin banyak kandungan airnya maka semakin kecil indeks biasnya. Minyak atsiri dengan nilai indeks bias besar lebih bagus dibandingkan minyak atsiri dengan nilai indeks bias yang kecil.

Aroma

Pengaruh Waktu Maserasi

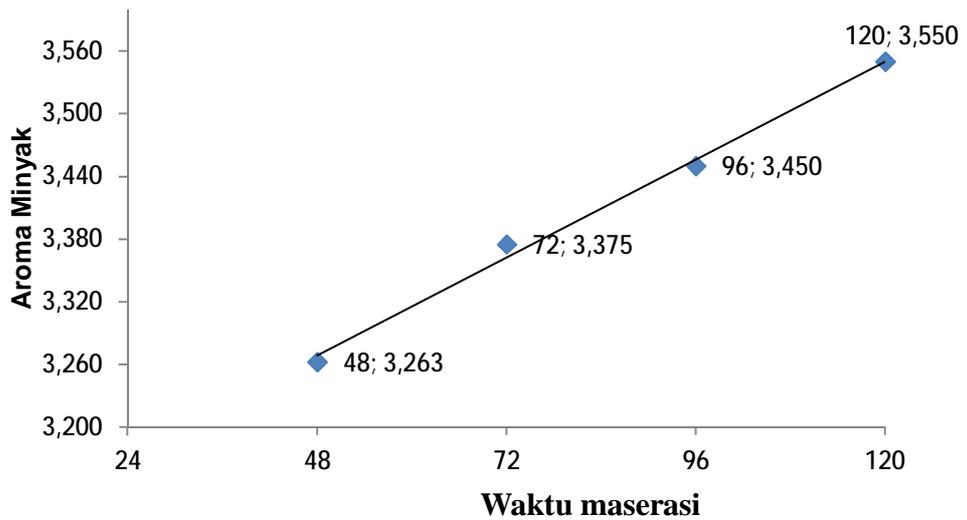
Berdasarkan daftar sidik ragam (Lampiran 4) dapat dilihat bahwa Waktu Maserasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter aroma. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Waktu maserasi terhadap Parameter Aroma Minyak Atsiri daun *Eucalyptus grandis*

Jarak	LSR		perlakuan M	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	48	3,263	c	C
2	0,139	0,191	72	3,375	b	B
3	0,146	0,201	96	3,450	ab	AB
4	0,150	0,206	120	3,550	a	A

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata pada taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%.

Berdasarkan Tabel 13 dapat diketahui bahwa Perlakuan M1 berbeda sangat nyata terhadap Perlakuan M2, M3 dan M4. Perlakuan M2 berbeda sangat tidak nyata dengan perlakuan M3 dan berbeda sangat nyata pada perlakuan M4. Perlakuan M3 berbeda sangat nyata dengan perlakuan M4. Nilai rata-rata Aroma tertinggi berada pada perlakuan M4 yaitu sebesar 3,550. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 18 .



Gambar 18. Grafik pengaruh waktu maserasi terhadap Aroma Minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan gambar diatas dapat diketahui bahwa aroma yang dihasilkan dari perlakuan Waktu maserasi 48 jam sampai pada perlakuan 120 jam mengalami peningkatan. Pada Waktu maserasi 48 jam aroma berada pada titik 3,263. Kemudian terus terjadi peningkatan sampai perlakuan 120 jam menjadi 3,550. Hal tersebut dapat diketahui bahwa nilai aroma yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 3,263 sampai 3,550 dan jika dirata-ratakan yaitu 3,4095.

Hasil penelitian diatas menunjukkan pengaruh waktu maserasi menghasilkan aroma yang disukai, hal ini sesuai dengan standard Mutu Minyak Kayu Putih (SNI 06-3954-2006) dimana aroma minyak kayu putih sangat disukai karena aromanya menenangkan.

