

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI
MIKROBA PADA EKSTRAKSI MINYAK *EUCALYPTUS*
DARI DAUN *Eucalyptus grandis* MENGGUNAKAN *Rhizopus* sp**

SKRIPSI

Oleh:

**MIRANTI PUTRI
1504310002
TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**



UMSU
Unggul | Cerdas | Terpercaya

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

**PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI
MIKROBA PADA EKSTRAKSI MINYAK *EUCALYPTUS*
DARI DAUN *Eucalyptus grandis* MENGGUNAKAN *Rhizopus sp***

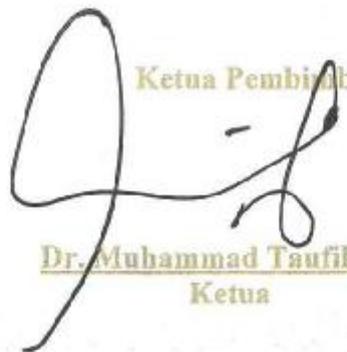
SKRIPSI

Oleh :

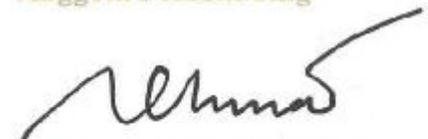
**MIRANTI PUTRI
1504310002
TEKNOLOGI HASIL PERTANIAN**

**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


Masyhura MD, S.P., M.Si.
Anggota

**Disahkan Oleh :
Dekan**



Ir. Asritang M. Munar, M.P.

Tanggal Lulus: 07-09-2019

PERNYATAAN

Dengan ini saya:

Nama : Miranti Putri

Npm : 1504310002

Judul : PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI MIKROBA PADA EKSTRAKSI MINYAK *EUCALYPTUS* DARI DAUN *Eucalyptus grandis* MENGGUNAKAN *Rhizopus* sp

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi dengan judul Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Konsentrasi Mikroba Pada Ekstraksi Minyak *Eucalyptus* Dari Daun *Eucalyptus grandis* Menggunakan *Rhizopus* sp. Berdasarkan hasil penelitian, pemikiran dan pemaparan asli dari saya sendiri baik dari naskah laporan maupun kegiatan programming yang tercantum sebagai bagian dari skripsi ini, jika terdapat karya orang lain saya akan mencantumkan sumber yang jelas.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian 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,

Handwritten signature of Miranti Putri.

Miranti Putri

RINGKASAN

Penelitian ini berjudul “Pengaruh Waktu Fermentasi Dan Konsentrasi Mikroba Pada Ekstraksi Minyak *Eucalyptus* Dari Daun *Eucalyptus Grandis* Menggunakan *Rhizopus* sp”. Dibimbing oleh Bapak Dr. Muhammad Taufik, M.Si selaku Ketua Komisi Pembimbing dan Ibu Masyhura MD, S.P., M.Si selaku Anggota Komisi Pembimbing.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi mikroba pada Ekstraksi Minyak *Eucalyptus* dari Daun *Eucalyptus grandis* menggunakan *Rhizopus* sp yang dilihat dari sifat fisik minyak yang dihasilkan.

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial dengan (2) ulangan. Faktor 1 adalah waktu fermentasi dengan simbol huruf (L) yang terdiri dari 4 taraf yaitu $L_1=48$ jam, $L_2=96$ jam, $L_3=144$ jam, $L_4=192$ jam. Faktor 2 adalah konsentrasi *Rhizopus* sp dengan simbol huruf (K) yang terdiri dari 4 taraf yaitu $K_1=5\%$, $K_2=10\%$, $K_3=15\%$, $K_4=20\%$. Parameter yang diamati meliputi Rendemen, Berat Jenis, Indeks Bias dan Aroma.

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

Rendemen

Waktu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter rendemen minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*. Rendemen tertinggi berada pada perlakuan waktu fermentasi selama 96 jam (L_2) yakni sebesar 3,400% dan nilai terendah berada pada perlakuan waktu

fermentasi 192 jam (L_4) yakni sebesar 2,413%. Perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter rendemen. Nilai tertinggi berada pada perlakuan 20% (K_4) yakni sebesar 2,988% dan nilai terendah berada pada perlakuan 5% (K_1) yakni sebesar 2,775%. Nilai rata-rata rendemen dari keseluruhan perlakuan yaitu sebesar 2,805%. Pada interaksi waktu fermentasi dan konsentrasi mikroba memberikan pengaruh berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter rendemen minyak *Eucalyptus*. Nilai tertinggi berada pada perlakuan waktu fermentasi selama 96 jam dan konsentrasi *Rhizopus* sp 20% (L_2K_4) yakni sebesar 3,850% dan nilai terendah pada perlakuan waktu fermentasi selama 192 jam dan konsentrasi *Rhizopus* sp sebanyak 5% (L_4K_1) yakni sebesar 2,050%. Nilai rata-rata rendemen dari keseluruhan perlakuan yaitu sebesar 2,746%.

Berat Jenis

Waktu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter berat jenis minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*. Berat jenis tertinggi berada pada perlakuan waktu fermentasi 48 jam (L_1) yakni sebesar 0,8968 g/ml dan nilai terendah berada pada perlakuan waktu fermentasi 192 jam (L_4) yakni sebesar 0,8920 g/ml. Pada perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter berat jenis minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*. Nilai tertinggi berada pada perlakuan 20% (K_4) yakni sebesar 0,8975 g/ml dan nilai terendah berada pada perlakuan 5% (K_1) yakni sebesar 0,8928 g/ml. Nilai rata-rata berat jenis yang diperoleh dari keseluruhan perlakuan minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis* yaitu 0,894 g/ml.

Indeks Bias

Waktu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter indeks bias minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*. Indeks bias tertinggi berada pada perlakuan waktu fermentasi 192 jam (L_4) yakni sebesar 1,338 m/s dan nilai terendah berada pada perlakuan waktu fermentasi 48 jam (L_1) yakni sebesar 1,330 m/s. Pada perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter indeks bias minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*. Nilai tertinggi berada pada perlakuan 5% (K_1) yakni sebesar 1,336 m/s dan nilai terendah berada pada perlakuan 20% (K_4) yakni sebesar 1,333 m/s. Nilai rata-rata indeks bias yang diperoleh dari keseluruhan perlakuan minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis* yaitu 1,3345 m/s.

Uji Organoleptik Aroma

Waktu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter uji organoleptik aroma minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*. Aroma tertinggi berada pada perlakuan waktu fermentasi 96 jam (L_2) yakni sebesar 2,930 dan nilai terendah berada pada perlakuan waktu fermentasi 192 jam (L_4) yakni sebesar 2,778. Pada perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter uji organoleptik aroma minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*. Nilai tertinggi berada pada perlakuan 20% (K_4) yakni sebesar 3,106 dan nilai terendah berada pada perlakuan 5% (K_1) yakni sebesar 3,038. Nilai rata-rata uji organoleptik aroma dari keseluruhan perlakuan yang diperoleh dari minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis* yaitu 2,957.

RIWAYAT HIDUP

Miranti Putri, dilahirkan di Desa Pasar 1A Perdagangan, Kecamatan Bandar, Kabupaten Simalungun, Sumatera Utara pada tanggal 5 Juli 1997, anak pertama dari tiga bersaudara dari Ayahanda Samino dan Ibunda Juniarsi.

Adapun pendidikan yang pernah ditempuh Penulis adalah :

1. SD Negeri 091618 Desa Perdagangan, Kecamatan Bandar, Kabupaten Simalungun, Sumatera Utara (Tahun 2004-2010)
2. SMP Swasta Panca Budi Perdagangan, Kecamatan Bandar, kabupaten Simalungun, Sumatera Utara (Tahun 2009-2012).
3. SMA Negeri 1 Bandar, Kecamatan Bandar, Kabupaten Simalungun (Tahun 2012-2015).
4. Diterima sebagai mahasiswa Fakultas Pertanian Program 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 (PKKMB).
2. Melaksanakan Praktik Kerja Lapangan di PT. PP. London Sumatra Perkebunan Bahlias Estate, Kecamatan Bandar, Kabupaten Simalungun Sumatera Utara pada tanggal 15 Januari-10 Februari 2018.

Penulis

Miranti Putri

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr.Wb

Alhamdulillahrabbi'lamin, puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas segala karunia dan hidayah-Nya serta kemurahan-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENGARUH WAKTU FERMENTASI DAN KONSENTRASI MIKROBA PADA EKSTRAKSI MINYAK *EUCALYPTUS* DARI DAUN *Eucalyptus grandis* MENGGUNAKAN *Rhizopus sp*”**.

Saya menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih banyak kekurangan, hal ini di sebabkan karena terbatasnya kemampuan dan masih banyaknya kekurangan saya. Untuk itu saya mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dari pembaca.

Skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan studi strata 1 (S1) di jurusan Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.

Dalam penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu pada kesempatan ini saya mengucapkan banyak terima kasih kepada Allah Subhanahu Wa Ta'ala yang telah memberikan Ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir studi strata 1 (S1). Ayahanda dan Ibunda yang mengasuh, membesarkan, mendidik, memberi semangat, memberi kasih sayang dan cinta yang tiada ternilai serta memberikan do'a dan dukungan yang tiada henti baik moral maupun materil sehingga saya dapat menyelesaikan tugas akhir studi strata 1 (S1). Bapak Dr. Agussani, M.AP selaku Rektor Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Ibu Ir. Asritanarni Munar, M.P selaku Dekan

Fakultas Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Ibu Dr. Ir. Desi Ardilla, M. Si. selaku Ketua Program Studi Teknologi Hasil Pertanian. Bapak Dr. Muhammad Taufik, M.Si selaku ketua pembimbing yang telah membantu dan membimbing saya dalam menyelesaikan tugas akhir studi strata 1 (S1). Ibu Masyhura MD, S.P., M.Si selaku anggota komisi pembimbing yang telah membantu dan membimbing saya dalam menyelesaikan tugas akhir studi strata 1 (S1). Dosen - dosen Teknologi Hasil Pertanian yang senantiasa memberikan ilmu dan nasehatnya selama di dalam maupun di luar perkuliahan. Adik tersayang Arsyka Permadani dan Zikri Aji Pangestu yang selalu memberikan semangat juga do'anya dalam menyelesaikan tugas akhir studi strata 1 (S1). Penyemangat saya Arif Azis Pramono yang selalu siap membantu dan mendukung juga mendo'akan selama menyelesaikan tugas akhir studi strata 1 (S1). Sahabat terkasih (Enisa Cita Mentari, Windi Aprianingsih dan Kiki Patmala Sibarani) selalu menguatkan dan menasehati satu sama lain juga membantu saya dalam menyelesaikan tugas akhir studi strata 1 (S1). Seluruh teman-teman THP stambuk 2015 yang tidak bisa saya sebutkan satu persatu. Seluruh staf biro dan pegawai Laboratorium Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Kakanda dan adinda stambuk 2013, 2014, 2016, 2017, 2018 jurusan Teknologi Hasil Pertanian.

Besar harapan saya agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi semua pihak serta masukkan berupa kritik dan saran untuk kesempurnaan skripsi ini.

Wassalamu'alaikum Wr.Wb.

Medan, September 2019

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
RINGKASAN.....	i
RIWAYAT HIDUP	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
PENDAHULUAN	
Latar Belakang.....	1
Tujuan Penelitian.....	5
Kegunaan Penelitian.....	5
Hipotesa Penelitian.....	5
TINJAUAN PUSTAKA	
Tanaman <i>Eucalyptus</i>	7
Minyak <i>Eucalyptus</i>	9
Kandungan Minyak <i>Eucalyptus</i>	10
Ekstraksi Minyak <i>Eucalyptus</i>	12
Metode Maserasi	13
Metode Enzimatis.....	14
Metode Destilasi.....	19
Metode Fermentasi	23
<i>Rhizopus</i> sp.....	25
Pengaruh Konsentrasi Mikroba	27
Pengaruh Waktu Fermentasi	28
Sifat Fisika Minyak Atsiri	30
Rendemen Minyak <i>Eucalyptus</i>	36
BAHAN DAN METODE	
Tempat dan Waktu Penelitian	37
Bahan Penelitian.....	37
Alat Penelitian	37

Metode Penelitian.....	37
Model Rancangan Percobaan	38
Pelaksanaan Penelitian	39
Parameter Pengamatan	40
Rendemen Minyak	40
Berat Jenis.....	40
Indeks Bias.....	41
Uji Organoleptik Warna.....	42
HASIL DAN PEMBAHASAN	45
KESIMPULAN DAN SARAN	67
DAFTAR PUSTAKA.....	68

DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Persyaratan Kualitas Minyak <i>Eucalyptus</i>	10
2. Skala uji hedonik terhadap pemeriksaan aroma	42
3. Pengaruh waktu fermentasi parameter minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	45
4. Pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap parameter minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	45
5. Hasil Uji beda rata-rata pengaruh waktu fermentasi terhadap rendemen minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	46
6. Hasil uji beda rata-rata pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap parameter rendemen minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	48
7. Hasil uji beda rata-rata pengaruh interaksi waktu fermentasi dan konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap rendemen minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	51
8. Hasil uji beda rata-rata pengaruh waktu fermentasi terhadap berat jenis minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	54
9. Hasil uji beda rata-rata pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap berat jenis minyak <i>Eucalyptus</i> Daun <i>Eucalyptus</i> <i>grandis</i>	56
10. Hasil uji beda rata-rata pengaruh waktu fermentasi terhadap indeks bias minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	58
11. Hasil uji beda rata-rata pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap indeks bias minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus</i> <i>grandis</i>	60
12. Hasil uji beda rata-rata pengaruh waktu fermentasi terhadap uji organoleptik aroma minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	62
13. Hasil uji beda rata-rata pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap uji organoleptik aroma minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	64

DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Tumbuhan <i>Eucalyptus grandis</i>	7
2. Daun <i>Eucalyptus grandis</i>	8
3. Struktur <i>Cineole</i>	11
4. Proses maserasi daun <i>Eucalyptus grandis</i>	13
5. Proses ekstraksi enzimatis daun <i>Eucalyptus</i>	15
6. Grafik evektifitas enzim pada suhu	17
7. Grafik pengaruh pH pada evektifitas enzim.....	18
8. Destilasi dengan alat <i>Stahl</i>	20
9. Alat destilasi air.....	21
10. Alat destilasi uap dan air	22
11. Alat destilasi uap.....	23
12. Proses fermentasi daun <i>Eucalyptus grandis</i>	25
13. <i>Rhizopus</i> sp.....	26
14. Pengaruh waktu fermentasi terhadap rendemen minyak	30
15. Diagram alir ekstraksi minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i> menggunakan <i>Rhizopus</i> sp.....	43
16. Diagram alir pemisahan minyak <i>Eucalyptus</i> dari pengotor dengan cara destilasi	44
17. Grafik pengaruh waktu fermentasi terhadap rendemen minyak <i>Eucalyptus</i> dari daun <i>Eucalyptus grandis</i>	47
18. Grafik pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap rendemen minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	49
19. Grafik hubungan interaksi waktu fermentasi dan konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp rendemen minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	52
20. Grafik pengaruh waktu fermentasi terhadap berat jenis minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	54
21. Grafik pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap berat jenis minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	57
22. Grafik pengaruh waktu fermentasi terhadap indeks bias minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	59

23. Pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap indeks bias minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalytus grandis</i>	61
24. Pengaruh waktu fermentasi terhadap uji organoleptik aroma minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalytus grandis</i>	63
25. Pengaruh konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp terhadap aroma minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalytus grandis</i>	65
26. Preparasi daun <i>Eucalyptus grandis</i>	76
27. Penimbangan sampel	76
28. Penyemprotan aquades	76
29. Penimbangan <i>Rhizopus</i> sp	77
30. Pencampuran daun dan <i>Rhizopus</i> sp	77
31. Fermentasi dalam inkubator	77
32. Destilasi minyak	78
33. Hasil ekstraksi	78
34. Pengujian rendemen	79
35. Pengujian bobot jenis	79
36. Pengujian indeks bias	79
37. Pengujian organoleptik aroma	79

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	Halaman
1. Tabel data rata-rata rendemen minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	72
2. Tabel data rata-rata bobot jenis minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	73
3. Tabel data rata-rata indeks bias minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	74
4. Tabel data rata-rata uji organoleptik aroma minyak <i>Eucalyptus</i> daun <i>Eucalyptus grandis</i>	75
5. Proses ekstraksi Minyak <i>Eucalyptus</i> dari daun <i>Eucalyptus</i> <i>grandis</i> menggunakan <i>Rhizopus</i> sp	76
6. Proses pemisahan Minyak <i>Eucalyptus</i> dari pengotor dengan cara destilasi	78
7. Pengujian Parameter Minyak <i>Eucalyptus grandis</i>	79

PENDAHULUAN

Latar Belakang

Minyak *Eucalyptus* (*Eucalyptus Oil*) adalah minyak yang diperoleh dari hasil penyulingan daun *Eucalyptus*. Seperti minyak esensial lainnya, minyak *Eucalyptus* adalah minyak yang mengandung campuran senyawa organik (terutama terpen) (Samosir, 2008).

Perkembangan minyak *Eucalyptus* di dunia perdagangan berkembang dengan sangat pesat. Industri farmasi nasional membutuhkan 3.500 ton per tahun. Sementara itu, produksi nasional hanya mampu memenuhi 400 ton saja. Artinya, di dalam negeri kebutuhan minyak *Eucalyptus* masih sangat besar, sehingga perlu upaya untuk meningkatkan hasil rendemen minyak *Eucalyptus* tersebut agar dapat memenuhi permintaan pasar. Seperti kita tahu, minyak *Eucalyptus* kaya akan manfaat sehingga banyak dibutuhkan oleh masyarakat.

Minyak *Eucalyptus* dapat dimanfaatkan sebagai pembersih, pewangi, dan biasanya dalam jumlah kecil dapat digunakan sebagai bahan tambahan dalam suplemen makanan terutama permen. Minyak *Eucalyptus* juga sudah digunakan untuk bahan utama nyamuk komersil karena minyak tersebut memiliki sifat menolak serangga. Selain itu, minyak *Eucalyptus* juga dapat menghambat serta membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherechia coli*. Kandungan senyawa aktif pada minyak atsiri daun *Eucalyptus* yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri adalah senyawa *Cineole*. Semakin tinggi jumlah *cineole* yang terkandung pada minyak *Eucalyptus* sehingga kualitas minyak *Eucalyptus* tersebut dikatakan semakin baik (Muyassaroh, 2016). PT. Toba Pulp Lestari Tbk

merupakan HTI dengan wilayah terluas khususnya di Sumatera Utara dimana total luas mencapai 188.055 Ha.

Eucalyptus merupakan tanaman utama yang di budidayakan di perusahaan PT Toba Pulp Lestari Tbk yang bergerak dibidang Kehutanan di Sumatera. PT Toba Pulp Lestari Tbk membudidayakan pohon *Eucalyptus* yang digunakan untuk bahan utama kertas. Tetapi, pada daunnya hanya menjadi limbah dan belum diolah menjadi minyak atsiri (Samosir, 2018). Limbah yang digunakan adalah limbah daun *Eucalyptus* dari perkebunan rakyat disekitar PT Toba Pulp Lestari Tbk.

