

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang kaya akan keanekaragaman flora, berbagai jenis tanaman yang mempunyai banyak manfaat serta dapat tumbuh dengan mudah, salah satu diantaranya adalah tanaman yang dapat menghasilkan minyak atsiri [1]. Minyak atsiri merupakan salah satu komoditas ekspor non-migas yang memiliki peluang pasar dan sangat dibutuhkan keberadaannya oleh berbagai bidang industri di dalam maupun di luar negeri. Indonesia memiliki potensi sebagai salah satu negara pengekspor minyak atsiri, seperti minyak nilam, cengkeh, akar wangi, cendana, pala, dan cengkeh [2].

Tanaman cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) merupakan jenis tanaman penghasil minyak atsiri yang tumbuh subur di Indonesia. Hal ini menunjang potensi Indonesia sebagai penghasil minyak cengkeh dalam jumlah besar [3] bahkan produk minyak atsiri cengkeh Indonesia cukup dominan menguasai pasar dunia yaitu sekitar 2500 ton per tahun [4]. Bagian utama dari tanaman cengkeh yang bernilai komersial adalah bunganya yang sebagian besar digunakan dalam industri rokok dan hanya sedikit dalam industri makanan. Namun demikian, dengan adanya penemuan – penemuan baru bagian tanaman lain dari cengkeh yaitu daun dan tangkai bunganya telah pula dimanfaatkan sebagai sumber minyak cengkeh.

Semua bagian pohon (*Syzygium aromaticum* (L.) mengandung minyak atsiri, mulai dari akar, batang, daun, sampai bunga. Kuncup bunga mengandung 16-23 % minyak atsiri yang terdiri dari 64-85 % eugenol, 10 % zat samak tipe gallat, sianidin ramnoglukosida merupakan pigmen utama bunga, kuersetin, kaemferol, mirisetin, dan isokuersitrin [5]. Komposisi kimia minyak atsiri bunga cengkeh dari Turki melalui proses penyulingan uap didapat komponen terbesar adalah 87 % eugenol, 8,01 % eugenil asetat, dan 3,56 %  $\beta$ -caryophyllen [6].

Minyak atsiri bunga cengkeh dapat diperoleh dengan metode distilasi uap, distilasi air, dan distilasi uap dan air. Menurut [37], rendemen yang dihasilkan dari hasil isolasi menggunakan metode distilasi air sebesar 9,3 %, sedangkan dengan metode distilasi uap dan air rendemen yang dihasilkan sebesar 6,53 %. Selain itu, apabila menggunakan metode distilasi air yang sangat berpengaruh adalah

kelarutan komponennya di dalam air dan kemudian berdasarkan titik didihnya. Sedangkan metode distilasi uap sangat cocok untuk tanaman yang mengandung minyak menguap atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal [7]. Distilasi bunga cengkeh utuh dan digiling secara dikukus menghasilkan rendemen minyak masing-masing 9,8 % dan 11,5 % [8]. Distilasi dari bunga cengkeh utuh menghasilkan minyak dengan kadar eugenol tinggi dan bobot jenis di atas 1,06, sedangkan bunga cengkeh yang mengalami pengecilan ukuran (digiling) menghasilkan minyak dengan kadar eugenol lebih rendah dan bobot jenis di bawah 1,06 [3].

Minyak cengkeh telah banyak digunakan dalam industri farmasi, kosmetik, dan lain-lain terutama karena cengkeh memiliki aroma yang enak yang berasal dari minyak atsiri yang terdapat dalam jumlah yang cukup besar, baik dalam bunga (10-20 %), tangkai (5-10 %) maupun daun (1-4 %). Selain itu minyak cengkeh mempunyai komponen eugenol dalam jumlah besar (70-80%) yang mempunyai sifat sebagai stimulan, anestetik lokal, karminatif, antiemetik, antiseptik dan antispasmodik. Turunan eugenol atau turunan metoksifenol secara besar-besaran digunakan dalam parfum, perasa (*flavoring*), formulasi obat oles nyamuk, penyerap UV, analgetik, *biosode*, antiseptik, stabilisator pembuatan plastik dan karet, dan antioksidan [6].

Salah satu hal yang dirasa mengganggu manusia dewasa ini adalah efek sinar matahari terhadap kulit manusia, yang dapat berakibat pada kesehatan kulit manusia dan mengganggu penampilan kulit. Lembaga kanker kulit di Amerika memperkirakan bahwa terdapat setengah juta kasus kanker kulit per tahun dan 90 % diantaranya disebabkan oleh paparan sinar matahari [10]. Salah satu cara untuk melindungi kulit dari bahaya yang ditimbulkan oleh sinar UV adalah dengan penggunaan *sunscreen*. *Sunscreen* adalah senyawa kimia yang dapat mengabsorpsi dan/atau memantulkan sinar UV. Produk *sunscreen* diharapkan mampu mengabsorpsi energi UV pada spektrum yang luas [11]. Pemilihan bahan aktif sebagai *sunscreen* didasarkan pada adanya ikatan rangkap terkonjugasi (kromofor) dan gugus pada ikatan rangkap terkonjugasi (auksokrom) pada struktur molekul bahan aktif tersebut. Pada struktur molekul bahan aktif tersebut yang berperan dalam penyerapan radiasi sinar UV adalah cincin aromatik yang terkonjugasi oleh gugus karbonil [12]. Salah satu bahan alam yang berpotensi untuk menjadi bahan

aktif dari produk *sunscreen* adalah minyak cengkeh. *Sunscreen* dengan bahan aktif senyawa kimia mengandung molekul aromatik terkonjugasi dengan gugus karboksil. Eugenol pada minyak cengkeh merupakan salah satu senyawa fenolik [13]. Ikatan rangkap terkonjugasi (kromofor) dari cincin aromatik yang berikatan dengan gugus hidroksil dalam struktur kimia eugenol bertanggung jawab dalam penyerapan radiasi sinar UV.