Pengaruh Ukuran Partikel

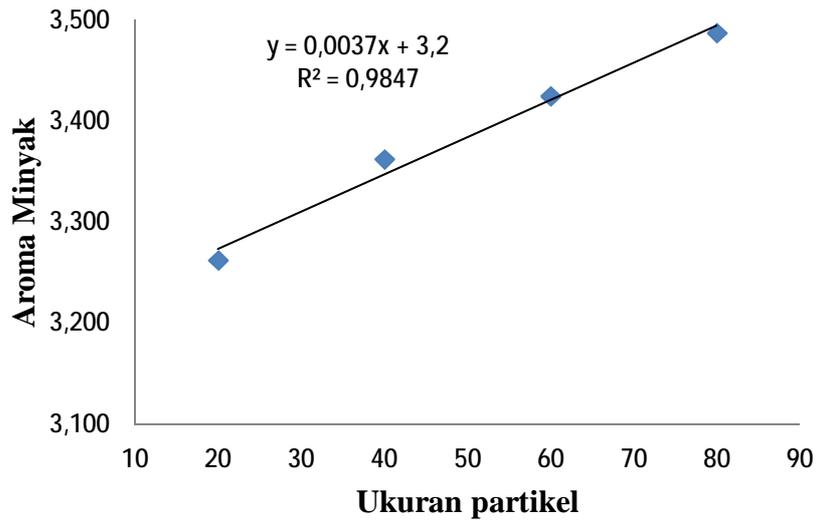
Berdasarkan daftar sidik ragam (Lampiran 4) dapat dilihat bahwa Ukuran partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter aroma. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada tabel 14.

Tabel 14. Hasil Uji Beda Rata-rata Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Aroma Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Jarak	LSR		Perlakuan U	Rataan	Notasi	
	0,05	0,01			0,05	0,01
-	-	-	20	3,263	c	B
2	0,139	0,191	40	3,363	b	AB
3	0,146	0,201	60	3,425	ab	A
4	0,150	0,206	80	3,488	a	A

Keterangan: Huruf yang berbeda pada kolom notasi menunjukkan pengaruh yang berbeda nyata taraf 5% dan berbeda sangat nyata pada taraf 1%

Berdasarkan Tabel dapat diketahui bahwa perlakuan U1 berbeda sangat tidak nyata terhadap perlakuan U2, dan berbeda sangat nyata dengan U3 dan U4. Perlakuan U2 berbeda sangat tidak nyata dengan perlakuan U3 dan U4. Perlakuan U3 berbeda sangat tidak nyata dengan perlakuan U4. Nilai rata-rata Aroma yang tertinggi berada pada perlakuan U4 yaitu sebesar 3,488, sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan U1 yaitu sebesar 3,263. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada gambar 19.



Gambar 19. Pengaruh Ukuran Partikel Terhadap Aroma Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan Gambar diatas dapat diketahui bahwa aroma yang dihasilkan dari perlakuan Ukuran partikel 20 mesh sampai ke perlakuan 80 mesh mengalami peningkatan. Pada Ukuran partikel 20 mesh aroma berada pada titik 3,263. Kemudian terus terjadi peningkatan sampai pada perlakuan Ukuran partikel 80 mesh menjadi 3,488.

Hal tersebut dapat diketahui bahwa nilai aroma yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 3,263 sampai 3,488 dan jika dirata-ratakan yaitu 3,384. Hal ini tidak berbeda jauh dengan aroma yang dihasilkan dengan perlakuan Waktu maserasi dimana aroma masih dalam kategori yang disukai.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan pengaruh Waktu maserasi dan Ukuran partikel terhadap Analisis Minyak Atsiri dari daun *Eucalyptus grandis* dapat ditarik kesimpulan Antara lain

1. Enzim selulose dapat digunakan untuk dapat mengekstrak minyak *Eucalyptus grandis*, dengan metode Enzimatis bekicot *Achatina fulica*.
2. Waktu masearsi memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) pada analisis sifat fisik minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*.
3. Ukuran partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) pada analisis sifat fisik minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*.
4. Interaksi Waktu maserasi dan ukuran partikel memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) pada analisis sifat fisik minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*.

Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya agar mengembangkan penelitian ini dengan menggunakan berbagai waktu maserasi dan ukuran partikel yang berbeda – beda sehingga dapat dilihat berbagai macam waktu maserasi dan ukuran partikel pada proses penelitian dan menambahkan parameter pengujiannya.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad Anes, dkk,2009. Extraction, Separation and identification of Chemical Ingredients of Elephantopus Scaber., Vol. 1, No. 1. Penang : Malaysia
- Abdoulaye Mahama,2018. Efficacy of *Eucalyptus camaldulensis* leaf extracts against the pea beetle *Callosobruchus maculatus* and their impact on biochemical and microbiological properties of the treated bambara groundnut grains. 6(2). 869-877. Cameroon.
- Amakura, Y., Umino, Y., Tsuji, S., Ito, H., Hatano, T., Yoshida, T., & Tonogai, Y. 2002. Constituents and their antioxidative effects in eucalyptus leaf extract used as a natural food additive. Food Chemistry, 77, 47–56.
- Ariyani, dkk. 2014. Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim Selulase Oleh *Aspergillus Niger* Menggunakan Fermentasi Substrat Padat. J. Biopropal Industri 5, no.2 (2014): h. 61-67.
- Barton Allan, (2000) Industrial Uses of Eucalyptus Oil, Murdoch; Murdoch University
- Baghaee-, S. 2017. "Candidatus Phytoplasma solani" associated with *Eucalyptus* witches' broom in Iran. Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- Bernasconi, G., H. Gerster, H. Hauser, H. Stauble dan E. Schneiter. 1995. Teknologi Kimia Bagian 2. Terjemahan Lienda Handojo. Pradnya Paramita. Jakarta.
- Damanik, M., 2009., Kajian Minyak Atsiri Pada Ekaliptus (*Eucalyptusurophylla*) Umur 4 Tahun di PT Toba Pulp Lestari Tbk, Departemen Kehutanan Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara,
- Ganesan, D. 2017 Antioxidant activity of phenolic compounds from extracts of *Eucalyptus globulus* and *Melaleuca stypelioides* and their protective role on D-glucose-induced hyperglycemic stress and oxalate stress in NRK-49F cells. Sapienza University, Rome, Italy
- Gilles, M., Zhao, J., An, M., & Agboola, S. 2010. Chemical composition and antimicrobial properties of essential oils of three Australian *Eucalyptus* species. Food Chemistry, 119, 731–737.
- Gusmailina, Zulnely, Sumadiwangsa ES. 2005. Pengolahan Nilam Tumpang Sari di Tasikmalaya. Jurnal Penelitian Hasil Hutan 23 (1): 1-14
- Hadjer, T. 2017. Essential oil of Algerian *Eucalyptus citriodora*: Chemical composition. National Institute of Agronomy (Algiers, Algeria).

- Irawati, Dkk. 2016. Enzim selulosa dalam bidang industri, UI press. Jakarta.
- Juliana, I. 2018. Analisis Kandungan Dan Penentuan Kadar Sineol Pada Minyak Kayu Putih (*Eucalyptus Robusta*) Dari Pt. Toba Pulp Lestari Dengan Metode Gc-MS. Universitas Sumatera Utara
- Ketaren, s, 1985. Pengantar Teknologi Minyak atsiri, Jakarta : Balai pustaka
- Lutony lefingwell, 2000. Dasar kromatografi, diterjemahkan oleh Pandawintata, Bandung, ITB
- Masfufatun. 2009. Hidrolisis Carboxy Methyl Cellulose (CMC) dengan enzim selulase dari bekicot (*Achatina fulica*) untuk produksi etanol menggunakan (*Zymomonas mobile*). Tesis Program Pascasarjana Institut Teknologi 10 November. Surabaya.
- McCabe, W.L., J.C. Smith dan P. Harriot. 1989. Operasi Teknik Kimia Jilid 2. Terjemahan E. Jasjfi. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Rosyida, I. 2016. Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat Pada Enzim.
- Safwani, SA. 2015. Profil Komponen Volatil Minyak Atsiri Kayu Putih dari Berbagai Daerah dan Pengaruhnya Terhadap Profil Flavor *Cajuputs Candy*. Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian. Institut Pertanian Bogor
- Santos, T.C., Gomes, D.P.P., Bonomo R.C.F., Franco, M. 2012. Optimisation of Solid State Fermentation of Potato Peel For The Production Of Cellulotic Enzim. *Food Chemistry* 133: 1299-1304
- Siarudin M dan Widiyanto, A. 2014. Karakteristik Penguapan Air dan Kualitas Minyak pada Daun Kayu Putih jenis *Asteromyrtus Symphycrpa*. *Penelitian Hasil Hutan*. 32(2): 139-150.
- Small, B.E.J. 2000. The Australian Eucalyptus Oil Industry on Overview. New South Wales Department of Agriculture. Australia
- Setianingsih, S. 2017. Isolasi Senyawa Kimia Stigmastan-3,5-Dien yang mempunyai Daya Toksik dari Daun Ekaliptus (*Eucalyptus deglupta*). 15 (1). *Kimia FMIPA Unmul*
- Soekarto ST. 2008. Penilaian Organoleptik untuk Industri Pangan
- Stanbury, P.F dan A. Withaker, 1984. Principles of Fermentation Technology New York: Pergamon Press.