Tanaman *Eucalyptus* mempunyai banyak manfaat, mulai dari batang, cabang, sampai daunnya. Genus *Eucalyptus* merupakan famili *Myrtaceae* dari sekitar 800 spesies yang merupakan hasil persilangan atau varietas aslidari Australia dan Tasmania. Sebagian besar anggota genus ini telah berhasil dinaturalisasi di wilayah lain di dunia di mana mereka tumbuh untuk berbagai tujuan. Saat ini, pohon *Eucalyptus* merupakan kayu keras yang paling banyak ditanam di Indonesia yang berzona iklim sedang dan subtropis, dengan yang dimanfaatkan untuk kayu dan bahan konstruksi lainnya, tiang transmisi daya, pulp dan kertas, produksi minyak untuk industri wewangian dan farmasi serta sebagai perhiasan (Gakuubi, 2016). Macam-macam spesies yang telah diketahui yaitu, *Eucalyptus alba* (ampupu), *Eucalyptus deglupta*, *Eucalyptus plathyphylla*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus umbellate*, *Eucalyptus camadulensis*, *Eucalyptus pellita*, *Eucalyptus tereticornis*, *Eucalyptus torreliana* dan *Eucalyptus grandis*.

Eucalyptus grandis merupakan tanaman obat yang diindikasikan dapat menyembuhkan secara tradisional oleh masyarakat Zulu yang digunakan sebagai

pengobatan infeksi saluran pernafasan, infeksi bronkus, asma dan batuk yang diberikan melalui inhalasi uap dan juga sebagai ramuan yang diambil untuk pengobatan asma (Soyingbe *dkk.*, 2017).

Isolasi minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* biasanya menggunakan metode destilasi. Sibarani (2018), telah melakukan destilasi daun *Eucalyptus* menggunakan alat *Stahl*. Namun, rendemen yang diperoleh masih sedikit. Proses destilasi *stahl* membutuhkan waktu yang cukup lama (\pm 6 jam) dan hasil belum optimum. Perlakuan pendahuluan, biasanya dilaksanakan untuk memecahkan sel-sel daun yang menghasilkan minyak agar dapat meningkatkan hasil rendemen dari minyak. Proses ini dapat dilakukan dengan bantuan mikroorganisme yakni menggunakan metode enzimatik maupun fermentasi (Sumitra dan Wijandi, 2003).

Proses enzimatik memiliki berbagai kelemahan. Suaniti *dkk* (2014) telah melaporkan analisis VCO yang diekstrak secara enzimatik. Enzim yang digunakan adalah papain, enzim ini memiliki sifat khas dan membutuhkan kondisi lingkungan yang spesifik. Irawati (2016) juga telah melaporkan bahwa hal-hal yang mampu menggagalkan kerja suatu enzim ialah konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, kondisi suhu, pengaruh pH dan pengaruh inhibitor. Jika salah satu faktor itu tidak diperhatikan maka akan menyebabkan aktivitas enzim mengalami perubahan.

Mikroorganisme merupakan sumber enzim yang dibutuhkan pada saat fermentasi, baik mikroba yang ditambahkan maupun mikroba yang alami. Fermentasi adalah teknik yang mampu menghancurkan jaringan daun. Dalam proses fermentasi daun nilam, komponen dinding sel daun nilam terdegradasi

sehingga pada proses destilasi minyak atsiri lebih banyak didapatkan (Laurita dan Herawati, 2016).

Wijaya *dkk* (2015) telah melaporkan bahwa perlakuan awal berupa fermentasi dapat meningkatkan hasil rendemen terbaik merupakan salah satu metode untuk meningkatkan rendemen minyak atsiri daun cengkeh. Daun cengkeh difermentasi menggunakan bantuan kapang *Trichoderma harzianum* menghasilkan rendemen sebanyak 57,7%. Rendemen minyak dari daun cengkeh dengan metode fermentasi menghasilkan rendemen lebih banyak dibandingkan dengan perlakuan yang lain. Pada fermentasi daun kayu manis menggunakan *Rhizopus* sp menghasilkan rendemen terbaik pada hari ke 4 (Khasanah *dkk*, 2014). Djonny (2018) telah meneliti bahwa fermentasi daun nilam menggunakan *Rhizopus* sp dengan hasil rendemen tertinggi pada hari ke 4 yaitu 0,31% .

Mikroorganisme yang digunakan sebagai sumber enzim dalam proses fermentasi daun kayu manis dan telah nyata memberikan pengaruh terhadap rendemen yaitu ragi tempe (*Rhizopus* sp). Konsentrasi mikroba sangat berpengaruh pada proses fermentasi. Pada fermentasi daun kayu manis menggunakan konsentrasi *Rhizopus* sp sebanyak 10% dari berat daun (Raharjo dan Retnowati). Pada fermentasi daun nilam menggunakan konsentrasi *Rhizopus* sp sebanyak 20 gram dari 500 gram bahan (Djonny, 2018). Penambahan mikroba atau ragi yang digunakan harus berdasarkan bahan yang difermentasi.

Keunggulan perlakuan fermentasi dengan memanfaatkan mikroorganisme dari ragi tempe (*Rhizopus* sp) dengan tujuan agar terjadi perubahan fisik dan kimia pada bahan sehingga mampu meningkatkan hasil rendemen minyak atsiri (Laurita dan Herawati, 2016).

Berlandaskan latar belakang ini, sehingga penulis berkeinginan untuk melaksanakan analisis sifat fisik “Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi Mikroba pada Ekstraksi Minyak *Eucalyptus* dari Daun *Eucalyptus grandis* Menggunakan *Rhizopus* sp”.

Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui pengaruh waktu fermentasi pada ekstraksi minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* menggunakan *Rhizopus* sp.
2. Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi *Rhizopus* sp pada ekstraksi minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* menggunakan *Rhizopus* sp.
3. Untuk mengetahui pengaruh interaksi waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp pada ekstraksi minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* menggunakan *Rhizopus* sp.

Kegunaan Penelitian

1. Menjadi sumber data dalam skripsi pada Program Studi Teknologi Hasil Pertanian, Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara.
2. Penelitian dapat dimanfaatkan untuk penjelasan tentang mengetahui waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp terhadap sifat fisik minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis*.

Hipotesa Penelitian

1. Ada pengaruh waktu fermentasi pada ekstraksi minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* menggunakan *Rhizopus* sp.

2. Ada pengaruh konsentrasi *Rhizopus* sp pada ekstraksi minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* menggunakan *Rhizopus* sp.
3. Ada interaksi antara pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp pada ekstraksi minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* menggunakan *Rhizopus* sp.

TINJAUAN PUSTAKA

Tanaman *Eucalyptus*

Genus *Eucalyptus* memiliki sekitar 700 spesies yang diantaranya lebih dari 300 spesies yang mengandung minyak atsiri di dalam daunnya. Minyak atsiri tersebut dapat dimanfaatkan dalam bidang farmasi, kosemetik, industri makanan, pestisida dan lainnya. Tanaman ini didistribusikan secara luas dan prospek untuk hutan Tanaman Industri (HTI) (Audina, 2017). Adapun tumbuhan *Eucalyptus grandis* dapat diperhatikan pada Gambar 1 berikut ini.



Gambar 1. Tumbuhan *Eucalyptus grandis*

Pada umumnya, Tanaman *Eucalyptus* dapat tumbuh dan berkembang hingga tingginya 60-87 m. Tanaman ini memiliki bentuk batang utama yang lurus berdiameter sampai 200 cm. Memiliki sifat permukaan yang licin serta memiliki serat yang menyerupai papan catur. Daun dewasa umumnya memiliki ciri-ciri bersela sekali-kali bertatapan, tunggal, tulang tengah sangat spesifik, pertulangan sekunder lurus dan bila diremas akan mengeluarkan wangi yang khas.

Bunga menyerupai payung yang berdempetan di pucuk cabang. Buah seperti kapsul, kering serta berdinding pipih. Memiliki biji warna coklat kehitaman (Sutisna *dkk.*, 1998).

Eucalyptus grandis adalah tanaman obat yang diindikasikan oleh penyembuh tradisional masyarakat Zulu untuk pengobatan infeksi saluran pernafasan, infeksi bronkus, asma dan batuk; itu diberikan melalui inhalasi uap dan juga sebagai ramuan yang diambil untuk pengobatan asma (Soyingbe *dkk.*, 2017). Adapun daun *Eucalyptus grandis* dapat diperhatikan di Gambar 2 berikut ini.



Gambar 2. Daun *Eucalyptus grandis*

Nama Botani dari *Eucalyptus grandis* adalah *Eucalyptus grandis* Hill ex Maiden. *Eucalyptus grandis* adalah nama lain dari *Eucalyptus saligna* var. *pallidivalvis* Baker et Smith. Di dunia perdagangan sering disebut Flooded gum, rose gum (Latifah, 2004).

Taksonomi dari *Eucalyptus grandis* sebagai berikut:

Divisio	: Spermathophyta
Sub Divisio	: Angispermae
Kelas	: Dikotyledon
Ordo	: Myrtales
Family	: Myrtaceae
Genus	: <i>Eucalyptus</i>
Species	: <i>Eucalyptus grandis</i> (Latifah, 2004).

Minyak *Eucalyptus*

Tanaman *Eucalyptus sp* merupakan tanaman yang dapat menghasilkan minyak *Eucalyptus* baik dari daun, bunga maupun kulit batang yang diekstraksi dengan cara penyulingan atau dengan proses lainnya (Damanik, 2009). Minyak *Eucalyptus* dari berbagai spesies tanaman *Eucalyptus* dinyatakan mempunyai karakteristik untuk antibakteri yang dapat menghambat bakteri tumbuh. Minyak atsiri disebut sebagai minyak terbang atau minyak yang mudah menguap yang merupakan senyawa berbentuk cairan atau padatan yang mempunyai kandungan ataupun titik didih yang bermacam. Biasanya bagian yang dapat menghasilkan minyak atsiri dari tanaman yaitu akar, kulit, batang, daun, buah, biji maupun dari bunga (Sastrohamidjojo, 2004).

Dalam perdagangan, minyak *Eucalyptus* memiliki tiga golongan utama yang sering ditemukan yaitu golongan minyak obat-obatan, industri serta minyak pewangi. Minyak *Eucalyptus* juga dimanfaatkan sebagai anti rayap, desinfektan, obat gosok, fungisida, bahan pembersih pakaian, insektisida, obat dan keperluan medis lainnya. Minyak *Eucalyptus* juga dapat digunakan sebagai bahan campuran

kosmetik, salep, pasta gigi, obat batuk, pelega tenggorokan dan insektisida. Minyak *Eucalyptus* juga dapat dicampur dengan minyak lain untuk meningkatkan harga jual. Minyak atsiri *Eucalyptus* mengandung sineol yang dapat digunakan sebagai antiseptik alami (Rasyid, 2016).

Persyaratan kualitas minyak *Eucalyptus* dapat dilihat dibawah ini.

Persyaratan kualitas minyak *Eucalyptus* dapat dilihat dibawah ini.

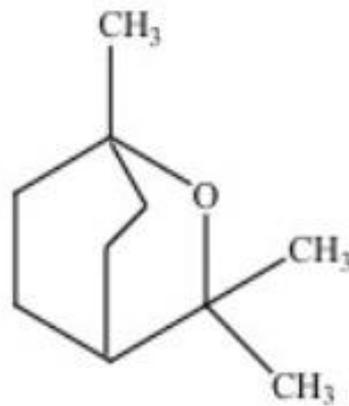
Tabel 1. Persyaratan Kualitas Minyak *Eucalyptus* (Menurut SNI 06-3954-2006)

No	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1	Keadaan		
1.1	Warna	-	Jernih Sampai Kuning Kehijauan
1.2	Bau	-	Khas <i>Eucalyptus</i>
2	Berat Jenis	-	0,900 - 0,930
3	Indeks Bias	-	1,450 - 1,470
4	Kelarutan dalam Etanol	-	1:1 sampai 1:10 jernih
5	Putaran Optik	-	-4 sampai 0
6	Kandungan <i>Cineol</i>	%	50 - 65

Sumber : Badan Standarisasi Nasional (2006)

Kandungan Minyak *Eucalyptus*

Komposisi utama pada minyak atsiri daun *Eucalyptus* yaitu *cineole*, dikenal juga sebagai *eucalyptol* (sekitar 80%). Terkandung juga *pinene*, *7 camphene* dan sedikit *phellandrene*, *citronellal*, *geranyl acetate*. Dalam perdagangan, kadar *cineole* dalam minyak atsiri *Eucalyptus* menjadi pertimbangan utama, kualitas minyak atsiri *Eucalyptus* ditentukan oleh kadar *cineole* yang terkandung karena *cineole* memiliki aroma yang disukai, semakin tinggi kandungan *cineole* dalam minyak atsiri *Eucalyptus* maka kualitas minyak atsiri *Eucalyptus* tersebut dikatakan semakin baik (Malik, 2017). Adapun struktur *Cineole* dapat diperhatikan pada Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3. Struktur *Cineole*

Eucalyptol (1,8-Cineole) merupakan senyawa organik yang tak berwarna yang mempunyai sifa segar, aroma camphor serta rasa pedas pertama di identifikasi dari *Eucalyptus globulus* pada tahun 1870 oleh Cloez. Senyawa ini diproduksi oleh beberapa jenis tanaman termasuk tanaman dari famili *Myrtaceae* yaitu kayu putih. Senyawa ini juga merupakan komponen penyusun minyak kayu putih. Senyawa *eucalyptol* bersifat mudah menguap. Senyawa eter siklik dan terpenoid ini menyusun sekitar 90% minyak esensial berbagai produk minyak *Eucalyptus* (Sibarani, 2018).

Minyak atsiri terbentuk dengan bermacam-macam campuran zat kimia yang terdiri dari unsur Karbon (C), Hidrogen (H) serta Oksigen (O) dengan sifat fisika dan kimia yang berbeda. Perbedaan kandungan minyak tersebut biasanya dikarenakan dari spesies tanaman penghasilnya, kondisi iklim, tanah untuk tumbuh, masa panen, teknik ekstraksi yang dilakukan serta teknik menyimpan minyak (Samosir, 2018).

Minyak atsiri memiliki kandungan kimia yang terdiri dari 2 macam golongan sebagai berikut:

a. Golongan Hidrokarbon

Persenyawaan yang termasuk golongan ini terbentuk dari unsur Karbon (C) dan Hidrogen (H). Jenis hidrokarbon yang terdapat dalam minyak atsiri sebagian besar terdiri dari monoterpen (2 unit isopren) dan sesquiterpen (3 unit isopren) yang titik didihnya berbeda, titik didih monoterpen sebesar 140°C - 180°C dan sesquiterpen $> 200^{\circ}\text{C}$ (Ketaren, 1985).

b. Golongan Hidrokarbon Teroksigenasi

Golongan hidrokarbon teroksigenasi merupakan senyawa yang penting dalam minyak atsiri karena umumnya mempunyai aroma yang lebih wangi. Komponen kimia dari golongan persenyawaan ini terbentuk dari unsur Karbon (C), Hidrogen (H) dan Oksigen (O). Persenyawaan yang termasuk dalam golongan hidrokarbon teroksigenasi adalah alkohol, aldehid, keton, ester, eter dan peroksid. Ikatan karbon yang terdapat dalam molekulnya dapat terdiri dari ikatan tunggal, ikatan rangkap dua dan ikatan rangkap tiga (Ketaren, 1985).

Ekstraksi Minyak *Eucalyptus*

Ekstraksi merupakan teknik operasi yang dilakukan untuk sistem pemisahan suatu bagian yang tercampur dengan bantuan beberapa massa solven untuk tenaga pemisahannya (Hadi, 2012).

Ekstraksi merupakan proses untuk memisahkan beberapa unsur dari bahan yang mengandung komponen tersebut. Proses ekstraksi mampu memisahkan komponen yang memiliki sifat berupa padatan dari suatu sistem padat-cair, berupa cairan dari suatu sistem campuran cair-cair atau berupa padatan dari suatu sistem

padat-padat (Irvan *dkk.*, 2015). Adapun beberapa metode ekstraksi minyak yang sering digunakan yaitu maserasi, enzimatis, destilasi.

Metode Maserasi

Maserasi adalah teknik mudah yang sering dilakukan baik dalam bidang besar (industri) ataupun bidang kecil. Proses kerja dalam teknik ini yaitu masukkan serbuk bahan yang akan diekstraksi serta pelarut yang digunakan ke wadah inert lalu tutup rapat pada suhu kamar. Jika sudah tercapai yang diinginkan proses ekstraksi dihentikan. Sesudah ekstraksi selesai, pelarut dan bahan dipisah dengan cara penyaringan. Walaupun teknik maserasi merupakan metode sederhana, namun ada beberapa kelemahan pada teknik ini yaitu membutuhkan proses yang lama, banyak menggunakan pelarut serta kemungkinan besar zat-zat nya ada yang akan hilang. Kemudian, ada beberapa senyawa yang sukar di ekstraksi dalam suhu kamar. Tetapi, keuntungan cara ini mampu menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Ndiaye, H, B 2018). Metode maserasi daun *Eucalyptus grandis* dapat diperhatikan pada Gambar 4 berikut ini.



Gambar 4. Proses Maserasi Daun *Eucalyptus grandis*

Melakukan ekstraksi minyak pada jenis-jenis bunga yang mengandung minyak atsiri dapat dilakukan dengan proses maserasi karena bahan tersebut mudah rusak oleh pemanasan. Pelarut yang dipakai ketika ekstraksi biasanya petroleum eter, benzena serta etanol (Irvan *dkk.*, 2015).

Metode Enzimatis

Metode ekstraksi enzimatis memiliki prinsip yang sama dengan ekstraksi konvensional. Kelemahan menggunakan enzimatis ini sukar mendapatkan dan mengisolasi enzim. Kerja enzim sangat spesifik dan harganya yang sangat mahal. Pada ekstraksi enzimatis minyak *Eucalyptus*, menggunakan enzim yang berfungsi memecah selulosa. Enzim *Selulase* termasuk dalam enzim ekstrak seluler yang merupakan enzim yang diperoleh dalam sel serta dikeluarkan pada media tumbuhnya sebagai pengurai senyawa polimer. Enzim *Selulase* disebut enzim yang kompleks yang memiliki 3 jenis yaitu *endoglukanase*, *eksoglukanase* dan *β -glukosidase*. Tiga tipe enzim tersebut kerja sama dalam menghidrolisis selulosa yang tidak larut menjadi glukosa, keahlian enzim tersebut diperlukan untuk memecah molekul selulase yang terdapat di dalam daun *Eucalyptus* sehingga menghasilkan minyak *Eucalyptus*. Sifat enzim kasar *selulase* kapang endofit dari lamun dihasilkan nilai pH dan suhu optimum kerja enzim *Selulase* yaitu pH 7 dan 60°C (Salam, 2019). Adapun proses maserasi daun *Eucalyptus grandis* dengan bantuan enzim selulosa dapat diperhatikan pada Gambar 5. berikut ini.