Aktivitas minyak atsiri dari bunga cengkeh dapat diketahui dari kemampuannya sebagai antioksidan yang mampu memerangkap radikal bebas. Antioksidan merupakan substansi yang diperlukan tubuh untuk menetralkan radikal bebas dan mencegah kerusakan yang ditimbulkan oleh radikal bebas terhadap sel normal, protein, dan lemak. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas yang dapat menimbulkan stress oksidatif. Sedangkan, Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif [14].

Sumber radikal bebas dapat diperoleh dari hasil pemanasan atau radiasi minyak nabati seperti minyak jagung, minyak kelapa sawit, minyak kacang, dan sebagainya. Menurut [55], pemanasan pada minyak jagung yang menghasilkan radikal paling banyak yaitu radikal bebas alkil, hidroksil, peroksid, alkoksi, dan hidrogen. Selain itu, minyak atsiri bersifat iritan sehingga penggunaannya harus pada konsentrasi rendah dengan penambahan *carrier oil*, dan minyak jagung sering digunakan sebagai *carrier oil*. Apabila minyak jagung yang digunakan bersama-sama dengan minyak atsiri terpapar oleh sinar UV, radikal yang terbentuk akan segera diperangkap oleh komponen penyusun minyak cengkeh.

Aktivitas antiradikal suatu senyawa biasanya ditentukan dengan metode 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). DPPH secara luas digunakan untuk menguji kemampuan senyawa untuk bertindak sebagai perangkap radikal bebas atau donor hidrogen, dan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan [15]. Namun, metode tersebut tidak dapat menginformasikan jenis radikal yang terbentuk dari sumber radikal. Metode lain untuk menentukan aktivitas antiradikal adalah menggunakan *Electronic Spin Resonance* (ESR). ESR merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk mempelajari aktivitas radikal bebas dengan mengamati medan magnet saat elektron dari radikal bebas beresonansi dengan radiasi

elektromagnetik. ESR didasarkan pada penyerapan resonansi energi elektromagnetik oleh partikel yang berada dalam medan magnet. Resonansi magnetik terjadi karena spin-spin magnetik dari atom menyerap frekuensi tertentu ketika berada pada pengaruh medan magnet [47]. ESR memiliki keunggulan yaitu mampu menentukan jenis radikal bebas dan biaya pengoperasian instrumen tergolong murah. Selain itu, untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa dalam memerangkap radikal bebas dapat diketahui dari penurunan luas kurva resonansi

Berdasarkan uraian di atas, maka pada penelitian ini dilakukan isolasi menggunakan metode distilasi uap, karakterisasi minyak cengkeh hasil distilasi uap dengan menggunakan kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM) dan uji aktivitas menggunakan ESR. Dan untuk mengetahui apakah eugenol sebagai komponen terbesar yang berkontribusi dalam memerangkap radikal bebas maka dilakukan uji terhadap eugenol.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan beberapa permasalahan dalam penelitian ini yaitu :

1. Berapa komponen yang terkandung dalam minyak cengkeh yang dianalisis dengan KG-SM?
2. Jenis radikal bebas apa yang dihasilkan dari radiasi minyak jagung menggunakan sinar UV?
3. Jenis radikal apa yang dapat diperangkap oleh minyak cengkeh?
4. Berapa volume minimal yang dapat memerangkap radikal bebas pada minyak jagung?

## 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah penelitian ini adalah :

1. Bunga cengkeh kering yang digunakan diperoleh dari Kecamatan Sumber Manjing, Kabupaten Malang.
2. Metode isolasi minyak cengkeh menggunakan distilasi uap.
3. Waktu distilasi bunga cengkeh selama 8 jam.
4. Sumber radikal bebas berasal dari minyak jagung yang diradiasi menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm
5. Uji aktivitas anti radikal bebas menggunakan *Electron Spin Resonance* (ESR).

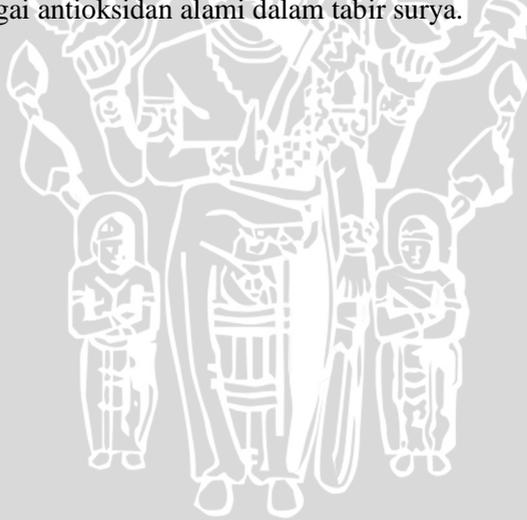
#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Berdasarkan rumusan masalah, tujuan dilakukan penelitian ini adalah :

1. Menentukan komponen minyak atsiri bunga cengkeh hasil distilasi uap.
2. Menentukan jenis radikal bebas yang dihasilkan oleh minyak jagung setelah diradiasi dengan sinar UV.
3. Menentukan volume yang dibutuhkan minyak cengkeh dalam memerangkap radikal bebas pada minyak jagung yang diradiasi sinar UV berdasarkan penurunan maksimal luas resonansi radikal bebas pada volume penambahan tertentu.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian adalah diperoleh informasi mengenai kemampuan minyak cengkeh dalam memerangkap radikal bebas serta memperoleh informasi mengenai jenis radikal yang dapat diperangkap oleh minyak cengkeh sehingga diharapkan dapat berfungsi sebagai antioksidan alami dalam tabir surya.



## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Cengkeh

Cengkeh merupakan tanaman tropis berakar tunggang bercabang panjang dan kuat. Tanaman ini tingginya dapat mencapai 20-30 meter, dan dapat berumur lebih dari 100 tahun [16]. Cengkeh cocok ditanam di berbagai daerah di Indonesia, baik di daerah dataran rendah dekat pantai maupun di pegunungan pada ketinggian 900 m dpl. Pohon cengkeh akan tumbuh dengan baik jika mendapat cukup air dan sinar matahari langsung [17]. Salah satu contoh daerah di Indonesia yang sesuai untuk membudidayakan cengkeh yaitu Aceh, Lampung, Padang, Jawa Barat, Jawa Timur, Bali [18]. Berikut ini adalah klasifikasi botani dari tanaman cengkeh [19]:

Regnum	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledone</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Familia	: <i>Myrtaceae</i>
Genus	: <i>Syzygium</i>
Spesies	: <i>Syzygium aromaticum (L.)</i>



**Gambar 2.1** Tanaman dan bunga cengkeh

Gambar 2.1, menunjukkan bunga dan buah cengkeh muncul diujung ranting, tangkai pendek dan bertandan. Ketika muda, bunga berwarna keunguan dan ketika tua, bunga berubah warna menjadi kuning kehijauan kemudian menjadi merah muda. Bunga kering berwarna coklat kehitaman dan berasa pedas [19]. Bagian utama dari tanaman cengkeh yang bernilai komersial adalah bunganya yang

sebagian besar digunakan dalam industri rokok dan hanya sedikit dalam industri makanan [20]. Selain itu, bunga cengkeh kering mengandung minyak atsiri, *fixed oil* (lemak), resin, tannin, protein, selulosa, pentosan, dan mineral. Komponen lain yang paling banyak adalah minyak atsiri yang jumlahnya bervariasi tergantung dari banyak faktor diantaranya jenis tanaman, tempat tumbuh dan cara pengolahan [21]. Komposisi kimia bunga cengkeh dapat dilihat pada Tabel 2.1.

**Tabel 2.1** Komposisi kimia bunga cengkeh

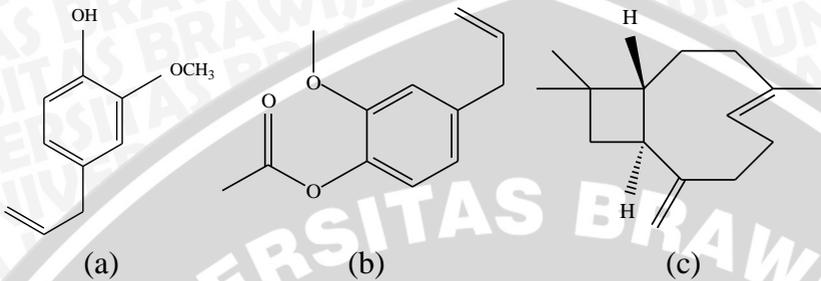
Komponen	Bunga Cengkeh Basah Eks Indonesia %	Bunga Cengkeh Kering Eks. Zanzibar %
Kadar air	75,1	5,0 – 8,3
Kadar abu	1,6	5,3 – 7,6
Kadar minyak atsiri	5,2	14,0 – 21,0
Kadar <i>fixed oil</i> & resin	0,8 0,2	5,0 – 10,0 5,0 – 7,0
Kadar protein	7,6	6,0 – 9,0
Kadar serat kasar	-	10,0 – 18,0
Kadar tannin		

## 2.2 Minyak Atsiri Cengkeh

Minyak atsiri dikenal juga dengan nama minyak eteris atau minyak terbang (*essensial oil*, *volatile*) dihasilkan oleh tanaman. Minyak tersebut mudah menguap pada suhu kamar tanpa mengalami dekomposisi, mempunyai rasa getir (*pungent taste*), berbau wangi sesuai dengan bau tanaman penghasilnya [22]. Xanton merupakan molekul besar yang terdiri dari banyak molekul kecil yang bersifat antioksidan dan antiradikal.

Semua bagian pohon (*Syzygium aromaticum* (L.) mengandung minyak atsiri, mulai dari akar, batang, daun, sampai bunga. Kuncup bunga mengandung 16-23 % minyak atsiri yang terdiri dari 64-85 % eugenol, 10 % zat samak tipe gallat, sianidin ramnoglukosida merupakan pigmen utama bunga, kuersetin, kaemferol, mirisetin, dan isokuersitrin [5]. Komposisi kimia minyak atsiri bunga cengkeh dari Turki melalui proses penyulingan uap didapat komponen terbesar adalah 87 % eugenol, 8,01 % eugenil asetat, dan 3,56 %  $\beta$ -

caryophyllen [6]. Struktur komponen minyak atsiri bunga cengkeh disajikan pada Gambar 2.2.