Lampiran 1. Tabel Data Rataan Rendemen Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

	UI	UII	Total	Rataan
M1U1	0,135	0,134	0,269	0,135
M1U2	0,105	0,107	0,212	0,106
M1U3	0,155	0,156	0,311	0,156
M1U4	0,170	0,172	0,342	0,171
M2U1	0,178	0,177	0,355	0,178
M2U2	0,179	0,180	0,359	0,180
M2U3	0,183	0,182	0,365	0,183
M2U4	0,185	0,184	0,369	0,185
M3U1	0,203	0,202	0,405	0,203
M3U2	0,200	0,201	0,401	0,201
M3U3	0,255	0,256	0,511	0,256
M3U4	0,300	0,302	0,602	0,301
M4U1	0,135	0,136	0,271	0,136
M4U2	0,140	0,141	0,281	0,141
M4U3	0,143	0,144	0,287	0,144
M4U4	0,148	0,147	0,295	0,148
Total			5,635	
Rataan				0,176

Tabel Analisis Sidik Ragam Rendemen Minyak Atsiri

Lampiran 2. Tabel Data Rataan Bobot Jenis Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus*

SK	db	JK	KT	F hit.		0,05	0,01
Perlakuan	15	0,0704	0,0047	6009,7040	**	2,35	3,41
M	3	0,0516	0,0172	22019,7733	**	3,24	5,29
M Lin	1	0,0014	0,0014	1774,7280	**	4,49	8,53
M kuad	1	0,0377	0,0377	48312,0400	**	4,49	8,53
M Kub	1	0,0125	0,0125	15972,5520	**	4,49	8,53
U	3	0,0100	0,0033	4268,9467	**	3,24	5,29
U Lin	1	0,0082	0,0082	10488,2000	**	4,49	8,53
U Kuad	1	-1,3462	-1,3462	-1723133,4400	tn	4,49	8,53
U Kub	1	1,3480	1,3480	1725452,0800	**	4,49	8,53
MxU	9	0,0088	0,0010	1253,2667	**	2,54	3,78
Galat	16	0,0000125	0,0000008				
Total	31	0,0704387					

Keterangan:

FK = 0,99

KK = 0,502%

**** = sangat nyata**

*** = Nyata**

tn = tida nyata

grandis

	UI	UII	Total	Rataan
M1U1	0,86110	0,86112	1,722	0,861
M1U2	0,86200	0,86201	1,724	0,862
M1U3	0,86300	0,86302	1,726	0,863
M1U4	0,86500	0,86501	1,730	0,865
M2U1	0,86300	0,86301	1,726	0,863
M2U2	0,86500	0,86503	1,730	0,865
M2U3	0,86600	0,86601	1,732	0,866
M2U4	0,86700	0,86702	1,734	0,867
M3U1	0,87100	0,87103	1,742	0,871
M3U2	0,87200	0,87202	1,744	0,872
M3U3	0,87500	0,87501	1,750	0,875
M3U4	0,87700	0,87702	1,754	0,877
M4U1	0,88100	0,88103	1,762	0,881
M4U2	0,88250	0,88251	1,765	0,883
M4U3	0,88350	0,88352	1,767	0,884
M4U4	0,88550	0,88551	1,771	0,886
Total			27,879	
Rataan				0,871