Gambar 5. Proses Ekstraksi Enzimatis Daun *Eucalyptus*

Faktor yang menghambat kerja suatu enzim untuk memperoleh produk yaitu konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, kondisi suhu, pengaruh pH dan dan pengaruh inhibitor. Kondisi optimum pada kerja enzim berbeda tiap enzimnya. Enzim dapat bekerja optimal pada suhu serta pH tertentu. Jika suhu meningkat secara langsung enzim akan cepat bereaksi, jika suhu terlalu tinggi enzim mengalami denaturasi atau berubahnya struktur protein enzim. Jika pH berubah terlalu asam atau terlalu basa dalam media maka aktifitas enzim berubah. Oleh karena itu kerja enzim harus spesifik dan teliti dalam pengaplikasiannya serta membutuhkan usaha yang optimal (Irawati, 2016). Hal-hal yang mampu menghambat kerja enzim yaitu:

1. Konsentrasi enzim

Konsentrasi enzim akan mempengaruhi kecepatan reaksi secara linear, semakin tinggi konsentrasi enzim maka kecepatan akan bertambah secara konstan. Ikatan antara konsentrasi enzim dengan kecepatan reaksi enzimatis dikatakan berbanding lurus. Kecepatan reaksi suatu enzim berbeda-beda tiap enzimnya

walaupun memiliki konsentrasi enzim yang sama. Secara langsung kecepatan laju reaksi enzimatik dapat dipengaruhi oleh konsentrasi enzim dimana laju reaksi akan mengalami peningkatan jika konsentrasi enzim bertambah. Laju reaksi dapat meningkat secara linier selama konsentrasi enzim jauh lebih sedikit dari pada konsentrasi substrat. Biasanya, faktor seperti ini terjadi pada kondisi fisiologis (Page, 1989).

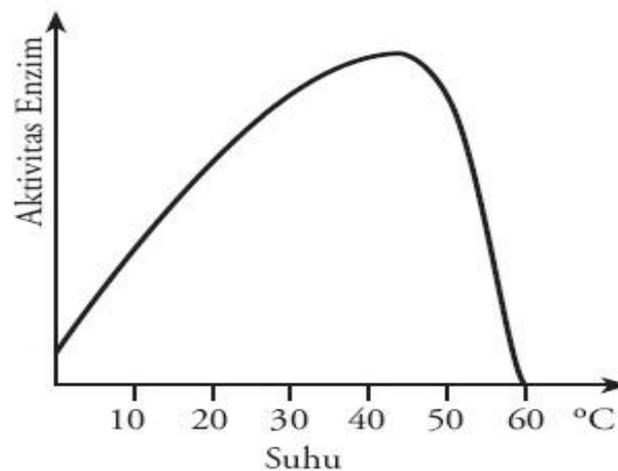
2. Konsentrasi substrat

Pada konsentrasi enzim tetap dan konsentrasi enzim bervariasi terdapat ikatan antara aktivitas enzim dengan konsentrasi substrat. Jika konsentrasi substrat yang terlalu rendah aktivitas katalitiknya pun rendah. Dengan meningkatnya konsentrasi substrat aktivitas enzim meningkat secara linier, kemudian secara logaritmik dan akhirnya mencapai harga maksimum dimana konsentrasi substrat jika ditambahkan lebih lanjut tidak mempengaruhi laju reaksi enzim. Gejala ini disebut kinetika penjumlahan (Page, 1989).

3. Suhu

Suhu optimum yaitu suhu dimana enzim telah mencapai aktivitas maksimum. Pada suhu tertentu enzim akan bekerja dengan efektif serta akan menurun aktifitasnya jika kondisi terdapat dibawah atau diatas titik tersebut. Kondisi optimal yaitu kondisi dimana dapat menyebabkan kerja suatu enzim dapat efektif. Manusia memiliki enzim yang sebagian besar mempunyai suhu optimal mendekati suhu tubuh ($35^{\circ}\text{C} - 40^{\circ}\text{C}$). Enzim akan rusak apabila berada di suhu tinggi ($>50^{\circ}\text{C}$) dan enzim akan tidak aktif apabila berada di suhu rendah (0°C). Termolabil merupakan sifat enzim yang dapat berubah akibat pengaruh

suhu. Enzim akan mengalami denaturasi ketika suhu terlalu jauh (tinggi) dari suhu optimal suatu enzim (Poedjiadi, 1994). Perhatikan Gambar 6 terjadinya perubahan bentuk sisi aktif enzim apabila suhu tidak sesuai dengan enzim tersebut.



Gambar 6. Grafik Aktivitas Enzim pada Suhu

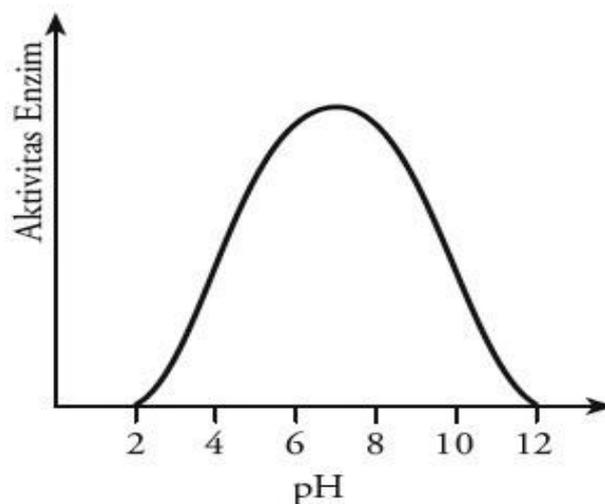
Hal ini disebabkan karena terbukanya lipatan molekul enzim, sehingga interaksi hidrofobik menurun dan akhirnya akan membentuk agregat. Substrat akan mengalami perubahan konformasi apabila suhu terlalu tinggi menyebabkan gugus reaktifnya rusak atau menjalani hambatan dalam memasuki sisi aktif enzim (Suhartono, 1989).

4. pH (Derajat Keasaman)

Selain suhu, derajat keasaman (pH) juga merupakan aspek lingkungan yang dapat mencemari kerja enzim. Agar dapat bekerja secara efektif, enzim juga mempunyai pH tertentu. Pada pH netral ($\text{pH} = 7$), pH basa (>7) atau pH asam (<7) enzim dapat bekerja tergantung jenis enzimnya. Misalnya enzim pencerna protein yang memiliki pH optimum 1-2, sedangkan pada enzim pencerna yang lainnya memiliki pH optimum 8. Enzim mampu mengganti substrat menjadi hasil akhir di

pH tertentu. Tetapi, ketika pH diubah kembali, maka enzim kembali mengubah hasil akhir menjadi substrat.

pH lingkungan dapat mempengaruhi struktur ion pada enzim. Enzim mampu membentuk ion positif serta negatif (*Zwitter ion*). Sehingga berubahnya pH dapat mempengaruhi efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk kompleks enzim-substrat. Selain itu, jika pH tinggi maka akan menyebabkan terjadinya proses denaturasi sehingga aktifitas enzim akan turun (Winarno, 1989). Secara umum pengaruh pH terhadap aktivitas enzim ditunjukkan Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Pengaruh pH pada Aktifitas Enzim

5. Inhibitor

Hambatan reaksi enzim (inhibisi) merupakan turunnya kecepatan reaksi enzimatik karena pengaruh dari senyawa kimia tertentu yang terdapat dalam larutan enzim substrat. Yang dapat menghambat suatu reaksi molekul atau ion disebut inhibitor. Proses kerja inhibitor pada umumnya yaitu dengan menyerang sisi aktif enzim maka enzim tidak mampu untuk berikatan lagi dengan substrat sehingga fungsi katalitiknya terganggu (Winarno, 1986).

Metode Destilasi

Destilasi atau penyulingan didefinisikan sebagai pemisah bagian - bagian dalam gabungan beberapa cairan berlandaskan tekanan uap yang berbeda dari masing-masing zat tersebut. Destilasi air merupakan teknik agar dapat memisahkan minyak atsiri yang terdapat dibahan. Destilasi ini, bahan dan air mendidih akan kontak secara langsung (Effendi dan Widjanarko, 2014).

Penyulingan atau destilasi adalah proses pemisahan secara fisik campuran dari bahan yang berbeda yang mempunyai titik didih yang tidak sama, sehingga bagian yang memiliki titik didih rendah akan terpisah dari campuran. Metode ekstraksi tertua pada pengolahan minyak atsiri adalah penyulingan. Minyak yang terdapat di bahan bersifat mudah rusak oleh suhu sangat cocok menggunakan metode ini seperti minyak yang berasal dari daun nilam, jahe, buah pala dan lainnya (Widiastuti, 2012).

Destilasi *stahl* merupakan metode sederhana yang sering diterapkan pada proses ekstraksi minyak atsiri. Destilasi *Stahl* memiliki keunggulan yaitu mampu menentukan kadar minyak atsiri yang diperoleh secara langsung dan dapat menghitung volume minyak atsiri tersebut. Seperti dalam penelitian sebelumnya, mengisolasi minyak *Eucalyptus robusta* dengan alat *Stahl* memperoleh kadar cineole 58,34% yang jauh lebih banyak dibandingkan dengan destilasi uap yang memperoleh kadar cineole 45,4%. Namun kelemahan metode ini menghasilkan rendemen minyak sedikit dan membutuhkan proses waktu yang cukup lama (Sibarani, 2018). Perhatikan Gambar 8 metode destilasi dengan alat *Stahl* berikut ini.

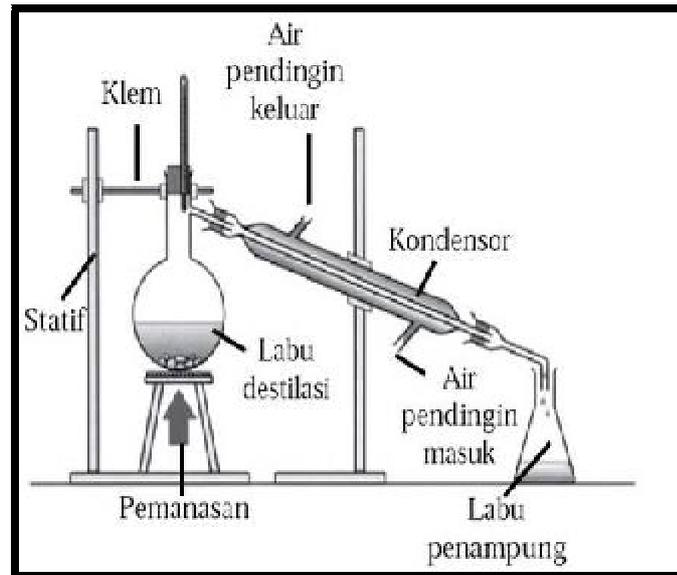


Gambar 8. Destilasi dengan *Stahl*

Destilasi memiliki 3 jenis metode yaitu :

a. Destilasi air (water distillation)

Metode ini disebut juga metode perebusan karena bahan tanaman yang disuling dan air mendidih berinteraksi secara langsung. Oleh karena itu, sering disebut penyulingan langsung. Jumlah air untuk merebus dengan bahan baku yang akan disuling harus seimbang, sesuai kapasitas ketel. Metode kerja destilasi ini yaitu pertama, bahan yang sudah melewati pemotongan dan pelayuan dimasukkan serta ditekan sampai padat. Setelah itu, tutup rapat ketel supaya tidak ada rongga dan uap tidak keluar (Samosir, 2018). Perhatikan Gambar 9 alat destilasi air berikut ini.

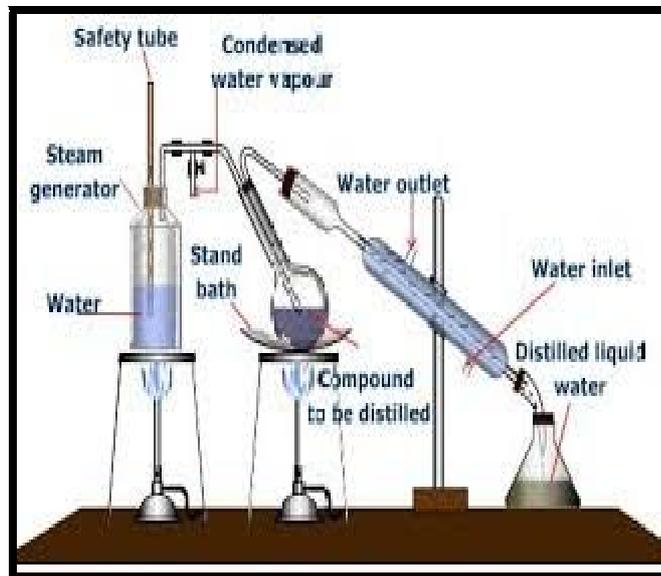


Gambar 9. Alat Destilasi Air

b. Destilasi uap dan air (*water and steam distillation*)

Sistem kukus disebut juga dengan teknik penyulingan dengan uap dan air (*water and steam distillation*). Cara kerja teknik ini yaitu bahan utama dimasukkan di piringan atau plat besi berlubang, menyerupai ayakan yang diletakkan di atas dasar alat suling lalu bagian bawah dituang air. Keuntungan teknik penyulingan ini adalah : 1) uap mampu menembus secara merata ke dalam jaringan bahan baku dengan suhu mencapai 100°C , 2) waktu penyulingannya singkat, 3) memiliki rendemen dan mutu lebih baik (Ketaren, 1987). Adapun alat destilasi uap air ditunjukkan di Gambar 10.

minyak serta kecepatan minyak yang keluar dari bahan (Muyassaroh, 2016). Adapun Gambar 11 alat destilasi uap dibawah ini.



Gambar 11. Alat Destilasi Uap

Untuk meningkatkan rendemen minyak, proses destilasi harus menggunakan metode pendahuluan. Metode enzimatik dan metode fermentasi merupakan metode yang telah digunakan. Tujuannya untuk membuka jaringan yang terdapat didalam bahan. Salah satu faktor terpenting dalam proses ekstraksi yaitu kehilangan beberapa ikatan volatil sehingga terlebih dahulu harus memperhatikan waktu proses ekstraksi, efisiensi ekstraksi, degradasi komponen sewaktu ekstraksi serta teknik ekstraksi yang tepat untuk bahan baku (Khasanah *dkk.*, 2014).

Metode Fermentasi

Salah satu cara yang dibuat untuk menghancurkan jaringan daun adalah fermentasi. Prinsip kerja teknik ini yaitu memecahkan dinding sel rambut kelenjar dari daun menggunakan bantuan enzim yang ada pada mikroorganisme yang

digunakan (Halimah dan Zetra, 2011). Minyak atsiri yang terdapat didalam tanaman aromatik akan ditumbuhi dengan kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, kantung minyak atau rambut granular. Jika sampel dalam keadaan sempurna, minyak atsiri cuman bisa diekstraksi jika uap air mampu melewati jaringan tanaman serta memaksanya keluar. Bahan yang terfermentasi akan berubah fisik dan kimianya sehingga dapat lebih menguntungkan seperti terbentuknya rasa serta baunya. Selain itu, proses fermentasi dapat meningkatkan hasil rendemen bahan tanaman dalam pengolahan minyak atsiri. Perlakuan fermentasi dengan memanfaatkan mikroorganisme dari ragi tempe yang mengandung *Rhizopus* sp dengan tujuan agar terjadi perubahan fisik dan kimia pada kulit jeruk sehingga mampu meningkatkan hasil rendemen dari minyak atsiri kulit jeruk (Laurita dan Herawati, 2016).

Untuk mendegradasi selulosa dalam jaringan daun dapat dilakukan dengan menggunakan *Rhizopus* sp atau yang sering disebut ragi tempe. *Rhizopus* sp mampu menghidrolisis selulosa yang berada di jaringan daun dan menghasilkan enzim *selulase*. Enzim ini yang memudahkan keluarnya minyak yang terperangkap dalam jaringan daun sehingga rendemen yang dihasilkan lebih banyak pada proses fermentasi ini. Menurut Djafar *dkk* (2014), berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa metode fermentasi dapat meningkatkan rendemen. Dengan menggunakan bantuan *Rhizopus* sp pada proses fermentasi dapat meningkatkan hasil rendemen yang dihasilkan. Djonny (2018) menyatakan bahwa pada fermentasi minyak nilam menggunakan ragi tempe menghasilkan minyak terbaik pada fermentasi hari ke-4 dimana menghasilkan nilai rendemen tertinggi yaitu sebesar 0,31% dan karakteristik

minyak hasil penyulingan daun dan batang nilam mempunyai berat jenis 0,983 % ; indeks bias 1,5071 ; kelarutan dalam alkohol 90 % 1:10 dan bilangan asam 4,4655 yang sudah mencapai syarat mutu Standar Nasional Indonesia (SNI).

Adapun proses fermentasi daun *Eucalyptus grandis* menggunakan *Rhizopus* sp dapat diperhatikan di Gambar 12.

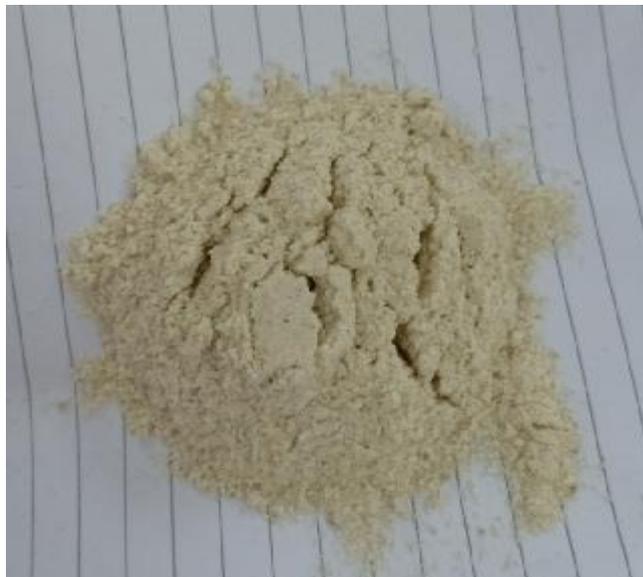


Gambar 12. Proses Fermentasi Daun *Eucalyptus grandis*

***Rhizopus* sp**

Rhizopus sp merupakan salah satu jamur kosmopolitan dalam jumlah besar ditemukan pada tanah, buah dan sayuran dan produk buatan yang berfermentasi. *Rhizopus* sp merupakan kapang terpenting untuk memperoleh enzim seperti *amilase*, *protease* dan *lipase*. Aplikasi yang umum dikembangkan di masyarakat adalah pemanfaatan *Rhizopus* sp untuk memfermentasi kedelai yang dapat meningkatkan nilai gizi produk dan dapat berguna bagi kesehatan ternak. Bibit ragi tempe digunakan dalam proses pengolahan tempe. Maka dari itu ragi tempe disebut dengan *starter tempe*. Kandungan yang terdapat dalam ragi tempe yaitu jamur *Rhizopus* sp. yang dikenal sebagai jamur tempe. Dalam pengolahan

tradisional, pembuatan tempe biasanya mengambil jamur tempe pada daun pisang dan daun jati bekas pembungkus tempe pada waktu pembuatan, proses ini dikenal dengan “usar”. Tetapi, penggunaan daun pisang ini sangat terbatas dan hanya untuk produksi kecil. Usar (inokulum tempe yang dibuat secara tradisional) telah lama dikenal dan digunakan oleh masyarakat. Selain itu masyarakat juga mengenal jenis inokulum yang lain yaitu buatan LIPI (Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia). Pada produksi besar, starter tempe dihasilkan untuk memperbanyak jamur tempe (*Rhizopus* sp) di suatu media tertentu. Kemudian, spora diawetkan dalam keadaan kering bersama medium tempat tumbuh jamur tempe tersebut. Dengan menggunakan proses ini, kualitas yang diproduksi akan terjamin karena dosis starter yang digunakan mudah diatur (Sukardi *dkk.*, 2008). *Rhizopus* sp atau yang sering kita kenal sebagai ragi tempe dapat dilihat pada Gambar 13.