**Gambar 2.2** Struktur (a) Eugenol, (b) Eugenil asetat, (c) β-kariofilen

Berdasarkan SNI 06-4267-1996 [9] persyaratan mutu minyak bunga cengkeh ditunjukkan pada Tabel 2.2

**Tabel 2.2.** Standar Mutu Minyak Cengkeh

	Jenis Uji	Persyaratan
1	Warna	Tak berwarna/kuning muda
2	Berat jenis 15 °C	1,04 – 1,07
3	Indeks bias 20 °C	1,529 – 1,537
4	Kelarutan dalam etanol 70 %	1 : 2 jernih, seterusnya jernih
5	Eugenol Total (b/b)	80-95 %

### 2.3 Radikal Bebas

Radikal bebas adalah suatu atom atau molekul yang memiliki satu atau lebih elektron yang tidak berpasangan yang menyebabkan menjadi sangat reaktif. Molekul atau atom tersebut berusaha mencapai keadaan stabil dengan jalan menarik elektron lain sehingga terbentuk radikal baru. Reaksi radikal bebas ini berlangsung secara berantai (*cascade reaction*) [23].

Radikal bebas adalah atom atau molekul yang kehilangan pasangan elektronnya dipermukaan kulit luarnya. Sebagai contoh, molekul oksigen yang normal lengkap pasangan elektronnya rumusnya adalah O<sub>2</sub>, tetapi bila berubah menjadi radikal bebas maka menjadi O<sub>2</sub>• atau dinamakan superoksida. Radikal bebas terdiri dari 2 kelompok yaitu kelompok non logam dan logam. Kelompok yang paling berbahaya adalah radikal bebas Hg [6].

Sumber radikal bebas bisa berasal dari proses metabolisme dalam tubuh (internal) dan dapat berasal dari luar tubuh (eksternal). Dari dalam tubuh mencakup superoksida ( $O_2^\bullet$ ), hidroksil ( $^\bullet OH$ ), peroksil ( $ROO^\bullet$ ), hydrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), singlet oksigen ( $^1O_2$ ), oksida nitrit ( $NO^\bullet$ ), dan peroksinitrit ( $ONOO^\bullet$ ). Dari luar tubuh antara lain berasal dari asap rokok, polusi, radiasi, sinar UV, obat, pestisida, limbah industri, dan ozon [24].

Mekanisme oksidasi lipida tak jenuh diawali dengan tahap inisiasi, yaitu bila lipida kontak dengan panas, cahaya, ion metal atau oksigen maka akan terbentuk radikal bebas ( $R^\bullet$ ). Reaksi ini terjadi pada group metilen yang berdekatan dengan ikatan rangkap  $-C=C-$  [24]. Tahap selanjutnya adalah tahap propagasi dimana autooksidasi berawal ketika radikal bebas ( $R^\bullet$ ) hasil tahap inisiasi bertemu dengan oksigen, membentuk radikal peroksida ( $ROO^\bullet$ ). Reaksi oksigenasi ini terjadi sangat cepat dengan energi aktivitas hampir nol, sehingga konsentrasi  $ROO^\bullet$  yang terbentuk jauh lebih besar dari konsentrasi  $R^\bullet$  [26]. Radikal peroksida yang terbentuk akan mengekstrak ion hidrogen dari lipida lain ( $R_1H$ ) membentuk hidriperoksida ( $ROOH$ ) dan molekul radikal lipida baru ( $R_1^\bullet$ ). Selanjutnya reaksi autooksidasi ini akan berulang sehingga merupakan reaksi berantai. Hidroperoksida yang terbentuk merupakan senyawa yang tidak stabil dan mudah terpecah sehingga akan terdekomposisi menjadi senyawa organik berantai pendek seperti aldehida, keton, alkohol, dan asam lemak bebas.

Tahap terakhir oksidasi lipida adalah tahap terminasi, dimana komponen radikal bebas akan kontak dengan sesama komponen radikal bebas dan membentuk produk yang tidak aktif. Mekanisme dan tahapan proses oksidasi dapat dilihat pada Gambar 2.3 [26]:

Inisiasi:



Propagasi



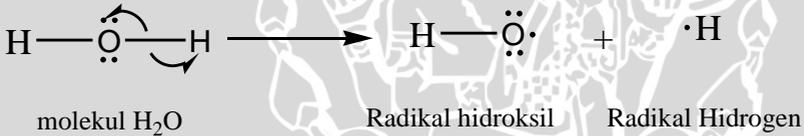
Terminasi



**Gambar 2.3** Mekanisme dan Tahapan Reaksi Oksidasi

Reaksi ini dapat berlangsung terus-menerus membentuk reaksi rantai dan menyebabkan membran sel kehilangan asam lemak tak jenuh. Hilangnya asam lemak tak jenuh akan menyebabkan kerusakan struktur sel membran yang akan mempengaruhi permeabilitas dan fungsi membran sel.

Bila atom-atom saling terikat membentuk molekul, energi akan dilepaskan (sebagai kalor atau cahaya). Proses disosiasi ikatan molekul menjadi atom-atomnya, diperlukan adanya energi. Disosiasi ikatan dapat dilakukan dengan dua cara: pemisahan heterolitik, yaitu pemisahan molekul di mana kedua elektron ikatan dipertahankan pada satu atom (membentuk ion-ionnya); dan pemisahan homolitik, di mana kedua elektron ikatan dibagi sama rata pada masing-masing atom. Pemisahan homolitik menghasilkan atom atau gugus atom yang mempunyai elektron tak berpasangan (radikal bebas). Radikal bebas bermuatan netral, sehingga tak ada tarikan elektrostatis antara radikal, seperti halnya pada ion. Tetapi karena adanya elektron tak berpasangan, radikal bebas memiliki energi yang tinggi, sehingga tidak stabil dan sangat reaktif [14]. Reaksi pembelahan homolitik dijelaskan pada Gambar 2.4.