Tabel Analisis Sidik Ragam Bobot Jenis Minyak Atsiri

SK	db	JK	KT	F hit.	F.05	F.01	
Perlakuan	15	0,0021	0,0001	787848,169	**	2,35	3,41
M	3	0,0020	0,0007	3753440,196	**	3,24	5,29
M Lin	1	0,0019	0,0019	10676759,205	**	4,49	8,53
M kuad	1	0,0001	0,0001	524972,025	**	4,49	8,53
M Kub	1	0,0000	0,0000	58589,358	**	4,49	8,53
U	3	0,0001	0,0000	172526,418	**	3,24	5,29
U Lin	1	0,0001	0,0001	515769,526	**	4,49	8,53
U Kuad	1	-5,4594	-5,4594	-30120728774,589	tn	4,49	8,53
U Kub	1	5,4594	5,4594	30120730584,316	**	4,49	8,53
M x U	9	0,0000	0,0000	4424,743	**	2,54	3,78
Galat	16	0,0000	0,0000				
Total	31	0,0021					
Keterangan:							
		FK = 24,29					0,885
		KK = 0,002%					0,880
		** = sangat nyata					0,875
		tn = tidak nyata					0,870

Lampiran 3. Tabel Data Rataan Indeks Bias Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan	UI	UII	Total	Rataan
M1U1	1,255	1,256	2,511	1,256
M1U2	1,257	1,258	2,515	1,258
M1U3	1,259	1,260	2,519	1,260
M1U4	1,260	1,259	2,519	1,260
M2U1	1,263	1,264	2,527	1,264
M2U2	1,265	1,266	2,531	1,266
M2U3	1,268	1,267	2,535	1,268
M2U4	1,270	1,271	2,541	1,271
M3U1	1,348	1,347	2,695	1,348
M3U2	1,350	1,351	2,701	1,351
M3U3	1,351	1,352	2,703	1,352
M3U4	1,354	1,353	2,707	1,354
M4U1	1,359	1,360	2,719	1,360
M4U2	1,361	1,362	2,723	1,362
M4U3	1,363	1,364	2,727	1,364
M4U4	1,365	1,366	2,731	1,366
			41,904	
Rataan				1,310
Total				22,262

Tabel Analisis Sidik Ragam Indeks Bias Minyak Atsiri

SK	db	JK	KT	F hit.		F.05	F.01
Perlakuan	15	0,072	0,005	9610,133	**	2,35	3,41
M	3	0,072	0,024	47948,667	**	3,24	5,29
M Lin	1	0,063	0,063	126405,000	**	4,49	8,53
M kuad	1	0,000	0,000	36,000	**	4,49	8,53
M Kub	1	0,009	0,009	17405,000	**	4,49	8,53
U	3	0,000	0,000	96,667	**	3,24	5,29
U Lin	1	0,000	0,000	288,800	**	4,49	8,53
U Kuad	1	-7,058	-7,058	14115999,735	tn	4,49	8,53
U Kub	1	7,058	7,058	14116000,935	**	4,49	8,53
M x U	9	0,000	0,000	1,778	tn	2,54	3,78
Galat	16	0,000	0,000				
Total	31	0,072					

Keterangan:

FK = 54,87

KK = 0,054%

**** = sangat nyata**

tn = tidak nyata

Lampiran 4. Tabel Data Rataan Aroma Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