Gambar 13. Ragi Tempe (*Rhizopus* sp)

Suhu optimum pertumbuhan *Rhizopus* sp berkisar 31-35°C. *Rhizopus* sp akan tumbuh dan berkembang dengan baik pada kisaran pH 3-6.

Untuk pertumbuhannya, jamur juga memerlukan air namun jamur memerlukan air lebih sedikit dibanding bakteri. *Rhizopus* sp dikenal sebagai ragi tempe karena manfaatnya untuk mengubah kedelai menjadi tempe. Kapang ini termasuk dalam Genus *Rhizopus*, Famili Mucoraceae, Ordo Mucorales, Kelas Zygomycetes. Koloni *Rhizopus* sp berwarna putih hingga abu kecokelatan dengan bertambahnya umur biakan dan tinggi mencapai kurang lebih 10 mm. Beberapa ragam genus dari *Rhizopus*, diantaranya *R. arrhizus*, *R. microspores*, *R. Oligosporus*, *R. Oryzaen* dan *R. Stolonifer* (Bujang dan Taib, 2014). Faktor-faktor yang mempengaruhi proses fermentasi dengan bantuan *Rhizopus* sp adalah pH, Suhu, oksigen dan substrat. Selain itu, lama fermentasi dan jumlah inokulum merupakan faktor penting dalam proses fermentasi (Suprihatin, 2010).

Pengaruh Konsentrasi Mikroba

Konsentrasi mikroba sangat berpengaruh pada proses fermentasi. Penambahan mikroba atau ragi yang digunakan harus berdasarkan bahan yang difermentasi. Perlakuan fermentasi dengan memanfaatkan mikroorganisme dari ragi tempe yang mengandung *Rhizopus* sp dengan tujuan agar terjadi perubahan fisik dan kimia pada kulit jeruk sehingga mampu meningkatkan hasil rendemen dari minyak atsiri kulit jeruk (Laurita dan Herawati, 2016).

Penambahan konsentrasi *Rhizopus* tergantung pada bahan yang akan difermentasi. Karena setiap bahan berbeda-beda konsentrasi mikroba yang dibutuhkan untuk fermentasi. Jika penambahan mikroba pada bahan sedikit atau terlalu banyak maka akan mempengaruhi hasil fermentasi tersebut. Konsentrasi mikroba dihitung dengan metode berat kering (Nugraha *dkk.*, 2015). Salam (2019)

menyatakan bahwa konsentrasi enzim semakin tinggi maka jumlah rendemen yang terdapat pada minyak *Eucalyptus* semakin tinggi.

Konsentrasi enzim, konsentrasi substrat, suhu serta pH bertambah sehingga menyebabkan kecepatan suatu reaksi yang menggunakan enzim akan meningkat. Namun kecepatan reaksi enzim tidak akan meningkat biarpun konsentrasi substrat serta suhu ditambahkan disebabkan karena seluruh bagian aktif enzim sudah dipenuhi oleh substrat. Ketika suhu naik terus maka menyebabkan terjadinya denaturasi, sampai mendapatkan titik optimum bagi suatu reaksi yang memanfaatkan enzim tersebut (Poedjiadi dan Supriyanti, 2005).

Kunci keberhasilan atau kegagalan suatu fermentasi adalah mikroorganisme yang digunakan. Laras dan Adi (2009) telah melaporkan bahwa menambahkan ragi tempe pada fermentasi krim santan sebanyak 4 gr per liter memperoleh rendemen minyak dengan jumlah 33,2% berwarna bening.

Ketika konsentrasi mikroorganisme yang digunakan terlalu sedikit maka menyebabkan kecepatan fermentasi menurun. Hal ini terjadi karena sedikitnya massa yang akan menguraikan glukosa menjadi etanol pada fermentasi etanol, namun jika terlalu banyak maka membutuhkan substrat yang lebih banyak karena substrat yang ada tidak mencukupi. Keadaan tersebut menyebabkan turunnya kecepatan proses fermentasi (Umam, 2018).

Pengaruh Waktu Fermentasi

Rendemen berpengaruh nyata terhadap waktu fermentasi tetapi pada karakteristik sifat minyak kayu manis misalnya berat jenis, indeks bias serta kelarutan dalam etanol 70% tidak berpengaruh nyata. Fermentasi dengan ragi tempe yang diberikan pada daun kayu manis dengan waktu fermentasi selama 2, 4

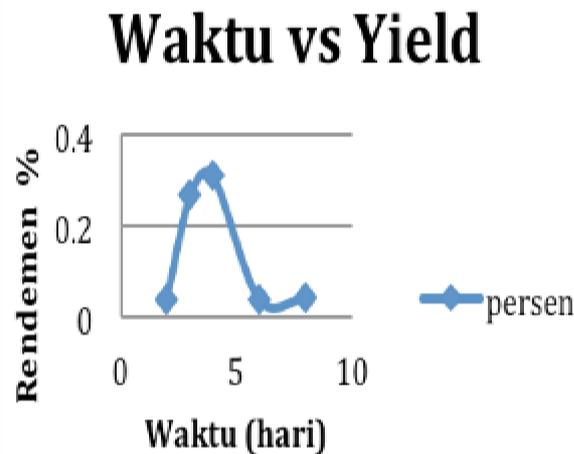
dan 6 hari, dihasilkan rendemen terbaik pada waktu fermentasi hari ke-4. Rendemen tertinggi dihasilkan pada hari ke-4 yang merupakan perlakuan terbaik dibandingkan fermentasi hari ke 2 dan 6 (Khasanah *dkk*, 2014).

Pada fermentasi minyak nilam, rendemen yang paling tinggi pada hari ke 4 dari pada variasi waktu fermentasi lainnya yaitu sebesar 0,31% . Dari hasil ini dapat disimpulkan; semakin lama proses fermentasi, semakin berkurang perolehan rendemen minyak. Hal tersebut disebabkan karena prosedur fermentasi dapat meruntuhkan dinding sel dan rambut kelenjar yang membalut minyak pada waktu tertentu, oleh karena itu bagian-bagian minyak yang mempunyai titik didih kecil akan berada dibagian luar dari robekan daun lalu menguap serta terikut oleh angin pada proses fermentasi (Djonny, 2018).

Pada fermentasi kulit jeruk manis baby pacitan dengan bantuan *Rhizopus* sp, rendemen tertinggi dihasilkan pada hari ke 6 yang diduga sebagai kondisi yang sesuai dan waktu yang optimal untuk kapang tumbuh pada bahan baku kulit jeruk. Rendemen yang dihasilkan sebesar yaitu sebesar 1,65 %. Hal ini diduga, daun dan kulit jeruk tidak memiliki karakteristik bahan yang sama, sehingga kondisi dan waktu optimal kapang tumbuh pada kulit jeruk tidak sama dengan waktu optimal kapang tumbuh pada daun kayu manis maupun daun nilam (Laurita dan Herawati, 2016).

Mikroorganisme mengalami peningkatan pertumbuhan beriringan dengan meningkatnya waktu fermentasi. Pertumbuhan jamur dapat diamati dari hari pertama fermentasi sampai hari ke-4 fermentasi. Namun sesudah hari ke-4, aktivitas jamur mulai turun. Sehingga kemampuan jamur untuk mendegradasi bahan lignoselulosa ikut menurun. Peristiwa ini dapat berpengaruh pada sistem

kerja jamur dalam proses fermentasi. Hal ini pengaruh oleh hasil total fenolik tertinggi pada varian lama fermentasi hari ke-4 dengan jumlah 5,01 mg/g (Aruben, 2016). Adapun Gambar 14 yaitu grafik pengaruh waktu fermentasi terhadap rendemen minyak atsiri.



Gambar 14. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Rendemen Minyak

Pada gambar di atas, dapat di lihat bahwa meningkatnya waktu fermentasi sangat mempengaruhi % rendemen minyak nilam dan perolehan tertinggi di variasi waktu 4 hari fermentasi (0,31 %) (Djonny, 2018).

Sifat Fisika Minyak *Eucalyptus*

a. Indeks Bias

Indeks bias merupakan perbandingan antara kecepatan cahaya dalam udara dengan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Apabila cahaya melewati media semi padat ke media lebih padat maka sinar mengalami pembiasan dari garis normal. Alat yang dapat mengukur indeks bias serta berguna untuk identifikasi dan deteksi ketidakmurnian suatu zat yakni refraktometer (Samosir, 2018).

Nilai indeks bias dipengaruhi oleh adanya air yang masih terkandung dalam minyak tersebut. Semakin banyak kandungan airnya, maka semakin kecil nilai indeks bias tersebut. Minyak atsiri yang memiliki nilai indeks bias yang tinggi lebih bagus dibanding dengan minyak dengan nilai indeks bias rendah (Djonny, 2018).

Rantai karbon serta ikatan rangkap dapat mempengaruhi nilai indeks bias, Nilai indeks bias dipengaruhi oleh jumlah rantai karbon dan jumlah ikatan rangkap, yang artinya senyawa yang terdapat pada minyak akan mempengaruhi nilai indeks bias. Jika rantai ikatan karbon semakin panjang serta semakin banyak pula ikatan rangkap dalam minyak atsiri tersebut maka nilai indeks bias akan semakin besar. Kandungan utama minyak atsiri daun kayu manis adalah senyawa golongan terpena yang merupakan senyawa bersifat jenuh. Sehingga pada waktu fermentasi, indeks bias berpengaruh tidak nyata (Khasanah *dkk.*, 2014).

b. Bobot Jenis

Berat jenis (densitas) merupakan perbandingan antara berat molekul minyak dengan air dalam volume air yang memiliki kesamaan dengan volume minyak. Bobot jenis selalu dikaitkan dengan berat komponen yang terkandung didalam minyak. Jika semakin besar fraksi berat yang terkandung dalam minyak maka semakin besar pula nilai densitasnya. Dalam menentukan kualitas serta kemurnian minyak maka berat jenis merupakan salah kriteria terpenting (Samosir, 2018).

Berat jenis merupakan perbandingan bobot zat di udara pada suhu 25°C terhadap bobot air dengan volume dan suhu yang memiliki kesamaan. Untuk

menentukan bobot jenis dapat menggunakan alat piknometer. Umumnya berat jenis pada minyak atsiri berkisar antara 0,800-1,180. Berat jenis yang diperoleh berbeda-beda berdasarkan komponen kimia yang terkandung pada minyaknya. Adanya kotoran yang terdapat didalam minyak atsiri juga akan menyebabkan berat jenis bertambah (Djonny, 2018).

c. Putaran Optik

Tiap minyak atsiri dapat memutar bidang polarisasi cahaya kekiri dan kanan. Jenis minyak atsiri, suhu dan panjang gelombang cahaya yang diaplikasikan sangat mempengaruhi besar pemutaran dalam bidang polarisasi minyak atsiri. Untuk menentukan nilai putaran optik dapat memakai alat polarimeter (Ketaren, 1985).

Jenis dan konsentrasi senyawa, panjang jalan yang ditempuh sinar melewati senyawa tersebut dan suhu pengukuran akan mempengaruhi besarnya suatu nilai putaran optik. Besarnya nilai putaran optik minyak merupakan kesatuan dari nilai putaran optik senyawa penyusunnya. Hasil dari penyulingan minyak dengan bahan yang memiliki ukuran kecil menghasilkan lebih banyak senyawa penyusunnya daripada bahan yang memiliki ukuran besar, sehingga putaran optik yang dapat diukur adalah gabungan (interaksi) dari komponen senyawa yang lebih kecil.

d. Kelarutan Dalam Alkohol

Nilai perbandingan antara banyaknya minyak atsiri yang larut sempurna dengan pelarut alkohol disebut dengan kelarutan dalam alkohol. Minyak atsiri memiliki nilai kelarutan dalam alkohol yang spesifik, sehingga sifat seperti ini

dapat dimanfaatkan sebagai penentuan kemurnian minyak atsiri. Minyak atsiri biasanya banyak yang mudah larut dalam etanol dan jarang yang larut dalam air, sehingga menggunakan etanol berbagai tingkat konsentrasi dapat mengetahui kelarutan minyak atsiri tersebut. Kecepatan daya larut serta mutu minyak dapat juga sebagai penentu kelarutan minyak tersebut. Waktu yang lama pada proses penyimpanan dapat merubah kelarutan minyak. Hal ini dikarenakan menurunnya daya kelarutan saat proses polimerasi sehingga membutuhkan etanol dengan konsentrasi tinggi untuk melarutkannya. Proses penyimpanan yang tidak baik mampu mempercepat polimerisasi diantaranya cahaya, udara serta adanya air bisa memunculkan pengaruh yang kurang baik (Guenther, 2006).

Sifat minyak atsiri yaitu mudah terlarut pada pelarut organik tetapi sukar larut dalam air. Heath (1978) mengungkapkan bahwa minyak atsiri yang memiliki konsentrasi senyawa terpen tinggi tidak mudah larut, tetapi yang memiliki senyawa terpen-o gampang larut pada etanol. Penyulingan bertingkat dengan uap panas lebih gampang dan cepat menerobos bahan karena susunannya tidak padat dibandingkan dengan penyulingan yang tidak bertingkat, sehingga menyebabkan titik didih rendah pada senyawa terpen-o tetapi dihasilkan lebih banyak dalam minyak sehingga minyaknya tidak sukar larut pada alkohol. Lebih sukar menguapkan minyak dalam bahan yang besar sehingga menyebabkan senyawa seperti seskuiterpen mengalami polimerasi karena pengaruh dari suhu yang terlalu tinggi yang terjadi pada proses penyulingan serta tidak dapat menguapkan polimer yang sudah terbentuk. Peristiwa ini menyebabkan komposisi terpen-o yang terdapat dalam minyak lebih rendah sehingga sulit larut pada alkohol. Semakin

lama proses penyulingan maka minyak lebih banyak menghasilkan senyawa fraksi-fraksi berat sehingga kelarutannya dalam alkohol semakin rendah.

e. Aroma

Aroma merupakan suatu bau yang diperoleh produk yang dapat diuji dengan indra pembau. Pengujian terhadap bau pada industri makanan sangat penting karena dapat memberikan nilai suatu produk yang diuji secara cepat. Ketimbang rasa, uji organoleptik bau lebih kompleks. Bau atau aroma akan mempercepat timbulnya rangsangan air liur (Malo, 2019).

Aroma mempunyai fungsi penting untuk produk makanan karena pengujian terhadap bau atau aroma dapat memberikan hasil penilaian terhadap produk tentang diterima atau tidaknya produk tersebut. Masyarakat tidak suka jika aroma yang ditimbulkan oleh produk tidak menyengat atau hambar (Zuhriani, 2015).

Minyak atsiri adalah minyak yang memiliki bau yang biasa dikenal dengan sebutan minyak eteris atau minyak terbang (essential oil, volatile oil) yang dihasilkan oleh tanaman. Minyak tersebut memiliki bau yang sama dengan bau tanaman penghasil minyak tersebut. Minyak atsiri diperoleh dari bagian tanaman tertentu misalnya daun, akar, batang, kulit, bunga, biji dan rimpang. Minyak atsiri gampang menguap pada suhu kamar (25°C) tanpa mengalami dekomposisi dan berbau wangi sesuai dengan tanaman penghasilnya (Samosir, 2018).

f. Warna

Warna merupakan pengujian yang dapat dilihat secara langsung oleh panelis. Untuk menentukan kualitas bahan biasanya tergantung oleh warna yang

dimiliki bahan tersebut. Panelis biasanya menilai dengan melihat warna tersebut menyimpang atau tidak, jika warna tidak menyimpang maka panelis akan lebih menyukainya. Warna suatu produk merupakan salah satu parameter pendukung yang di nilai panelis. Warna adalah kenampakan dari produk dan diamati dengan indra penglihatan (Malo, 2019).

Pada umumnya penerimaan suatu produk dilihat dari warna sehingga warna sangat mempengaruhi menarik tidaknya produk tersebut. Jika warnanya menarik maka penerimaan produk akan meningkat. Pada saat pemasakan, warna dapat berubah, yang disebabkan oleh hilangnya sebagian pigmen akibat pelepasan cairan sel pada saat pemasakan atau pengolahan maka intensitas warna semakin menurun (Elviera, 1988).

Metode pengambilan minyak atsiri akan berpengaruh terhadap warna, dimana warna dari minyak atsiri dari proses *cold press* cenderung lebih gelap daripada hasil minyak atsiri yang diperoleh dari proses distilasi. Selain itu, cara penyimpanan juga akan berpengaruh terhadap warna dikarenakan minyak atsiri sangat mudah teroksidasi dan membentuk resin yang menyebabkan warna menjadi lebih gelap. Oleh sebab itu, untuk mencegah perubahan warna minyak atsiri dapat disimpan dalam botol berwarna gelap. Minyak atsiri pada umumnya memiliki warna kuning muda sampai coklat kemerahan, tetapi setelah disimpan minyak berubah menjadi kuning tua sampai coklat muda akibat proses oksidasi dan pembentukan resin. Selain itu, perubahan warna pada minyak atsiri juga dipengaruhi angin (udara) (Malik, 2017).

Rendemen Minyak *Eucalyptus*

Rendemen merupakan perbandingan antara hasil minyak atsiri yang telah diekstraksi dengan bahan tumbuhan sebelum diekstraks. Faktor yang mempengaruhi minyak atsiri sehingga rendemen dan mutu sangat bervariasi seperti, perlakuan terhadap bahan baku penghasil minyak atsiri, jenis alat penyulingan, perlakuan minyak atsiri setelah ekstraksi, pengemasan dan penyimpanan bahan ataupun produk yang sangat berpengaruh terhadap kualitas minyak atsiri tersebut. Selain itu juga terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi rendemen dan mutu minyak atsiri, diantaranya cara penyulingan, lingkungan tempat tumbuh, waktu pemetikan bahan dan penanganan bahan sebelumnya penyulingan. Pada fermentasi cair maupun fermentasi padat, waktu fermentasi terhadap rendemen memberikan pengaruh nyata (Khasanah *dkk.*, 2014).

Nilai rendemen minyak atsiri dapat dihitung dengan membandingkan berat daun awal sebelum dilakukan proses pengambilan minyak dengan minyak yang telah dihasilkan dari proses tersebut. Rendemen dinyatakan dengan persentase (%). Jika semakin besar jumlah rendemen yang diperoleh maka melambangkan jumlah minyak yang diperoleh semakin banyak (Ratnaningsih, 2018).

BAHAN DAN METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Teknologi Hasil Pertanian Fakultas Pertanian Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Penelitian ini dilakukan pada bulan Januari-Mei 2019.

Bahan Penelitian

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun *Eucalyptus grandis* diperoleh dari kawasan PT Toba Pulp Lestari Tbk. dan *Rhizopus* sp diperoleh dari pasar tradisional.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan saat penelitian ini adalah timbangan, wadah, pipet tetes, piknometer, refraktometer, alat destilasi, botol filial dan erlenmeyer.