**Gambar 2.4** Reaksi pemutusan homolitik (*homolytical cleavage*)

Pemisahan homolitik dapat terjadi dengan adanya suatu energi. Penentuan energi yang diperlukan untuk disosiasi suatu ikatan, menentukan kereaktifan suatu ikatan dalam membentuk radikalnya. Untuk memecah ikatan yang lebih stabil memerlukan masukan energi yang lebih besar. Energi disosiasi ikatan untuk beberapa jenis ikatan disajikan pada Tabel 2.3.

**Tabel 2.3** Energi disosiasi ikatan [27]

Macam Ikatan	Energi kJ/mol	Macam Ikatan	Energi kJ/mol	Macam Ikatan	Energi kJ/mol
H – H	436,4	C = C	347	N = N	418
H – N	393	C – N	276	N – O	176
H – O	460	C = N	615	N – P	209
H – P	326	C = O	745	O = O	498,7
H – F	568,2	C – P	263	O – P	502
C – H	414	C – S	255	O = S	469
C – C	347	N – N	193	P – P	197

## 2.4 Antiradikal Bebas

Antiradikal adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas serta dapat menghambat proses autooksidasi pada semua bahan yang mengandung lipid. Dalam pengertian kimia, senyawa-senyawa antioksidan adalah senyawa-senyawa pemberi elektron. Antioksidan menghambat pembentukan radikal bebas dengan bertindak sebagai donor H terhadap radikal bebas sehingga radikal bebas berubah menjadi bentuk yang lebih stabil [28]. Beberapa kriteria senyawa antioksidan diantaranya adalah memiliki kelarutan yang tinggi dalam lipid dan lemak, efektif dalam jumlah relatif sedikit, toksisitas rendah, dan radikal yang terbentuk harus lebih stabil daripada radikal bebasnya [29]. Berdasarkan sumber perolehannya ada 2 macam antioksidan, yaitu antioksidan alami dan antioksidan buatan (sintetik) [30]. Antioksidan alami merupakan antioksidan yang diekstrak dari bahan-bahan alami, contohnya adalah vitamin A, karotenoid, vitamin E, senyawa-senyawa fenol, dan tetrapirolik. Antioksidan sintetik adalah antioksidan yang dihasilkan dari reaksi kimia, contohnya BHA, BHT, propil galat, TBHQ dan tokoferol [30]. Tubuh manusia tidak mempunyai cadangan antioksidan dalam jumlah berlebih, sehingga jika terjadi paparan radikal berlebih maka tubuh membutuhkan antioksidan eksogen.

Salah satu contoh senyawa antioksidan adalah fenol tersubstitusi yang merupakan suatu inhibitor yang digunakan untuk menghambat autooksidasi. Fenol, yaitu senyawa dengan gugus hidroksil ( $-OH$ ) terikat pada karbon cincin aromatik, merupakan

anti-oksidan yang efektif di mana produk radikal bebas senyawa-senyawa ini akan terstabilkan secara resonansi dalam cincin karbon aromatisnya [32].

Fenol merupakan antioksidan efektif karena dapat bereaksi dengan radikal intermediet yang kemudian menghasilkan radikal yang tidak reaktif dan mengakhiri proses oksidasi radikal yang tidak dikehendaki [33].

Kandungan senyawa-senyawa dalam minyak cengkeh digolongkan dalam senyawa fenol (sebagai eugenol) dan senyawa non eugenol. Senyawa eugenol dapat digunakan sebagai antioksidan yaitu senyawa kimia yang dapat menghambat proses autooksidasi lemak tak jenuh. Berdasarkan aktivitas dan efisiensi dalam menghambat proses oksidasi maka urutan efisiensi antioksidan golongan fenol adalah sebagai berikut [15]:

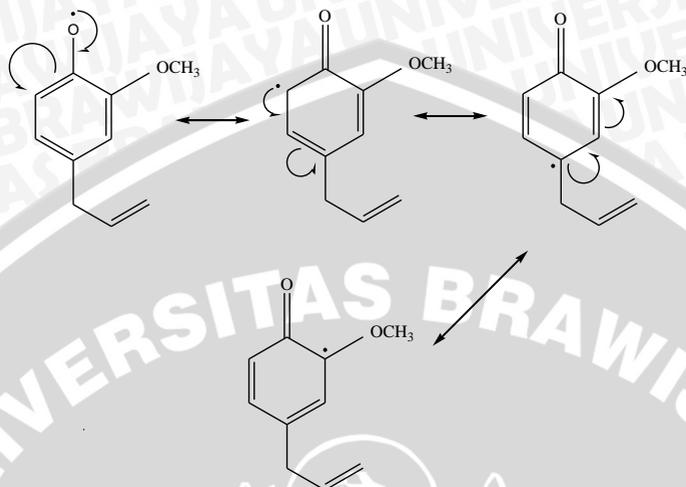
Pirogallol > hidrikuinon > catechol > eugenol > thymol,  $\alpha$ -naphthanol, phloroglusinol, resorsinol, dan fenol.