	UI	UII	UIII	Rataan
M1U1	2,90	3,20	6,100	3,050
M1U2	2,90	3,20	6,100	3,050
M1U3	3,40	3,60	7,000	3,500
M1U4	3,50	3,40	6,900	3,450
M2U1	3,10	3,20	6,300	3,150
M2U2	3,20	3,40	6,600	3,300
M2U3	3,50	3,70	7,200	3,600
M2U4	3,50	3,40	6,900	3,450
M3U1	3,20	3,40	6,600	3,300
M3U2	3,40	3,50	6,900	3,450
M3U3	3,50	3,40	6,900	3,450
M3U4	3,50	3,70	7,200	3,600
M4U1	3,50	3,60	7,100	3,550
M4U2	3,60	3,70	7,300	3,650
M4U3	3,60	3,50	7,100	3,550
M4U4	3,60	3,30	6,900	3,450
Total			109,100	
Rataan				3,409

Tabel Analisis Sidik Ragam Aroma Minyak Atsiri

SK	db	JK	KT	F hit.		0,05	
Perlakuan	15	1,0722	0,0715	4,1588	**	2,35	3
M	3	0,3534	0,1178	6,8545	**	3,24	5
M Lin	1	0,3516	0,3516	20,4545	**	4,49	8
M kuad	1	0,0003	0,0003	0,0182	tn	4,49	8
M Kub	1	0,0016	0,0016	0,0909	tn	4,49	8
U	3	0,3459	0,1153	6,7091	**	3,24	5
U Lin	1	0,2806	0,2806	16,3236	**	4,49	8
U Kuad	1	-4,6747	-4,6747	-271,9818	tn	4,49	8
U Kub	1	4,7401	4,7401	275,7855	**	4,49	8
MxU	9	0,3728	0,0414	2,4101	tn	2,54	3
Galat	16	0,2750	0,0172				
Total	31	1,3472					

Keterangan:

FK = 371,96

KK = 3,845%

**** = sangat nyata**

tn = tidak nyata

Lampiran 5. Proses Pembuatan Enzim *Selulose* Menggunakan Bekicot



Gambar 20. Preparasi bekicot *Achatina fulica*



Gambar 21. campur dan blender



Gambar 22. penyaringan



Gambar 24. Isi tabung sentrifius



Gambar 25. Ekstrak kasar enzim selulose bekicot

Lampiran 6. Proses Ekstraksi Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*



Gambar 26. Preparasi daun Eucalyprus



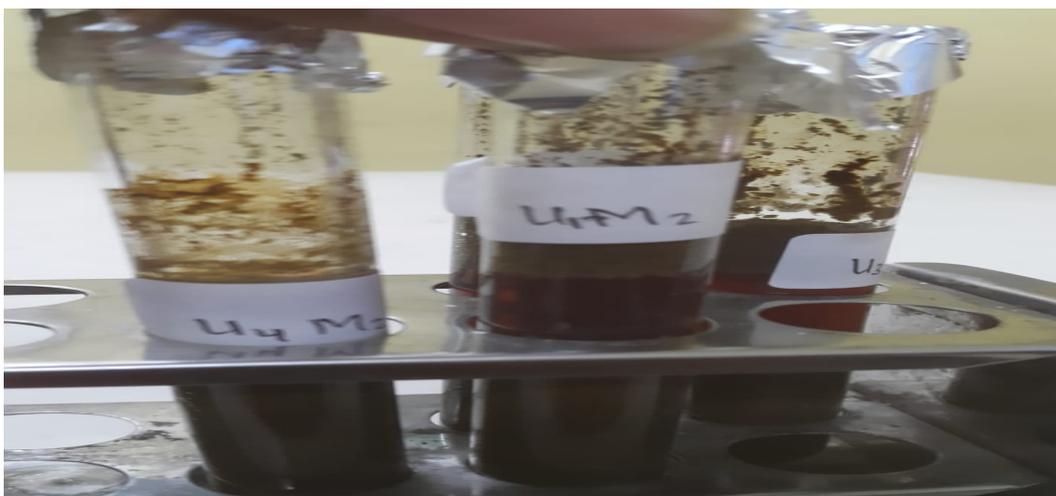
Gambar 27. Proses penimbangan



Gambar 28. Pencampuran daun dan enzim



Gambar 29. Penambahan aquades



Gambar 30. Penutupan sampel daun *Eucalyptus grandis*



Gambar 31. Sampel dimasukkan dalam inkubator



Gambar 32. Ekstrak daun *Eucalyptus grandis*