Metode Penelitian

Metode penelitian dilakukan dengan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial yang terdiri dari dua faktor yaitu :

Faktor I : Waktu Fermentasi (L) terdiri dari 4 taraf, yaitu :

$L_1 = 48$ jam

$L_2 = 96$ jam

$L_3 = 144$ jam

$L_4 = 192$ jam

Faktor II : Konsentrasi *Rhizopus* sp (K) terdiri dari 4 taraf, yaitu :

$$K_1 = 5\%$$

$$K_2 = 10\%$$

$$K_3 = 15\%$$

$$K_4 = 20\%$$

Banyaknya kombinasi perlakuan (Tc) adalah sebanyak $4 \times 4 = 16$, sehingga jumlah ulangan percobaan (n) dapat dihitung sebagai berikut :

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

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

$$16n-16 \geq 15$$

$$16n \geq 31$$

$$n \geq 1,937 \dots \dots \dots \text{Dibulatkan menjadi } n = 2$$

Maka untuk ketelitian penelitian, dilakukan ulangan sebanyak 2 (dua) kali.

Model Rancangan Percobaan

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

$$Y_{ijk} = \pi + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \epsilon_{ijk}$$

Dimana:

Y_{ijk} = Hasil pengamatan atau respon karena pengaruh faktor L pada taraf ke -i dan faktor K pada taraf ke -j dengan ulangan pada taraf ke-k.

π = Efek nilai tengah

α_i = Efek perlakuan L pada taraf ke- i

β_j = Efek perlakuan K pada taraf ke- j

$(\alpha\beta)_{ij}$ = Efek interaksi faktor L pada taraf ke- I dan faktor K pada taraf ke-j

- _{ijk} = Efek galat dari faktor L pada taraf ke-i dan faktor K pada taraf ke -j dan ulangan pada taraf ke -k.

Pelaksanaan Penelitian

I. Ekstraksi Minyak *Eucalyptus* dari Daun *Eucalyptus grandis* Menggunakan *Rhizopus* sp

- Daun *Eucalyptus grandis* di bersihkan dari tangkai dan kotoran yang masih tertinggal.
- Dikering anginkan sampai dengan tingkat kelembapan 40%.
- Ditimbang daun sebanyak 50 g, kemudian dicacah untuk memperkecil ukuran lalu masukkan kedalam wadah fermentor.
- Disemprotkan aquades hingga daun dalam keadaan lembab (perbandingan aquades dan daun adalah 1:10) yang bertujuan menciptakan kondisi yang cocok untuk pertumbuhan *Rhizopus* sp.
- Ditaburi *Rhizopus* sp dengan konsentrasi sebanyak 5%, 10%, 15% dan 20%..
- Dilakukan fermentasi selama 48, 96, 144 dan 192 jam.

II. Pemisahan Minyak *Eucalyptus* dari Pengotor dengan Cara Destilasi

- Dirangkai alat destilasi
- Dimasukkan bahan yang telah difermentasi ke dalam labu destilasi.
- Dibagian lain, air yang digunakan untuk destilasi dipanaskan hingga mencapai titik didih air.
- Lakukan destilasi uap selama 3 jam dengan suhu 100°C.
- Ditampung destilat dengan erlenmeyer.

- Dilakukan pengujian terhadap minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* yang telah dihasilkan, yaitu meliputi pengujian rendemen, berat jenis, indeks bias dan uji organoleptik aroma.

Parameter Pengamatan

Rendemen Minyak Atsiri

- Ditimbang berat awal daun *Eucalyptus grandis* segar sebanyak 50 gr.
- Kemudian ditimbang berat akhir hasil ekstraksi minyak *Eucalyptus grandis*
- Lalu untuk mengetahui hasil rendemen dapat dihitung dengan perhitungan rendemen minyak atsiri yaitu :

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

Keterangan :

R = Rendemen minyak (%)

Bobot akhir = Jumlah minyak yang dihasilkan (gram)

Bobot awal = Jumlah bahan sebelum diolah (gram)

Berat Jenis (Vogel, 1980)

- Bersihkan piknometer dan keringkan dengan oven pada suhu 105⁰C selama 15 - 30 menit.
- Keluarkan piknometer dan masukkan dalam desikator selama 10 - 15 menit.
- Catat volume piknometer yang digunakan.
- Timbang piknometer kosong dan catat.

- Masukkan sampel ke dalam piknometer sampai di atas leher, pasang tutupnya hingga sampel dapat mengisi pipa kapiler sampai penuh dan pastikan tidak ada gelembung udara di dalam piknometer.
- Keringkan bagian luar piknometer dengan tisu.
- Timbang piknometer berisi sampel dan catat.
- Setelah selesai piknometer dibersihkan dan dikeringkan.
- Massa jenis suatu zat dapat ditentukan dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Berat Jenis} = \frac{(\text{Berat Piknometer} + \text{Minyak})}{(\text{Volume Minyak dalam Piknometer})} \times \text{Berat Jenis air}$$

Indeks Bias (Vogel, 1980)

- Dibersihkan prisma atas dan bawah pada refraktometer dengan alkohol, dibiarkan sebentar sampai kering.
- Ditetaskan sampel minyak *Eucalyptus* pada permukaan prisma bagian bawah lalu ditutup kedua bagian prisma dan dikencangkan skrupnya.
- Pembacaan suhu dapat dilihat pada termometer, lalu dicatat.
- Pembacaan diulang sampai tiga kali dan diambil rata-ratanya. Lalu hitung menggunakan rumus berikut :

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

Keterangan :

n = Indeks bias mutlak medium

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

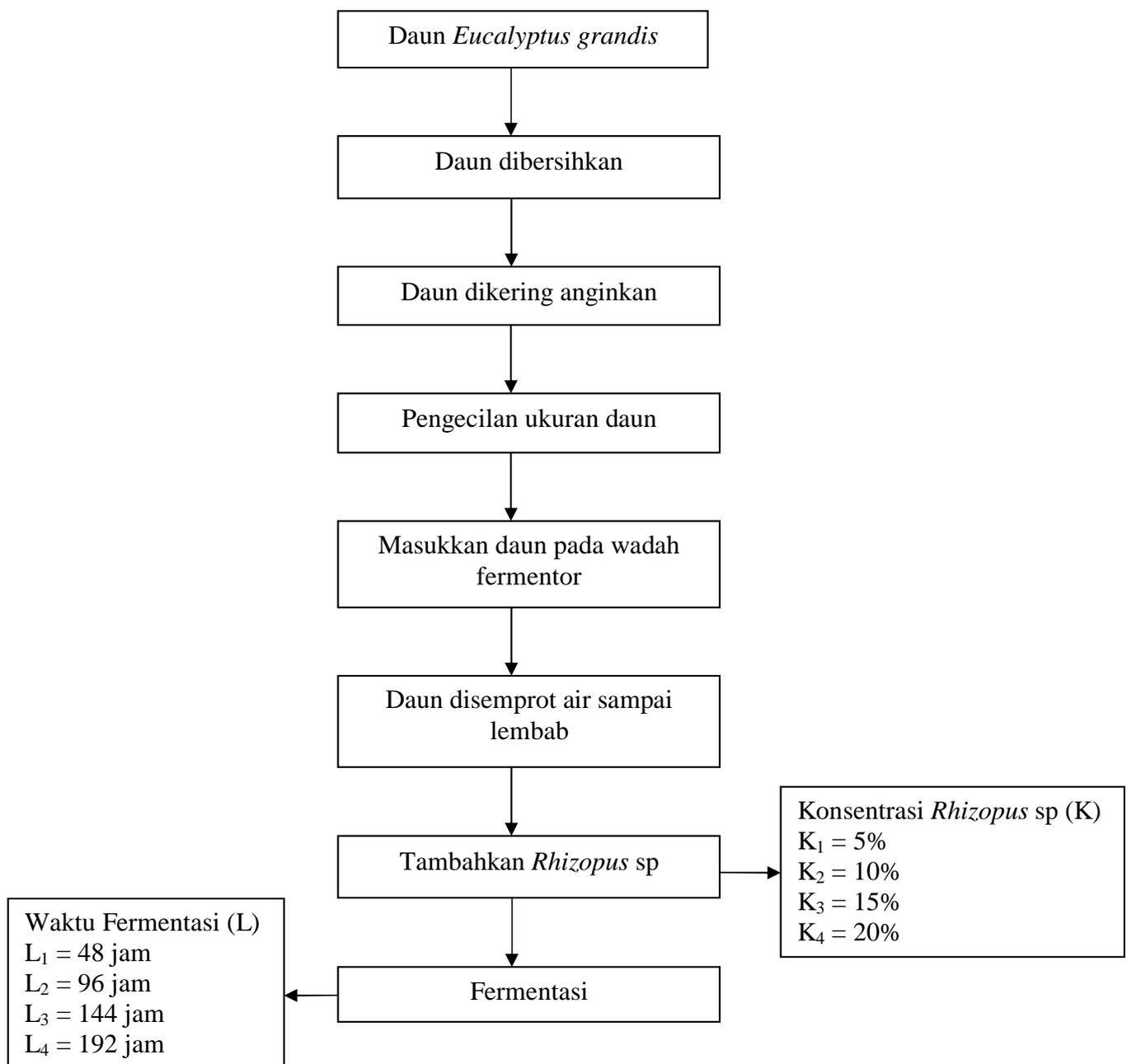
v = Cepat rambat cahaya di ruang medium

Uji Organoleptik Aroma (Malik, 2017)

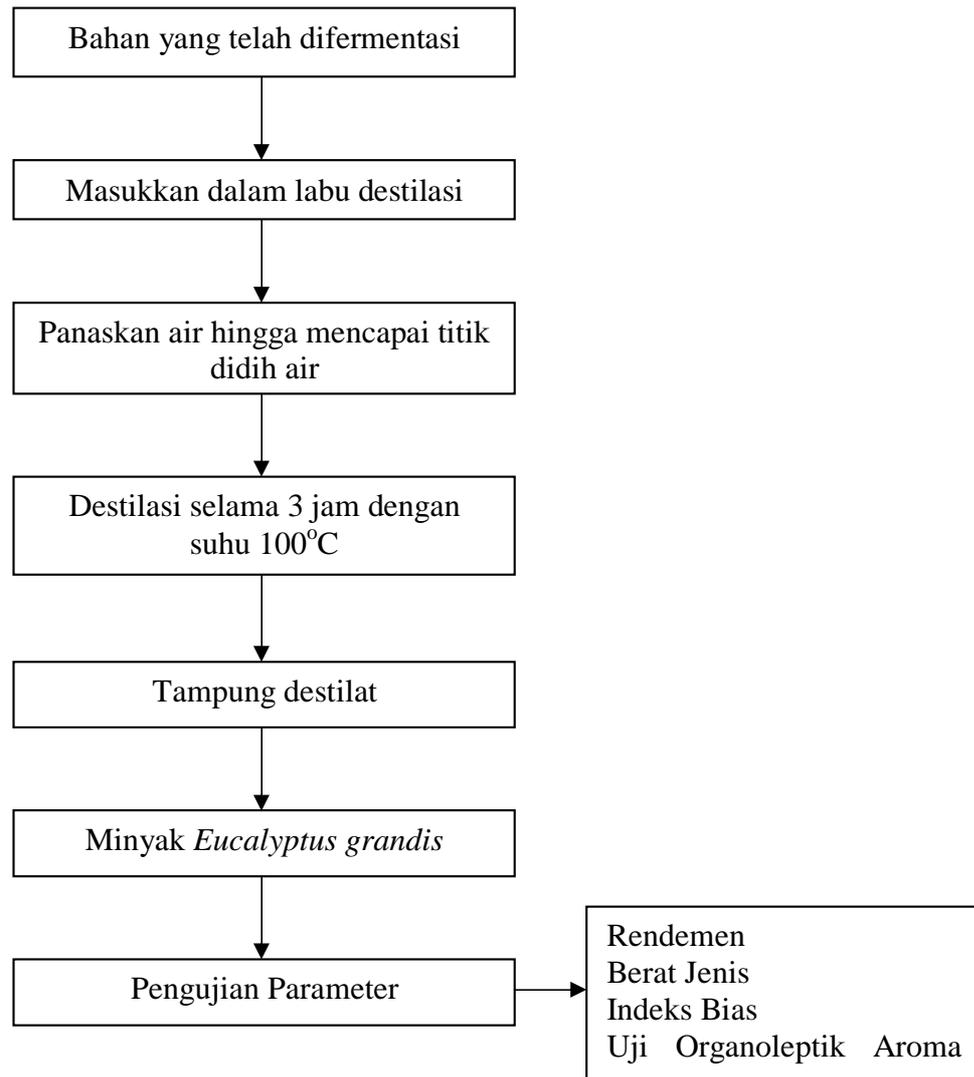
Pemeriksaan warna dilakukan dengan uji organoleptik yaitu dengan cara, minyak *Eucalyptus* yang didapat dituangkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dihirup aroma minyak atsiri tersebut. Adapun skala uji hedonik terhadap pemeriksaan aroma dapat dilihat dibawah ini.

Tabel 2. Skala uji hedonik terhadap pemeriksaan aroma

Skala hedonik	Skala numerik
Sangat suka	4
Suka	3
Tidak suka	2
Sangat tidak suka	1



Gambar 15. Diagram Alir Ekstraksi Minyak *Eucalyptus* Dari Daun *Eucalyptus grandis* Menggunakan *Rhizopus sp*



Gambar 16. Diagram Alir Proses Pemisahan Minyak *Eucalyptus grandis* Dari Pengotor Dengan Cara Destilasi

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari hasil penelitian dan uji statistik, secara umum menunjukkan bahwa waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp berpengaruh terhadap analisis sifat fisika minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* yang di amati.

Data rata-rata hasil pengamatan pengaruh waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp terhadap masing-masing parameter dapat diketahui pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Parameter Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Waktu Fermentasi	Rendemen (%)	Berat Jenis (g/ml)	Indeks Bias (m/s)	Aroma
L ₁ = 48 jam	2,675	0,8968	1,330	2,838
L ₂ = 96 jam	3,400	0,8941	1,334	2,930
L ₃ = 144 jam	2,500	0,8935	1,336	2,833
L ₄ = 192 jam	2,413	0,8920	1,338	2,778

Tabel 3 di atas menginformasikan bahwa semakin lama waktu fermentasi, maka rendemen dan aroma akan berfluktuatif sedangkan pada berat jenis akan semakin menurun dan pada indeks bias akan semakin meningkat. Rata-rata hasil pengamatan pengaruh konsentrasi *Rhizopus* sp terhadap parameter dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Parameter Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Konsentrasi <i>Rhizopus</i> sp	Rendemen (%)	Berat Jenis (g/ml)	Indeks Bias (m/s)	Aroma
K ₁ = 5%	2,775	0,8928	1,336	3,038
K ₂ = 10%	2,813	0,8943	1,335	3,044
K ₃ = 15%	2,875	0,8945	1,334	3,080
K ₄ = 20%	2,988	0,8975	1,333	3,106

Tabel 4 di atas dapat menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi *Rhizopus* sp, maka rendemen, berat jenis dan aroma semakin meningkat. Sedangkan pada indeks bias semakin menurun.

Hasil uji statistik dan pembahasan dari pengaruh lama fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp terhadap parameter yang diamati dapat dilihat secara terperinci dibawah ini :

Rendemen

Pengaruh Waktu Fermentasi

Berlandaskan data sidik ragam (Lampiran 1) dapat diperhatikan bahwa pada uji rendemen, waktu fermentasi menghasilkan pengaruh berbeda sangat nyata ($p < 0,01$). Tingkat perbedaannya sudah diuji dengan uji beda rata-rata serta dapat diperhatikan pada Tabel 5.

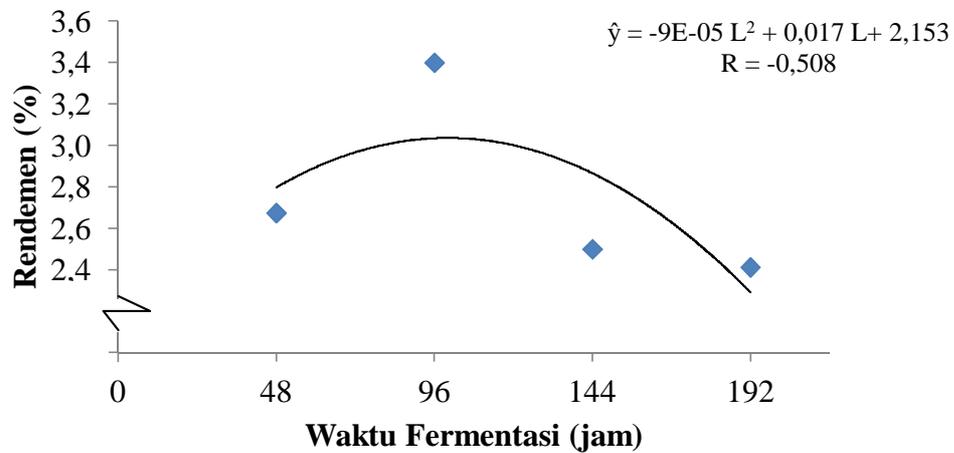
Tabel 5. Hasil Uji Beda Rata-rata Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Rendemen Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan L	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
L ₁ = 48 jam	-	2,675	-	-	b	B
L ₂ = 96 jam	2	3,400	0,073	0,100	a	A
L ₃ = 144 jam	3	2,500	0,076	0,105	c	C
L ₄ = 192 jam	4	2,413	0,078	0,108	d	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 di perhatikan bahwa perlakuan L₁ berbeda sangat nyata terhadap perlakuan L₂, L₃ dan L₄. Perlakuan L₂ berbeda sangat nyata dengan perlakuan L₃ dan L₄. Perlakuan L₃ tidak berbeda sangat nyata dengan perlakuan L₄. Nilai rataan rendemen tertinggi berada pada perlakuan L₂ yaitu

sebesar 3,400 % sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan L₄ yaitu sebesar 2,413%. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 17.



Gambar 17. Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Rendemen Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan Gambar 17 di atas dapat diketahui bahwa rendemen yang dihasilkan dari perlakuan waktu fermentasi selama 48 jam sampai 96 jam mengalami peningkatan dan mengalami penurunan pada waktu fermentasi selama 144 jam sampai 192 jam. Pada waktu fermentasi selama 48 jam rendemen berada pada titik 2,675% kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada waktu fermentasi selama 96 jam menjadi 3,400%, sedangkan pada waktu fermentasi 144 jam dan 192 jam mengalami penurunan berada pada titik 2,413% . Hal ini menunjukkan bahwa nilai rendemen yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 2,413% sampai 3,400% dan rata-ratanya yaitu 2,747%. Grafik diatas menunjukkan bahwa hasil terendah berada pada perlakuan waktu fermentasi selama 192 jam. Hal ini disebabkan karena perlakuan waktu fermentasi selama 192 jam merupakan perlakuan dimana *Rhizopus* sp sudah mulai tidak aktif atau aktifitasnya sudah menurun. Akibatnya, pemecahan sel-sel daun oleh *Rhizopus* sp

tidak berjalan dengan baik dalam mengekstrak minyak atsiri pada daun sehingga rendemen pada perlakuan lama waktu fermentasi selama 192 jam memiliki rendemen yang terendah.