Gugus fenol memiliki kemampuan untuk menangkap radikal bebas dari rantai peroksida ( $\text{ROO}\cdot$ ) dengan reaksi sebagai berikut [35]:



Efektivitas radikal bebas  $\text{ArO}\cdot$  lebih stabil, sehingga mampu menghambat reaksi dengan substrat namun cepat bereaksi dengan  $\text{ROO}\cdot$ , atau yang dikenal sebagai pemutusan rantai antioksidan. Antioksidan akan bereaksi lebih cepat dengan radikal peroksida, sehingga mampu menghambat reaksi dengan substrat [32]. Kemudahan antioksidan untuk memberikan atom hidrogennya pada radikal bebas menunjukkan aktivitas dari antioksidan tersebut. Besaran entalpi disosiasi ikatan (BDE) pada  $\text{ArOH}$  erat kaitannya dengan aktivitas antioksidan. Lemahnya energi disosiasi ikatan O-H akan mempercepat reaksi dengan radikal bebas. Selain itu aktivitas antioksidan juga dipengaruhi oleh kelarutan senyawa pada suatu pelarut.

Harga entalpi disosiasi ikatan (BDE) dipengaruhi oleh gugus yang terikat pada senyawa antioksidan. Substituent pendonor elektron mampu meningkatkan aktivitas antioksidan sedangkan gugus penarik elektron akan menurunkan aktivitasnya sebagai antioksidan.



**Gambar 2.5** Struktur resonansi radikal dari eugenol

Eugenol pada minyak cengkeh merupakan salah satu senyawa fenolik [13]. Ikatan rangkap terkonjugasi (kromofor) dari cincin aromatik yang berikatan dengan gugus hidroksil dalam struktur kimia eugenol bertanggung jawab dalam penyerapan radiasi sinar UV. Semakin tinggi kadar eugenol maka semakin banyak radikal yang dapat diperangkap dengan cara resonansi. Sehingga akan terstabilkan dan membentuk radikal baru yang lebih stabil. Struktur resonansi radikal dari eugenol dapat dilihat pada Gambar 2.5.

## 2.5 Minyak Jagung

Minyak jagung merupakan salah satu minyak nabati. Minyak jagung merupakan ester dari gliserol dan asam-asam lemak. Persentase trigliserida sekitar 98,6 %, sedangkan sisanya bahan non minyak seperti abu, zat warna atau pigmen. Asam lemak yang menyusun minyak jagung terdiri dari asam lemak jenuh dan asam lemak tak jenuh. Kandungan asam lemak minyak jagung yang paling banyak adalah asam linoleat. Komposisi asam lemak minyak jagung disajikan dalam Tabel 2.4.

**Tabel 2.4.** Komposisi Asam Lemak Minyak Jagung

Asam Lemak	Jumlah (%)	Asam Lemak	Jumlah (%)
Miristat	0,1	Reksadekanoat	1,2
Palmitat	8,1	Oleat	30,1
Stearat	2,5	Linoleat	56,3

Tingginya asam lemak tak jenuh pada minyak menyebabkan minyak dapat dengan mudah dioksidasi oleh molekul oksigen membentuk hidroperoksida. Proses oksidasi ini menyebabkan terbentuknya zat racun. Panas, cahaya, logam, dan spesies oksigen reaktif dapat memfasilitasi pembentukan radikal dari lemak.

## 2.6 Distilasi Uap

Isolasi minyak atsiri dari bahan alam dilakukan melalui penyulingan bersama air (*hidrodistilasi*) menggunakan alat Stahl, distilasi uap (*steam distilasi*), maserasi, menggunakan pelarut menguap dan dengan CO<sub>2</sub> superkritis [29]. Dalam hal ini, metode yang digunakan adalah distilasi uap sebab minyak bunga cengkeh tidak rusak oleh panas uap air.

Distilasi uap adalah metode yang populer untuk ekstraksi minyak-minyak menguap (esensial) dari sampel tanaman. Metode destilasi uap ini diperuntukkan mencari simplisia yang mengandung minyak menguap atau mengandung komponen kimia yang mempunyai titik didih tinggi pada tekanan udara normal [16].

Prinsip dari metode distilasi uap yaitu ketel uap yang berisi air panas dialirkan uapnya ke dalam ketel bahan baku. Partikel-partikel minyak pada bahan baku terbawa bersama uap dan dialirkan ke alat pendingin, sehingga terjadi proses pendinginan. Uap yang digunakan pada distilasi uap ini merupakan uap jenuh yang memiliki tekanan lebih dari satu atmosfer sehingga senyawa dalam minyak atsiri dapat terekstrak [30]. Kelebihan dari metode ini adalah kualitas produk minyak atsiri yang dihasilkan jauh lebih sempurna dibandingkan kedua metode, sehingga harga jual minyak yang dihasilkan juga lebih tinggi [31]. Selain itu, jika ditinjau dari segi biaya, kecepatan distilasi, dan kapasitas produksi minyak, metode distilasi dengan uap langsung lebih baik digunakan [32]. Pada proses distilasi uap, pemisahan senyawa volatil dapat terjadi karena pemberian uap jenuh secara terus menerus hingga tekanan dalam sistem menjadi lebih tinggi dari keadaan kesetimbangannya,

sehingga menyebabkan tekanan campuran dalam sistem menjadi naik [50].