Menurut Khasanah *dkk*, (2014) minyak atsiri yang terdapat didalam tanaman aromatik dikelilingi dengan kelenjar minyak, pembuluh-pembuluh, kantung minyak atau rambut granular. Proses fermentasi yang dilakukan sebelum ekstraksi minyak bertujuan agar sel-sel dalam minyak pecah (Sumitra dan Wijandi, 2003). Peristiwa ini terjadi karena pada hari ke-4 merupakan waktu optimal *Rhizopus* sp tumbuh sehingga minyak yang diperoleh masih mampu diekstrak semuanya sedangkan pada hari ke-6 diduga telah terjadi penguapan pada minyak atsiri sehingga rendemen yang diperoleh semakin sedikit. Sehingga semakin lama proses fermentasi sehingga semakin banyak minyak yang menguap (Khasanah *dkk.*, 2014).

Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp

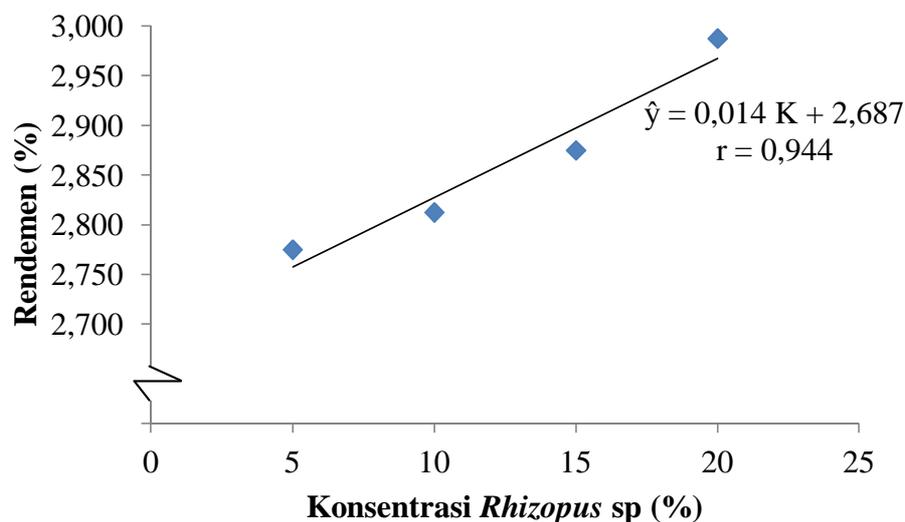
Berlandaskan data sidik ragam (Lampiran 1) dapat diperhatikan bahwa konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap rendemen. Tingkat perbedaan tersebut telah di uji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Parameter Rendemen Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*.

Perlakuan K	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
K ₁ = 5 %	-	2,775	-	-	b	B
K ₂ = 10 %	2	2,813	0,073	0,100	b	B
K ₃ = 15 %	3	2,875	0,076	0,105	b	B
K ₄ = 20 %	4	2,988	0,078	0,108	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 perlakuan K₁ berbeda tidak nyata terhadap perlakuan K₂ dan K₃ dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan K₄. Perlakuan K₂ berbeda tidak nyata dengan perlakuan K₃ dan berbeda sangat nyata terhadap K₄. Perlakuan K₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K₄. Nilai rataan rendemen tertinggi berada pada perlakuan K₄ yaitu sebesar 2,988% sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan K₁ yaitu sebesar 2,775%. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 18.



Gambar 18. Grafik Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Rendemen Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan Gambar 18 diatas dapat diketahui bahwa rendemen yang dihasilkan dari perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp 5% hingga ke perlakuan 20% mengalami peningkatan. Pada konsentrasi 5% rendemen berada pada titik 2,775% kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada konsentrasi 20% menjadi 2,988%. Hal ini menunjukkan bahwa nilai rendemen yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 2,775% sampai 2,988% dan rata-ratanya yaitu 2,8627%. Grafik diatas menunjukkan bahwa hasil terendah berada pada perlakuan 5%. Hal ini disebabkan karena perlakuan 5% merupakan perlakuan dengan jumlah konsentrasi mikroba paling sedikit. Akibatnya, pemecahan sel-sel daun berjalan lama untuk mengekstrak minyak *Eucalyptus*, ini menyebabkan rendemen pada perlakuan 5% memiliki rendemen yang terendah. Hal ini karena semakin sedikitnya jumlah konsentrasi *Rhizopus* sp yang digunakan, maka semakin sedikit rendemen yang dihasilkan. Rendemen tertinggi berada pada konsentrasi mikroba 20% sebesar 2,988%. Menurut Salam (2019) menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim maka nilai rendemen yang terdapat pada minyak *Eucalyptus* semakin tinggi.

Interaksi Antara Waktu Fermentasi dan Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Rendemen Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

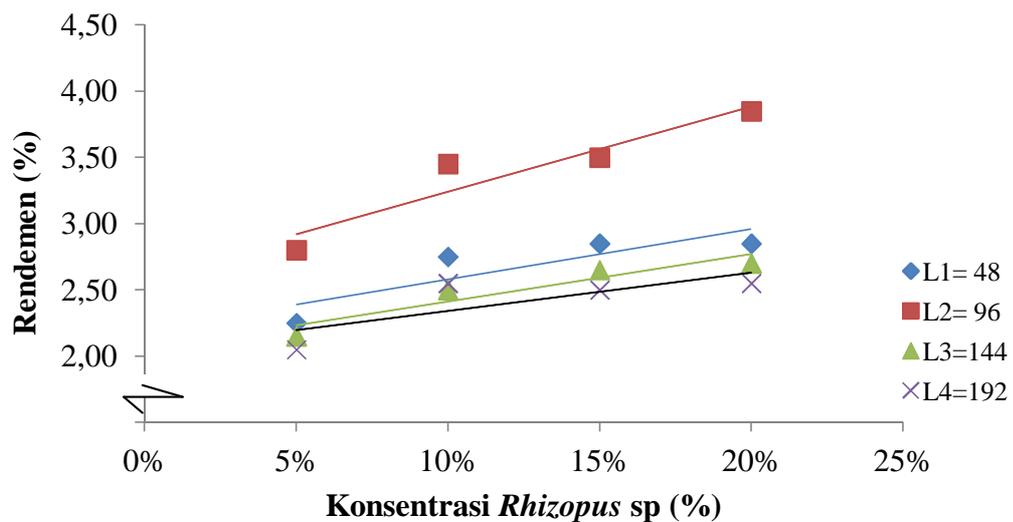
Berdasarkan daftar sidik ragam (lampiran 1) diketahui bahwa interaksi waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap rendemen yang diperoleh. Hasil uji beda rata-rata pengaruh interaksi waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp terhadap nilai rendemen terlihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Interaksi waktu fermentasi dan Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Rendemen Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
L1K1	-	2,250	-	-	g	E
L1K2	2	2,750	0,1452	0,1999	cd	CD
L1K3	3	2,850	0,1525	0,2101	c	C
L1K4	4	2,850	0,1564	0,2154	c	C
L2K1	5	2,800	0,1598	0,2198	cd	C
L2K2	6	3,450	0,1617	0,2227	b	B
L2K3	7	3,500	0,1631	0,2261	b	B
L2K4	8	3,850	0,1641	0,2285	a	A
L3K1	9	2,150	0,1651	0,2304	gh	E
L3K2	10	2,500	0,1661	0,2319	ef	D
L3K3	11	2,650	0,1661	0,2333	de	CD
L3K4	12	2,700	0,1665	0,2343	cde	CD
L4K1	13	2,050	0,1665	0,2353	h	E
L4K2	14	2,550	0,1670	0,2363	ef	D
L4K3	15	2,500	0,1670	0,2372	f	D
L4K4	16	2,550	0,1675	0,2377	ef	D

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

Berlandaskan Tabel 7 di atas, maka diketahui bahwa perlakuan dengan waktu fermentasi 96 jam dan konsentrasi *Rhizopus* sp 20% (L₂K₄) memperoleh nilai rendemen yang tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebesar 3,850%. Sedangkan nilai terendah yaitu pada perlakuan dengan waktu fermentasi 192 jam dan konsentrasi *Rhizopus* sp 5% (L₄K₁) sebesar 2,050%. Hubungan interaksi antara waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp terhadap rendemen yang dihasilkan dapat dilihat secara jelas pada Gambar 19.



Gambar 19. Grafik Hubungan Interaksi Waktu Fermentasi Dan Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Rendemen Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Gambar 19 di atas memperlihatkan bahwa seiring meningkatnya waktu fermentasi, maka rendemen yang diperoleh antar masing-masing perlakuan akan berfluktuatif, hal tersebut dapat dilihat pada grafik antar perlakuan waktu fermentasi. Pada perlakuan L_1K_1 rendemen diperoleh yaitu 2,250% dan terus naik sampai perlakuan L_2K_4 rendemen di peroleh yaitu 3,850%, kemudian terjadi penurunan pada perlakuan L_3K_1 yaitu 2,150%. Namun jika seluruh perlakuan L_1 sampai dengan L_4 dirata-ratakan, maka rendemen akan semakin menurun seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp, terjadi perbedaan bahwa banyaknya konsentrasi akan menghasilkan rendemen yang berfluktuatif, namun jika dirata-ratakan nilai tersebut akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi *Rhizopus* sp. Hal ini berarti bahwa seiring dengan meningkatnya waktu fermentasi dengan *Rhizopus* sp maka rendemen yang dihasilkan akan berfluktuatif antar masing masing perlakuan. Namun, jika dilihat dari rata-rata hasil perolehan rendemen antar

perlakuan maka semakin tinggi *Rhizopus* sp maka rendemen akan semakin meningkat dan akan semakin menurun akibat bertambahnya waktu fermentasi. Menurunnya rendemen dengan bertambahnya waktu fermentasi mengindikasikan bahwa *Rhizopus* sp tidak dapat aktif dengan baik pada waktu fermentasi selama 192 jam sehingga rendemen yang dihasilkan menurun. Menurut Aruben (2016) pertumbuhan mikroorganisme mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya waktu fermentasi. Rentang pertumbuhannya yang signifikan dapat dilihat dari hari pertama fermentasi hingga hari ke-4 (96 jam) fermentasi. Akan tetapi setelah 96 jam fermentasi, kegiatan mikroorganisme jamur mulai menurun. Sehingga kemampuan jamur untuk mendegradasi bahan lignoselulosa juga menurun. Hal ini akan mempengaruhi sistem kerja jamur dalam proses fermentasi. Pengaruh tersebut ditunjukkan dengan hasil total fenolik tertinggi pada varian lama fermentasi hari ke-4 (96 jam) dengan jumlah 5,01 mg/g.

Berat Jenis

Pengaruh Waktu Fermentasi

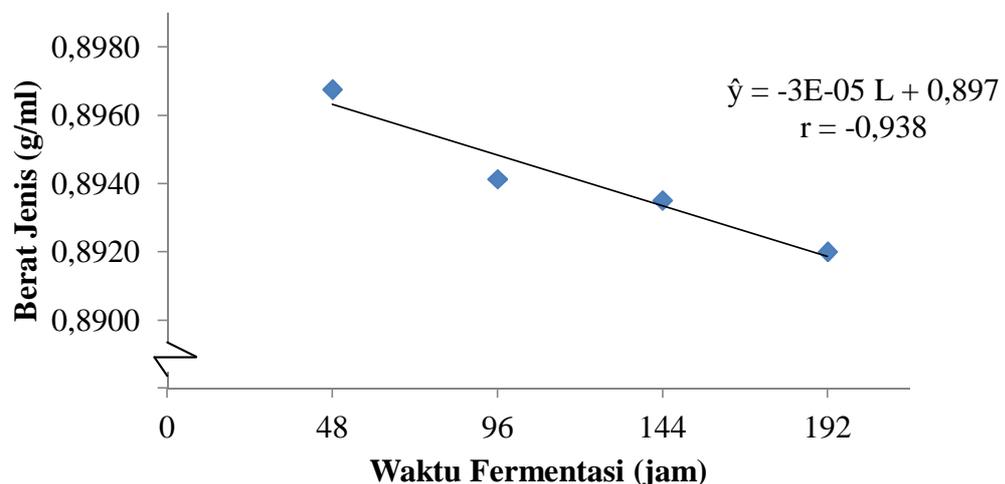
Berlandaskan data sidik ragam (Lampiran 2) dapat dilihat bahwa waktu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap berat jenis. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji Beda Rata-rata Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Berat Jenis Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan L	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
L ₁ = 48 jam	-	0,8968	-	-	a	A
L ₂ = 96 jam	2	0,8941	0,00162	0,00224	b	B
L ₃ = 144 jam	3	0,8935	0,00170	0,00235	b	B
L ₄ = 192 jam	4	0,8920	0,00175	0,00241	c	B

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

Berdasarkan Tabel 8 dapat diketahui bahwa perlakuan L₁ berbeda sangat nyata terhadap perlakuan L₂, L₃ dan L₄. Perlakuan L₂ berbeda tidak nyata dengan perlakuan L₃ dan L₄. Perlakuan L₃ berbeda tidak nyata dengan perlakuan L₄. Nilai rata-rata berat jenis tertinggi berada pada perlakuan L₁ yaitu sebesar 0,8968 g/ml sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan L₄ yaitu sebesar 0,8920 g/ml. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 20.



Gambar 20. Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Berat Jenis Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Pada Gambar 20 di atas menunjukkan bahwa berat jenis yang dihasilkan dari perlakuan waktu fermentasi 48 jam sampai ke perlakuan 192 jam mengalami penurunan. Pada waktu fermentasi 48 jam berat jenis berada pada titik 0,8968 g/ml kemudian terus terjadi penurunan sampai pada waktu fermentasi selama 192 jam menjadi 0,8920 g/ml. Hal ini menunjukkan bahwa nilai berat jenis yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,8920 g/ml sampai 0,8968 g/ml dan rata-ratanya yaitu 0,8941 g/ml. Nilai tersebut tidak berbeda jauh dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Ratnaningsih (2018) dengan metode destilasi yakni sebesar 0,89 g/ml.

Gambar 20 di atas menunjukkan bahwa hasil terendah berada pada perlakuan waktu fermentasi selama 192 jam. Hal ini disebabkan karena perlakuan dengan waktu fermentasi 192 jam merupakan perlakuan dengan waktu fermentasi paling lama. Akibatnya, senyawa lain yang ada pada minyak atau kotoran yang dapat menurunkan mutu minyak tidak hilang dengan penguapan. Apabila nilai berat jenis dari minyak terlalu tinggi atau terlalu rendah, dapat dipastikan adanya senyawa lain yang tidak seharusnya berada di minyak tersebut. Perbedaan berat jenis yang diperoleh berdasarkan komponen kimia yang terkandung dalam minyak. Pada umumnya minyak atsiri yang mengandung molekul berantai panjang memiliki banyak ikatan rangkap. Sehingga, semakin banyak ikatan rangkap dalam minyak menyebabkan semakin tinggi juga nilai berat jenis minyak yang dihasilkan dan sebaliknya jika semakin sedikit ikatan rangkap dalam minyak maka berat jenis yang dihasilkan semakin rendah (Djonny, 2018).

Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp

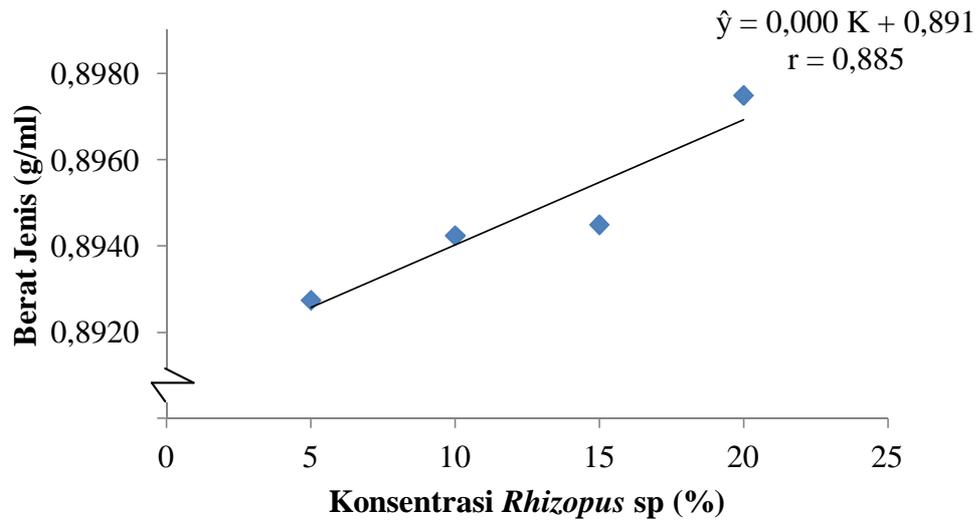
Berlandaskan data sidik ragam (Lampiran 2) dapat dilihat bahwa konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap berat jenis. Tingkat perbedaan tersebut telah di uji dengan menggunakan uji beda rata-rata dan dapat di lihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Uji Beda Rata-rata Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Berat Jenis Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan K	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
K ₁ = 5 %	-	0,8928	-	-	b	B
K ₂ = 10 %	2	0,8943	0,00162	0,00224	b	B
K ₃ = 15 %	3	0,8945	0,00170	0,00235	b	B
K ₄ = 20 %	4	0,8975	0,00175	0,00241	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 9 dapat diketahui bahwa berat jenis mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi *Rhizopus* sp . Perlakuan K₁ berbeda tidak nyata terhadap perlakuan K₂ dan K₃ dan berbeda sangat nyata pada perlakuan K₄. Perlakuan K₂ berbeda tidak nyata dengan perlakuan K₃ dan berbeda sangat nyata pada perlakuan K₄. Perlakuan K₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K₄. Nilai rataan berat jenis tertinggi berada pada perlakuan K₄ yaitu 0,8975 g/ml sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan K₁ yaitu sebesar 0,8928 g/ml. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 21.



Gambar 21. Grafik Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Berat Jenis Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan Gambar 21 di atas diketahui bahwa berat jenis yang dihasilkan dari perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp 5% sampai ke perlakuan 20% mengalami peningkatan. Pada konsentrasi *Rhizopus* sp 5% berat jenis berada pada titik 0,8928 g/ml kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada perlakuan 20% menjadi 0,8975 g/ml. Hal tersebut dapat diketahui bahwa nilai berat jenis yang didapat antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,8928 g/ml sampai 0,8975 g/ml atau jika dirata-ratakan yaitu 0,8948 g/ml. Jika dibandingkan dengan standar minyak *Eucalyptus* menurut SNI 06-3954-2006, dapat diketahui minyak *Eucalyptus* memiliki kisaran berat jenis antara 0,900 – 0,930 sedangkan berat jenis yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* 0,8928 – 0,8975. Dari nilai berat jenis ini menunjukkan bahwa berat jenis yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* tidak berbeda jauh dengan minyak *Eucalyptus*. Nilai berat jenis (densitas) minyak atsiri merupakan perbandingan antara berat minyak dengan berat air pada volume air yang sama dengan volume minyak. Berat jenis

sering dihubungkan dengan berat komponen yang terkandung didalamnya. Semakin besar fraksi berat yang terkandung dalam minyak, semakin besar pula nilai densitasnya. Berat jenis merupakan salah satu kriteria penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Penentuan berat jenis menggunakan alat piknometer (Malik, 2017).

Indeks Bias

Pengaruh Waktu Fermentasi

Dari data sidik ragam (Lampiran 3) dapat dilihat bahwa waktu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap indeks bias yang dihasilkan. Tingkat perbedaan tersebut telah di uji dengan uji beda rata-rata, perhatikan Tabel 10.

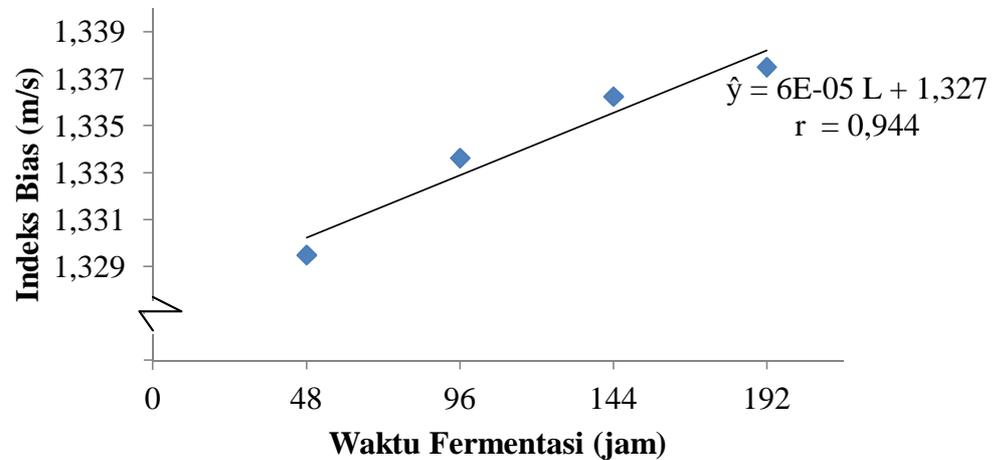
Tabel 10. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Indeks Bias Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan L	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
L ₁ = 48 jam	-	1,330	-	-	d	D
L ₂ = 96 jam	2	1,334	0,00050	0,00068	c	C
L ₃ = 144 jam	3	1,336	0,00052	0,00072	b	B
L ₄ = 192 jam	4	1,338	0,00053	0,00074	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 10 dapat diketahui bahwa perlakuan L₁ berbeda sangat nyata terhadap perlakuan L₂, L₃ dan L₄. Perlakuan L₂ berbeda sangat nyata dengan perlakuan L₃ dan L₄. Perlakuan L₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan L₄. Nilai rataan indeks bias tertinggi berada pada perlakuan L₄ yaitu sebesar 1,338

m/s sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan L_1 yaitu sebesar 1,330 m/s. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 22.



Gambar 22. Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Indeks Bias Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Pada Gambar 22 di atas disimpulkan bahwa indeks bias yang di peroleh dari perlakuan waktu fermentasi 48 jam sampai ke perlakuan 192 jam mengalami peningkatan. Pada waktu fermentasi selama 48 jam indeks bias berada pada titik 1,330 m/s kemudian terjadi kenaikan sampai waktu fermentasi selama 192 jam menjadi 1,338 m/s. Hal ini menunjukkan bahwa nilai indeks bias yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 1,330 m/s sampai 1,338 m/s dan rata-ratanya yaitu 1,3345 m/s. Jika dibandingkan dengan standar minyak *Eucalyptus* menurut SNI 06-3954- 2006, dapat diketahui minyak *Eucalyptus* memiliki kisaran indeks bias antara 1,450- 1,470 sedangkan indeks bias yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* 1,330– 1,338. Dari nilai indeks bias ini menunjukkan bahwa indeks bias yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* tidak berbeda jauh dengan minyak *Eucalyptus*.

Gambar 22 di atas menginformasikan bahwa hasil terendah berada pada perlakuan waktu fermentasi 48 jam dengan nilai 1,330 m/s. Hal ini disebabkan karena perlakuan waktu fermentasi 48 jam merupakan perlakuan dengan waktu yang sebentar sehingga air yang terkandung belum banyak yang menguap sehingga air mempengaruhi nilai indeks bias dari minyak. Djonny (2018) menyatakan bahwa, nilai indeks bias dipengaruhi oleh adanya air yang masih terkandung dalam minyak tersebut. Semakin banyak kandungan airnya, semakin kecil nilai indeks biasnya. Jadi minyak dengan indeks bias yang besar lebih bagus dibandingkan dengan minyak dengan indeks bias yang kecil.

Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp

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

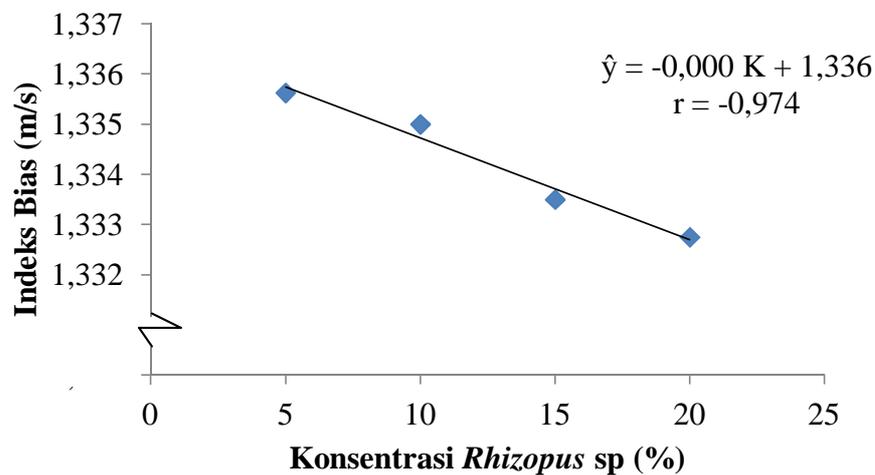
Tabel 11. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Indeks Bias Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan K	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
K ₁ = 5 %	-	1,336	-		a	A
K ₂ = 10 %	2	1,335	0,00050	0,00068	b	B
K ₃ = 15 %	3	1,334	0,00052	0,00072	c	C
K ₄ = 20 %	4	1,333	0,00053	0,00074	d	D

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

Berdasarkan Tabel 11 dapat diketahui bahwa perlakuan K₁ berbeda sangat nyata terhadap perlakuan K₂, K₃ dan K₄. Perlakuan K₂ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K₃ dan K₄. Perlakuan K₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan

K₄. Nilai rata-rata indeks bias tertinggi berada pada perlakuan K₁ yaitu sebesar 1,336 m/s sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan K₄ yaitu sebesar 1,333 m/s. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 23.



Gambar 23. Grafik Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Indeks Bias Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Pada Gambar 23 di atas dapat diinformasikan bahwa indeks bias yang diperoleh dari perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp 5% sampai ke perlakuan 20% mengalami penurunan. Pada konsentrasi *Rhizopus* sp 5% indeks bias berada pada 1,336 m/s, kemudian terus terjadi penurunan sampai titik terendah yaitu pada konsentrasi *Rhizopus* sp 20% menjadi 1,333 m/s dan jika dirata-ratakan yaitu 1,3345 m/s. Pengaruh perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp dapat meningkatkan nilai indeks bias. Hal ini dikarenakan semakin banyak *Rhizopus* sp semakin banyak endapan dalam minyak. Kotoran atau endapan dalam minyak dapat mempengaruhi indeks bias. Selain itu air juga dapat mempengaruhi indeks bias, semakin banyak kandungan airnya maka nilai indeks biasnya semakin rendah. Hal ini karena sifat air yang mudah membiaskan cahaya yang datang. Hal ini sesuai dengan Djonny (2018) nilai indeks bias dipengaruhi oleh adanya air yang masih

terkandung dalam minyak tersebut. Semakin banyak kandungan airnya, semakin kecil nilai indeks biasnya. Jadi minyak dengan indeks bias yang besar lebih bagus dibandingkan dengan minyak dengan indeks bias yang kecil.

Uji Organoleptik Aroma

Pengaruh Waktu Fermentasi

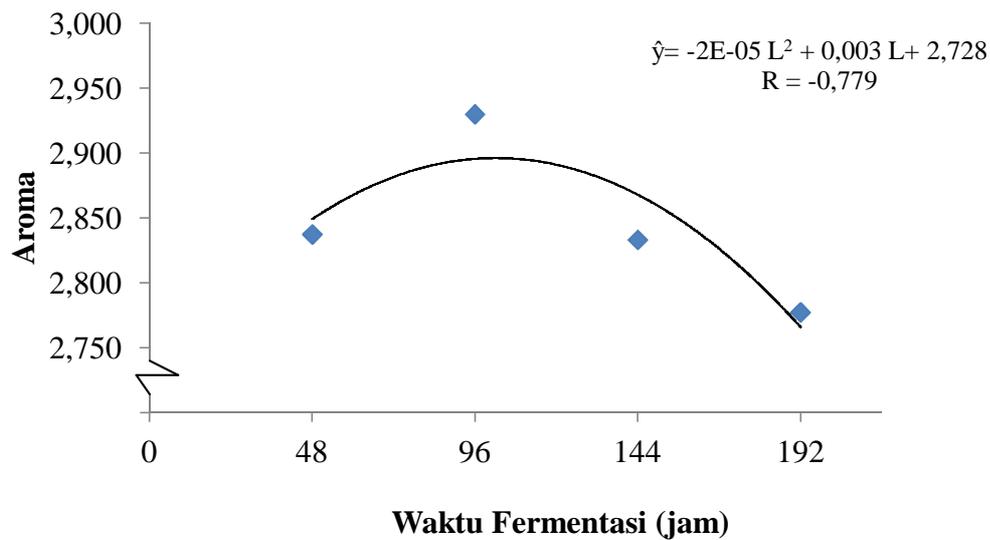
Berlandaskan data sidik ragam (Lampiran 4) diinformasikan yaitu waktu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap uji organoleptik aroma. Tingkat perbedaan tersebut telah diuji dengan uji beda rata-rata dan dapat dilihat pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Waktu fermentasi Terhadap Uji Organoleptik Aroma Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan L	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
L ₁ = 48 jam	-	2,838	-	-	a	A
L ₂ = 96 jam	2	2,930	0,0712	0,0981	b	A
L ₃ = 144 jam	3	2,833	0,0748	0,1030	b	A
L ₄ = 192 jam	4	2,778	0,0767	0,1057	b	B

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 L₁ berbeda tidak nyata terhadap perlakuan L₂, L₃ dan berbeda sangat nyata pada perlakuan L₄. Perlakuan L₂ berbeda tidak nyata dengan perlakuan L₃ dan berbeda sangat nyata pada perlakuan L₄. Perlakuan L₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan L₄. Nilai rata-rata aroma tertinggi berada pada perlakuan L₂ yaitu sebesar 2,930 sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan L₄ yaitu sebesar 2,778. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 24.



Gambar 24. Grafik Pengaruh Waktu Fermentasi Terhadap Uji Organoleptik Aroma Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalytus grandis*

Gambar 24 menginformasikan bahwasannya aroma yang di peroleh dari perlakuan waktu yang dihasilkan dari perlakuan waktu fermentasi 48 jam sampai 96 jam mengalami peningkatan dan mengalami penurunan pada 144 jam sampai 192 jam. Pada waktu fermentasi selama 48 jam aroma berada pada titik 2,838 kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada waktu fermentasi selama 96 jam menjadi 2,930, sedangkan pada waktu fermentasi 144 jam dan 192 jam mengalami penurunan berada pada titik 2,778 . Hal ini menunjukkan bahwa nilai aroma yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 2,778 sampai 2,930 dan rata-ratanya yaitu 2,845.

Hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa waktu fermentasi pada 96 jam menghasilkan aroma yang paling disukai, dikarenakan pada waktu fermentasi 96 jam menghasilkan rendemen yang paling banyak sehingga aroma khas daun *Eucalyptus* semakin tercium. Dan pada waktu fermentasi 96 jam aroma daun masih segar tidak seperti pada waktu fermentasi ke 192 jam, daun sudah

mengalami kebusukan dan aroma khas daun *Eucalyptus* sudah tidak tercium lagi sehingga panelis kurang menyukainya. Hal ini sesuai dengan Samosir (2018) minyak atsiri diperoleh dari bagian tanaman tertentu seperti daun, akar, batang, kulit, bunga, biji dan rimpang. Minyak atsiri mudah menguap pada suhu kamar (25°C) tanpa mengalami dekomposisi dan berbau wangi sesuai dengan tanaman penghasilnya.

Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp

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

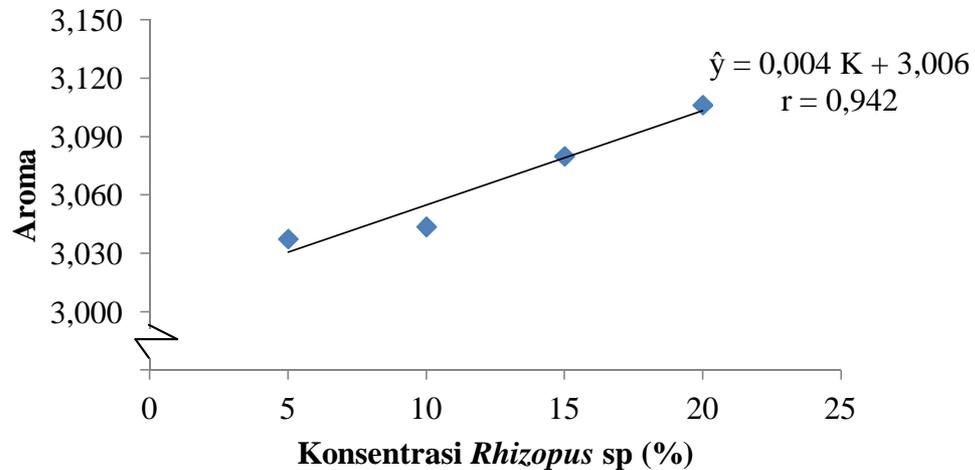
Tabel 13. Hasil Uji Beda Rata-Rata Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Uji Organoleptik Aroma Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Perlakuan K	Jarak	Rataan	LSR		Notasi	
			0,05	0,01	0,05	0,01
K ₁ = 5 %	-	3,038	-	-	a	A
K ₂ = 10 %	2	3,044	0,0712	0,0981	a	A
K ₃ = 15 %	3	3,080	0,0748	0,1030	a	A
K ₄ = 20 %	4	3,106	0,0767	0,1057	b	B

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 K₁ berbeda tidak nyata terhadap perlakuan K₂, K₃ dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan K₄. Perlakuan K₂ berbeda tidak nyata dengan perlakuan K₃ dan berbeda sangat nyata terhadap perlakuan T₄. Perlakuan K₃ berbeda sangat nyata dengan perlakuan K₄. Nilai rataan aroma tertinggi berada pada perlakuan K₄ yaitu sebesar 3,106

sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan K_1 yaitu sebesar 3,038. Hal tersebut dapat dilihat secara jelas pada Gambar 25.



Gambar 25. Grafik Pengaruh Konsentrasi *Rhizopus* sp Terhadap Aroma Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

Gambar 25 menginformasikan bahwa aroma yang dihasilkan dari perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp 5% sampai ke perlakuan 20% mengalami peningkatan. Pada konsentrasi *Rhizopus* sp 5% aroma berada pada titik 3,038. Kemudian terus terjadi peningkatan sampai pada perlakuan konsentrasi *Rhizopus* sp 20% menjadi 3,106. Hal tersebut dapat diketahui bahwa nilai aroma yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 3,038 sampai 3,106 dan jika dirata-ratakan yaitu 3,067. Hal ini tidak berbeda jauh dengan aroma yang dihasilkan dengan perlakuan waktu fermentasi dimana aroma masih dalam katagori yang di sukai. Hal ini sesuai dengan Malik (2017) bahwa dalam perdagangan, kadar *cineole* dalam minyak atsiri *Eucalyptus* menjadi pertimbangan utama, kualitas minyak atsiri *Eucalyptus* ditentukan oleh kadar *cineolenya* karena *cineole* memiliki aroma yang disukai, semakin tinggi kadar *cineole* dalam minyak atsiri *Eucalyptus* maka kualitas minyak atsiri *Eucalyptus*

tersebut dikatakan semakin baik. Standar Mutu Minyak *Eucalyptus* (SNI 06-3954-2006) dimana aroma minyak *Eucalyptus* yang khas sangat di sukai karena aromanya menenangkan.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dan pembahasan Pengaruh Waktu Fermentasi dan Konsentrasi *Rhizopus* sp terhadap Analisis Minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis* dapat ditarik kesimpulan antara lain:

1. Waktu fermentasi memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap rendemen, berat jenis, indeks bias dan uji organoleptik aroma pada minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*.
2. Konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap rendemen, berat jenis, indeks bias dan uji organoleptik aroma pada minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*.
3. Interaksi waktu fermentasi dan konsentrasi *Rhizopus* sp memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap rendemen minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*. Tetapi memberikan pengaruh berbeda tidak nyata ($p < 0,05$) terhadap berat jenis, indeks bias dan uji organoleptik aroma minyak *Eucalyptus* daun *Eucalyptus grandis*.

Saran

Disarankan kepada peneliti selanjutnya agar mengembangkan penelitian ini dengan menggunakan *Rhizopus* sp yang murni agar memperoleh hasil yang maksimal dan pada proses fermentasi harus memperhatikan faktor-faktor penting seperti konsentrasi mikroba yang ditambahkan, suhu, pH dan faktor lingkungan lainnya agar proses fermentasi berjalan dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Aruben, N. W. 2016. *Peningkatan Konsentrasi Senyawa Fenolik Antioksidan Dari Dedak Dengan Cara Fermentasi*. Universitas Diponegoro. Semarang. Skripsi.
- Audina, M. 2017. *Potensi Ekstrak Daun Eucalyptus Pellita F. Muell Sebagai Bioherbisida Pasca tumbuh*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Damanik, M. 2009. *Kajian Minyak Atsiri Daun Eukaliptus (Eucalyptus urophylla) Umur 4 Tahun di PT. Toba Pulp lestari Tbk, Departemen Kehutanan Fakultas Pertanian*. Universitas Sumatera Utara. (skripsi).
- Djafar, F., Jufri dan Dahlan, A. 2014. *Ekstraksi Minyak dengan Metode Fermentasi Menggunakan Media Rhizopus Orizae*. Baristand Industri Aceh. Aceh.
- Djonny, M. 2018. *Pengaruh Waktu Fermentasi Daun Nilam Menggunakan Rhizopus sp. Terhadap Rendemen Minyak Nilam*. Sinergitas Multidisiplin Ilmu Pengetahuan dan Teknologi, vol. 1. ISSN:2622-0520.
- Effendi, V.P, dan Widjanarko, S.B. 2014. *Distilasi Dan Karakterisasi Minyak Atsiri Rimpang Jeringau (Acorus Calamus) Dengan Kajian Lama Waktu Distilasi Dan Rasio Bahan : Pelarut*. Universitas Brawijaya Malang. Malang.
- Elviera, G. 1988. *Pengaruh Pelayuan Bahan Baku Terhadap Mutu Bakso*. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Gakuubi, Martin Muthee. 2016. "Steam Distillation Extraction and Chemical Composition of Essential Oil of Toddalia Asiatica L. and Eucalyptus". 5 (2) : 99-104.
- Gunther, E. 2006. *Minyak Atsiri*. Jilid I. Diterjemahkan oleh S. Ketaren. UI-Press. Jakarta.
- Hadi, S. 2012. *Pengambilan Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (Clove oil) Menggunakan Pelarut N-Heksana Dan Benzena*. Universitas Negeri Semarang. Semarang.
- Halimah, D.P.P. dan Zetra, Y. 2011. *Minyak Atsiri Dari Tanaman Nilam (Pogostemon Cablin Benth.) Melalui Metode Fermentasi Dan Hidrodistilasi Serta Uji Bioaktivitasnya*. Institusi Teknologi Sepuluh November. Surabaya.
- Hartati, I. 2010. *Kajian Produksi Kolagen dari Limbah Sisik Ikan secara Ekstraksi Enzimatis*. Universitas Wahid Hasyim. Semarang
- Heath, H. B. 1978. *Flavor Technology, Profit, Product, Application*. The AVI Publishing Company. New York.