Distilasi bunga cengkeh utuh dan digiling secara dikukus menghasilkan rendemen minyak masing-masing 9,8 % dan 11,5 % [8]. Distilasi dari bunga cengkeh utuh menghasilkan minyak dengan kadar eugenol tinggi dan bobot jenis di atas 1,06, sedangkan bunga cengkeh yang mengalami pengecilan ukuran (digiling) menghasilkan minyak dengan kadar eugenol lebih rendah dan bobot jenis di bawah 1,06 [9]. Kandungan eugenol dari minyak tergantung dari waktu distilasi. Waktu distilasi yang singkat (cepat) menghasilkan minyak dengan kandungan eugenol yang jauh lebih tinggi daripada yang biasa dilakukan dengan waktu yang lebih lama [47]. Sedangkan rendemen minyak cenderung naik dengan makin lamanya waktu penyulingan. Hal ini disebabkan karena dengan makin lamanya waktu penyulingan makin lama kontak bahan dengan air dan uap sehingga akan lebih banyak minyak yang terbawa oleh uap air. Namun demikian penambahan minyak dari waktu penyulingan 9 ke 12 jam secara statistik tidak berbeda nyata [37], sehingga dilakukan proses distilasi selama 8 jam untuk mendapatkan rendemen terbanyak dan mendapatkan eugenol yang banyak juga.

## **2.7 Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM)**

Metode yang umum dilakukan untuk menentukan komponen kimia penyusun minyak atsiri adalah teknik gabungan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (KG-SM). Kombinasi KG dengan SM merupakan teknik dengan keistimewaan tinggi. Spektra massa akan lebih baik jika digunakan sampel fase gas dalam jumlah kecil yang mengandung senyawa tunggal [38].

Kromatografi gas - spektroskopi massa (KG-SM) adalah kombinasi efektif antara instrumen kromatografi gas dan spektroskopi massa, kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometri massa berfungsi sebagai detektor untuk mendeteksi masing-masing molekul komponen yang telah dipisahkan dalam kromatografi gas [38].

Prinsip kerja KG-SM adalah alat spektrofotometer massa digabung dengan perpustakaan komputer yang menyimpan sejumlah besar data spektrum massa dari senyawa murni yang telah diketahui. Komputer ini selanjutnya akan membandingkan spektrum yang tersimpan dengan spektrum massa dari komponen minyak atsiri [39].

## 2.8 *Electron Spin Resonance (ESR)*

*Electron Spin Resonance (ESR)* merupakan suatu metode yang dapat digunakan untuk mempelajari aktivitas radikal bebas dengan mengamati medan magnet saat elektron dari radikal bebas beresonansi dengan radiasi elektromagnetik [40].

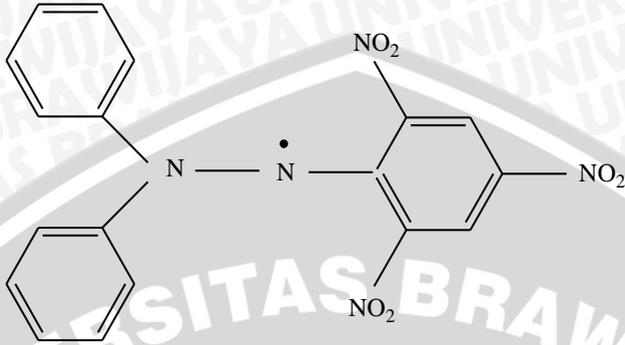
ESR didasarkan pada penyerapan resonansi energi elektromagnetik oleh partikel yang mengelilingi dalam medan magnet kuat. Resonansi magnetik merupakan saat spin-spin magnetik dari atom-atom tertentu menyerap frekuensi tertentu ketika mengalami medan magnet bolak-balik pada frekuensi yang sama dengan frekuensi alami dari sistem [41].

Pengamatan pusat paramagnetik dilakukan dengan meletakkan sampel dalam medan magnet kuat dan diberi radiasi gelombang elektromagnetik yang mempunyai jangkauan frekuensi gigahertz [42]. Energi foton radiasi gelombang mikro sangat rendah dibanding radiasi sinar tampak. Karena itu gelombang mikro hanya dapat menginduksi transisi antara dua tingkat energi spin electron yang memiliki momen magnet.

Pada dasarnya ESR menggunakan hubungan antara momentum sudut intrinsik electron spin ( $s$ ) dengan momen magnetnya ( $m$ ) yang mengikuti persamaan  $\mu = g\beta s$ . Dengan  $g$  dan  $\beta$  merupakan factor landed an magneton Bohr . Faktor Lande,  $g$ , memberikan informasi tentang hubungan antara spin-orbit antara elektron paramagnet dengan inti atom sekitarnya. Dengan demikian, lingkungan atom yang berpengaruh terhadap sistem yang sedang diperiksa dapat dianalisis dari hasil  $g$  yang diperoleh. Nilai  $g$  berbeda untuk setiap jenis radikal, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.5.

**Tabel 2.5.** Nilai Faktor  $g$  setiap jenis radikal bebas [43]

Jenis Radikal Bebas	Nilai $g$
2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH)	2,00036
Hidrogen	2,00232
Peroksil	2,0155 – 2,0265
Hidroksil	2,00047
Karbon	2,00505 – 2,00548



**Gambar 2.6** Struktur DPPH

Sebuah elektron mempunyai momen dipol magnet  $\mu_s$  yang mempunyai kaitan dengan momentum sudut intrinsik atau spin melalui persamaan vector [43]:

$$\mu_s = G_s \mu_B \frac{S}{\hbar} \quad (2.1)$$

dengan  $g_s$  = faktor  $g$  electron,  $\mu_B$  = magneton Bohr =  $\frac{eh}{2m_e} = 5,788 \times 10^{-9}$  eVIG,  $S$  = Spin elektron dan  $h$  = tetapan Planck =  $6,582 \times 10^{-16}$  eV.det.