- Irawati, Rosyida. 2016. *Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat pada Enzim Selulase Kasar yang Diproduksi oleh Bacillus circulans*. UIN Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.
- Irvan, Manday B.P. dan Samitra, J. 2015. *Ekstraksi 1,8-Cineole Dari Minyak Daun Eucalyptus Urophylla Dengan Metode Soxhletasi*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Ketaren, S. 1987. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Balai Pustaka. Jakarta.
- Khasanah, Lia U., Rohula Utami dan Baskara Katri Ananditho. 2014. *Pengaruh perlakuan pendahuluan (segar, fermentasi padat dan fermentasi cair) terhadap rendemen dan karakteristik mutu minyak atsiri daun kayu manis (Cinnamon leaf oil)*. Fakultas Pertanian. Universitas Sebelas Maret Surakarta. Surakarta.
- Koensoemardiyah. 2010. *Minyak Atsiri untuk Makanan, Kosmetik, dan Aromaterapi*. Yogyakarta: Penerbit Andi. Hal. 6.
- Laras, C. dan Adi P. 2009. *Pembuatan Minyak Kelapa Murni (VCO) Dengan Metode Fermentasi Dengan Ragi Tempe*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Latifah, S. 2004. *Pertumbuhan Dan Hasil Tegakan Eucalyptus Grandis Di Hutan Tanaman Industri*. Universitas Sumatera Utara. Medan.
- Laurita, L dan Herawati, MM. 2016. *Pengaruh Waktu Fermentasi Padat Terhadap Karakteristik Mutu Fisik Dan Hasil Rendemen Minyak Atsiri Limbah Kulit Jeruk Manis (Citrus Sinesnsis Var. Baby Pacitan)*. Universitas Kristen Satya Wacana. Sidorejo.
- Malik, A. 2017. *Uji Aktivitas Repellent Dan Larvasida Minyak Atsiri Daun Eucalyptus Pellita Terhadap Nyamuk Dewasa Dan Larva Nyamuk Demam Berdarah Aedes Aegypti*. Universitas Sriwijaya. Palembang. Skripsi.
- Malo, F. E. 2019. *Pengaruh Kadar Ragi Terhadap Uji Organoleptik Dan Kadar Protein Total Tempe Kacang Hijau dan Tempe Kedelai Lokal*. Universitas Sanata Dharma. Yogyakarta.
- Muyassaroh. 2016. *Distilasi Daun Kayu Putih Dengan Variasi Tekanan Operasi Dan Kekeringan Bahan Untuk Mengoptimalkan Kadar Sineol Dalam Minyak Kayu Putih*. ITN. Malang.
- Ndiaye, H. B. 2018. *Characterization Of Essensial Aoils And Hydrosols From Senegalese Eucalyptus camaldulensis Dehnh*. University Gaston Berger. Saint-Louis.
- Nugraha, MG., Siti S. dan Agus P. 2015. *Pengaruh Konsentrasi Polifenol pada Produksi Asam Laktat dari Substrat Menggunakan Rhizopus oryzae*. UGM. Yogyakarta.

- Page, D. S. 1989. *Prinsip-prinsip Biokimia*. Erlangga. Jakarta.
- Poedjiadi, A. 1994. *Daras-dasar Biokimia*. UI-Press. Jakarta.
- Poedjiadi, A dan Supriyanti, F. M. T. 2005. *Dasar-Dasar Biokimia edisi revisi*. Universitas Indonesia-Press. Jakarta.
- Raharjo, S.J dan Retnowati, R. 2012. *Yield Increasing of Patchouli Oils of Result Steam Distillation of Patchouli Leaf of Dewaxing, Fermentation and Drying Process*. Journal Basic science and Technology 1 (3):12-18.
- Rasyid, Alfisn. 2016. *Uji Sifat Fisiko-Kimia Dan Efektivitas Minyak Eucalyptus brassiana, Eucalyptus pellita, Serta Persilangan Eucalyptus brassiana Dan Eucalyptus pellita Sebagai Anti Rayap Kayu Kering*. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Ratnaningsih, T.A. 2018. *Rendemen dan Kualitas Minyak Atsiri Eucalyptus Pellita pada berbagai Waktu Penyimpanan Bahan Baku*. Wahana Foresta. Pekan Baru.
- Salam, M. Yunus. 2019. *Ekstraksi Minyak Atsiri dari Daun Eucalyptus grandis Menggunakan isolat Enzim Selulase*. Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara. Medan. Skripsi.
- Samosir, SJ. 2018. *Analisa Kandungan Kimia Dan Sifat Fisika minyak Atsiri Dari Daun Eucalyptus Grandis Dari Toba Pulp Lestari dengan Metode Gaschromatography Mass Spectrometry (Gc-Ms)*. Universitas Sumatera Utara. Medan. Skripsi.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. *Kimia minyak atsiri*. Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Sibarani, I. J. 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. Medan.
- Soyingbe, O. S., Salahdreen, H.M., Makhafda, T. dan Lawal, O. A. 2017. *Antiasthma Activity of Eucalyptus Grandis essential Oil and Its Main Constituent Vasorelaxant Effect on Aortic Smooth Muscle Isolated from Normotensive Rats*. Journal of Experimental and Applied Animal Sciences. South Africa.
- Standar Nasional Indonesia (SNI). 2006. *Minyak Eucalyptus*. Badan Standarisasi Nasional 06-3954. Jakarta.
- Suaniti, Ni M., Manuntun Manurung dan Nadya Hartasiwi. 2014. *Uji Sifat VCO Hasil Ekstraksi Enzimatik Terhadap Berbagai Produk Minyak Kelapa Hasil Publikasi*. Universitas Udayana. Bukit Jimbaran.
- Suhartono, M. T. 1989. *Enzim Dan Bioteknologi*. PAU IPB. Bogor.

- Sukardi, Wigniyanto dan Isti Purwaningsih. 2008. *Uji Coba Penggunaan Inokulum Tempe Dari Kapang Rhizopus oryzae Dengan Substrat Tepung Beras Dan Ubi Kayu Pada Unit Produksi Tempe Sanan Kodya Malang. Jurnal Teknologi Pertanian* vol. 9 N0. 3 (Desember 2008) 207-215.
- Sumitra, O. dan Wijandi, S. 2003. *Memproduksi Minyak Atsiri Biji Pala*. Bagian Pengembangan Kurikulum. Direktorat Pendidikan Nasional.
- Suprihatin. 2010. *Teknpnlogi Fermentasi*. UNESA Press. Surabaya.
- Sutisna, U., T. Kalima dan Purnadjaja. 1998. *Pedoman Pengenalan Pohon Hutan di Indonesia*. Disunting oleh Soetjipto, N.W dan Soekotjo. Yayasan PROSEA Bogor dan Pusat diklat Pegawai & SDM Kehutanan. Bogor.
- Umam, M. S. 2018. *Pengaruh Konsentrasi Ragi Roti Dan Waktu Fermentasi Terhadap Kadar Bioetanol Nira Siwalan*. Universitas Negeri Mulana Malik Ibrahim. Malang.
- Vogel. 1980. *Analisis anorganik kualitatif makro dan semimikro, Edisi V*. PT. Kalman Media Pustaka. Jakarta.
- Widiastuti. 2012. *Sukses Agribisnis Minyak Atsiri*. Pustaka Baru Pers. Yogyakarta.
- Wijaya, C., Jayuskal, A. dan Alimuddin, A.H. 2015. *Peningkatan Rendemen Minyak Atsiri Daun cengkeh (Syzygium Aromaticum) dengan Metode Delignifikasi dan Fermentasi*. Universitas Tanjungpura. Pontianak.
- Winarno, F. G. 1986. *Enzim Pangan*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta.
- Winarno, F. G. 1989. *Enzim Pangan Dan Gizi*. PT. Gramedia Pustaka Utama. Jakarta
- Zuhriani F. (2015). *Kualitas Organoleptik Brownies Kukus Dari Tepung Beras Hitam*. Skripsi. Program Studi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas Muhammadiyah Surakarta. Jawa Tengah

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

	UI	UII	Total	Rataan
L1K1	2,3	2,2	4,500	2,250
L1K2	2,7	2,8	5,500	2,750
L1K3	2,8	2,9	5,700	2,850
L1K4	2,9	2,8	5,700	2,850
L2K1	2,9	2,7	5,600	2,800
L2K2	3,4	3,5	6,900	3,450
L2K3	3,5	3,5	7,000	3,500
L2K4	3,8	3,9	7,700	3,850
L3K1	2,1	2,2	4,300	2,150
L3K2	2,5	2,5	5,000	2,500
L3K3	2,6	2,7	5,300	2,650
L3K4	2,7	2,7	5,400	2,700
L4K1	2,1	2,0	4,100	2,050
L4K2	2,5	2,6	5,100	2,550
L4K3	2,5	2,5	5,000	2,500
L4K4	2,6	2,5	5,100	2,550
Total			88	
Rataan				3

Tabel Analisa Sidik Ragam Rendemen Minyak *Eucalyptus*

SK	db	JK	KT	F hit.	F.05	F.01	
Perlakuan	15	7,2047	0,4803	102,467	**	2,35	3,41
L	3	4,8359	1,6120	343,889	**	3,24	5,29
L Lin	1	1,1391	1,1391	243,000	**	4,49	8,53
L kuad	1	1,3203	1,3203	281,667	**	4,49	8,53
L Kub	1	2,3766	2,3766	507,000	**	4,49	8,53
K	3	2,1384	0,7128	152,067	**	3,24	5,29
K Lin	1	1,7431	1,7431	371,853	**	4,49	8,53
K Kuad	1	-9,1497	-9,1497	-1.951,933	tn	4,49	8,53
K Kub	1	9,5451	9,5451	2.036,280	**	4,49	8,53
L x K	9	0,2303	0,0256	5,459	**	2,54	3,78
Galat	16	0,0750	0,0047				
Total	31	7,2797					

Keterangan:

FK = 241

KK = 2,492%

** = Sangat nyata

* = Nyata

tn = Tidak nyata

Lampiran 2. Tabel Data Rataan Berat Jenis Minyak *Eucalyptus* Daun *Eucalyptus grandis*

	UI	UII	Total	Rataan
L1K1	0,895	0,896	1,791	0,896
L1K2	0,897	0,898	1,795	0,898
L1K3	0,899	0,891	1,790	0,895
L1K4	0,899	0,899	1,798	0,899
L2K1	0,892	0,893	1,785	0,893
L2K2	0,893	0,894	1,787	0,894
L2K3	0,894	0,895	1,789	0,895
L2K4	0,896	0,896	1,792	0,896
L3K1	0,892	0,893	1,785	0,893
L3K2	0,895	0,894	1,789	0,895
L3K3	0,897	0,897	1,794	0,897
L3K4	0,898	0,898	1,796	0,898
L4K1	0,890	0,891	1,781	0,891
L4K2	0,891	0,892	1,783	0,892
L4K3	0,892	0,893	1,785	0,893
L4K4	0,893	0,894	1,787	0,894
Total			28,627	
Rataan				0,895

Tabel Analisa Sidik Ragam Berat Jenis Minyak *Eucalyptus*

SK	db	JK	KT	F hit.		0,05	0,01
Perlakuan	15	0,0001802	0,0000120	5,1262	**	2,35	3,41
L	3	0,0000993	0,0000331	14,1289	**	3,24	5,29
L Lin	1	0,0000663	0,0000663	28,2907	**	4,49	8,53
L kuad	1	0,0000015	0,0000015	0,6533	tn	4,49	8,53
L Kub	1	0,0000315	0,0000315	13,4427	**	4,49	8,53
K	3	0,0000613	0,0000204	8,7244	**	3,24	5,29
K Lin	1	0,0000588	0,0000588	25,0907	**	4,49	8,53
K Kuad	1	-5,5621272	-5,5621272	-2373174,2799	tn	4,49	8,53
K Kub	1	5,5621298	5,5621298	2373175,3626	**	4,49	8,53
LxK	9	0,0000195	0,0000022	0,9259	tn	2,54	3,78
Galat	16	0,0000375	0,0000023				
Total	31	0,0002177					

Keterangan:

FK = 25,61

KK = 0,171%

** = Sangat nyata

* = Nyata

tn = Tidak nyata

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

	UI	UII	Total	Rataan
L1K1	1,331	1,331	2,662	1,331
L1K2	1,330	1,331	2,661	1,331
L1K3	1,329	1,328	2,657	1,329
L1K4	1,328	1,328	2,656	1,328
L2K1	1,336	1,335	2,671	1,336
L2K2	1,334	1,334	2,668	1,334
L2K3	1,333	1,333	2,666	1,333
L2K4	1,332	1,332	2,664	1,332
L3K1	1,338	1,337	2,675	1,338
L3K2	1,337	1,337	2,674	1,337
L3K3	1,336	1,335	2,671	1,336
L3K4	1,335	1,335	2,670	1,335
L4K1	1,339	1,338	2,677	1,339
L4K2	1,338	1,339	2,677	1,339
L4K3	1,337	1,337	2,674	1,337
L4K4	1,336	1,336	2,672	1,336
Total			42,695	
Rataan				1,334

Tabel Analisa Sidik Ragam Indeks Bias Minyak *Eucalyptus*

SK	db	JK	KT	F hit.		F.05	F.01
Perlakuan	15	0,0003440	0,0000229	104,829	**	2,35	3,41
L	3	0,0003001	0,0001000	457,286	**	3,24	5,29
L Lin	1	0,0002836	0,0002836	1296,257	**	4,49	8,53
L kuad	1	0,0000165	0,0000165	75,571	**	4,49	8,53
L Kub	1	0,0000000	0,0000000	0,029	tn	4,49	8,53
K	3	0,0000421	0,0000140	64,143	**	3,24	5,29
K Lin	1	0,0000410	0,0000410	187,457	**	4,49	8,53
K Kuad	1	-7,1105549	-7,1105549	-32505393,796	tn	4,49	8,53
K Kub	1	7,1105560	7,1105560	32505398,768	**	4,49	8,53
L x K	9	0,0000018	0,0000002	0,905	tn	2,54	3,78
Galat	16	0,0000035	0,0000002				
Total	31	0,0003475					

Keterangan:

FK = 56,96

KK = 0,035%

** = Sangat nyata

* = Nyata

tn = Tidak nyata

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

	UI	UII	Total	Rataan
L1K1	2,6	2,5	5,100	2,550
L1K2	2,8	2,9	5,700	2,850
L1K3	2,9	2,9	5,800	2,900
L1K4	3,0	3,1	6,100	3,050
L2K1	3,3	3,3	6,600	3,300
L2K2	3,5	3,6	7,100	3,550
L2K3	3,7	3,8	7,470	3,735
L2K4	3,8	3,9	7,700	3,850
L3K1	2,8	2,7	5,500	2,750
L3K2	2,9	2,8	5,700	2,850
L3K3	3,0	2,9	5,900	2,950
L3K4	3,1	3,2	6,300	3,150
L4K1	2,6	2,6	5,200	2,600
L4K2	2,7	2,8	5,500	2,750
L4K3	2,8	2,9	5,670	2,835
L4K4	2,9	3,0	5,850	2,925
Total			97,190	
Rataan				3,037

Tabel Analisa Sidik Ragam Uji Organoleptik Aroma Minyak *Eucalyptus*

SK	db	JK	KT	F hit.		0,05	0,01
Perlakuan	15	4,4719	0,2981	66,1126	**	2,35	3,41
L	3	3,5727	1,1909	264,0912	**	3,24	5,29
L Lin	1	0,2984	0,2984	66,1789	**	4,49	8,53
L kuad	1	1,6882	1,6882	374,3763	**	4,49	8,53
L Kub	1	1,5860	1,5860	351,7185	**	4,49	8,53
K	3	0,8393	0,2798	62,0381	**	3,24	5,29
K Lin	1	0,8251	0,8251	182,9800	**	4,49	8,53
K Kuad	1	-5,396	-5,396	-1196,656	tn	4,49	8,53
K Kub	1	5,410	5,410	1199,791	**	4,49	8,53
LxK	9	0,0600	0,0067	1,4779	tn	2,54	3,78
Galat	16	0,0722	0,0045				
Total	31	4,5440					

Keterangan:

FK = 295,18

KK = 2,211%

** = Sangat nyata

* = Nyata

tn = Tidak nyata

Lampiran 5. Proses Ekstraksi Minyak *Eucalyptus* Dari Daun *Eucalyptus grandis* Menggunakan *Rhizopus* sp



Gambar 27. Preparasi Daun *Eucalyptus grandis*



Gambar 28. Penimbangan Sampel



Gambar 29. Penyemprotan Aquades



Gambar 30. Penimbangan *Rhizopus* sp



Gambar 31. Pencampuran Daun dan *Rhizopus* sp

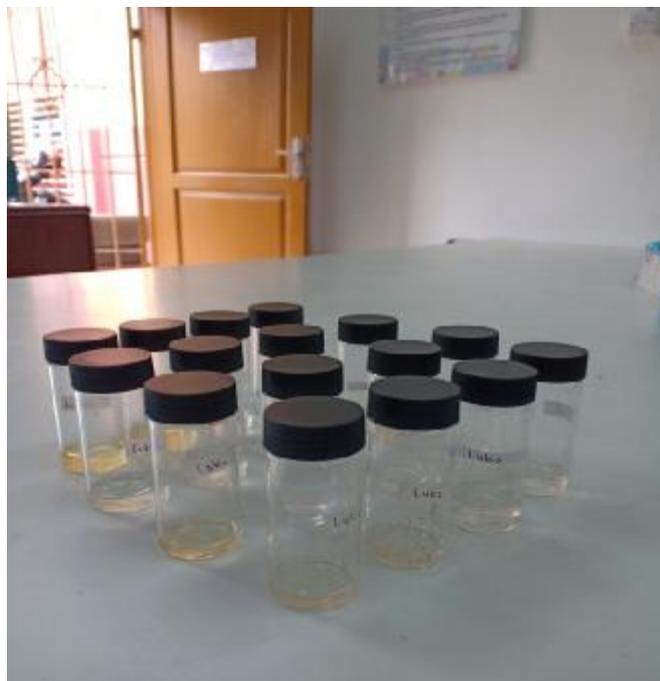


Gambar 32. Fermentasi Dalam Inkubator

Lampiran 6. Proses Pemisahan Minyak *Eucalyptus* Dari Pengotor Dengan Cara Destilasi



Gambar 33. Destilasi Minyak



Gambar 34. Hasil Ekstraksi

Lampiran 7. Pengujian Parameter Minyak *Eucalyptus grandis*



Gambar 35. Pengujian Rendemen



Gambar 36. Pengujian Berat Jenis



Gambar 37. Pengujian Indeks Bias



Gambar 38. Pengujian Organoleptik Aroma