Momen dipol magnet elektron ini akan berinteraksi dengan medan magnet seragam. Menurut prinsip mekanika kuantum, elektron dapat menempatkan dirinya dalam hanya salah satu dan dua state yang memiliki energi  $E = E_0 \pm g_s \mu_B B / 2$  dimana  $E_0$  adalah energi elektron tanpa pengaruh medan luar. Perbedaan energi antara dua orientasi yang mungkin ini sama dengan  $g_s \mu_B B$  dengan  $B$  adalah besarnya medan magnet yang diberikan [44].

Resonansi terjadi manakala osilator RF diatur (tune) pada frekuensi  $\nu$  sedemikian hingga energi foton yang diradiasikan sama dengan selisih energi dua state elektron yang mungkin di atas [45]. Elektron yang berada pada state energi yang lebih rendah dapat menyerap energi foton dan RF osilator untuk naik ke state dengan energi lebih tinggi. Energi absorpsi ini mempengaruhi permeabilitas bahan uji yang mempengaruhi induktasi koil dan dengan demikian

osilasi dan osilator RF. Hasilnya adalah perubahan yang dapat diamati pada arus yang mengalir melalui osilator [45].

Medan magnet yang dihasilkan oleh Koil Helmholt dapat dihitung dengan rumus [43]:

$$B = \mu_0 \left( \frac{4}{5} \right)^{\frac{3}{2}} \frac{n}{r} I \quad (2.2)$$

Dengan  $\mu_0 = 1,256 \times 10^{-6} \text{ V.det/A.m}$ ,  $N =$  jumlah lilitan koil = 320 buah,  $I =$  arus yang melalui koil.

Setelah menemukan nilai medan magnet eksternal ( $B$ ) maka selanjutnya dapat dihitung nilai faktor  $g$  dengan menggunakan persamaan G.2 dan G.3 [46]:

$$hf = g\mu_B B \quad (2.3)$$

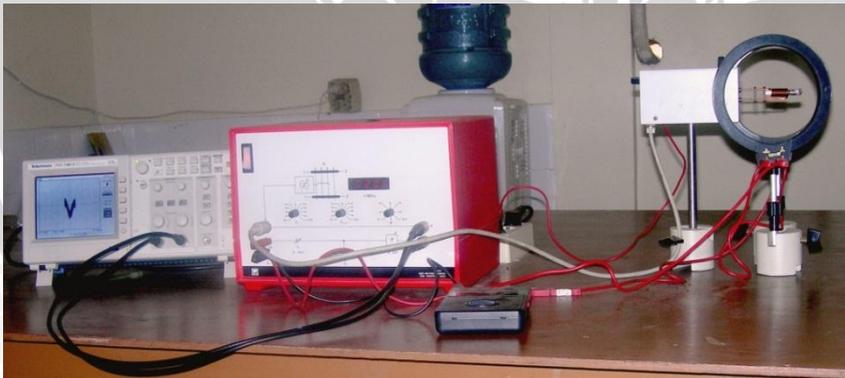
$$g = \frac{hf}{\mu_B B} \quad (2.4)$$

Keterangan :

$h$  : konstanta Planck ( $h = 6,625 \times 10^{-34} \text{ W.s}^{-2}$ )

$\mu_B$  : magneton Bohr ( $\mu_B = 9,273 \times 10^{-24} \text{ Am}^2$ )

$f$  : frekuensi saat terjadi resonansi (Hz)



**Gambar 2.7** Gambar rangkaian alat *Electron Spin Resonance* (ESR)

## **2.9 Berat jenis**

Berat jenis merupakan parameter penting dalam menentukan mutu dan kemurnian minyak atsiri. Berat jenis minyak atsiri bunga cengkeh (15 °C) dalam standar mutu minyak atsiri bunga cengkeh SNI sebesar 1,040-1,070 g/mL. Berat jenis berhubungan dengan fraksi berat komponen yang terkandung di dalamnya. Semakin besar fraksi berat yang terkandung dalam minyak atsiri bunga cengkeh semakin besar pula nilai densitasnya [35]. Piknometer adalah alat untuk menetapkan berat jenis yang praktis dan hanya memerlukan sejumlah kecil minyak.

## **2.10 Indeks Bias**

Indeks bias dari suatu zat ialah perbandingan kecepatan cahaya dalam udara dan kecepatan cahaya dalam zat tersebut. Jika cahaya melewati media kurang padat ke media yang lebih padat, maka sinar akan membelok atau membias dari garis normal. Penentuan indeks bias menggunakan alat refraktometer. Indeks bias berguna untuk mengidentifikasi suatu zat dan deteksi ketidakmurnian [35].

Nilai indeks bias minyak atsiri bunga cengkeh menurut SNI pada suhu 20 °C adalah 1,529-1,537. Indeks bias dipengaruhi oleh komponen berantai panjang seperti seskuiterpen atau komponen bergugus oksigen ikut tersuling. Oleh sebab itu, kerapatan medium minyak atsiri bunga cengkeh akan bertambah sehingga cahaya yang datang lebih sukar untuk dibiaskan [35].

## **2.11 Hipotesis**

Berdasarkan tinjauan teoritis dapat disusun hipotesis bahwa konsentrasi berpengaruh terhadap aktivitas minyak cengkeh sebagai perangkap radikal bebas minyak jagung yang telah diberikan paparan sinar UV.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

##### **3.1.1 Waktu Penelitian**

Penelitian dilaksanakan pada bulan September 2012 hingga Desember 2012.

##### **3.1.2 Tempat Penelitian**

Pengambilan sampel bunga cengkeh di Daerah Sumber Manjing, Kabupaten Malang, Jawa Timur. Determinasi tanaman cengkeh dilaksanakan di Laboratorium Taksonomi dan Struktur Tumbuhan Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Brawijaya. Isolasi minyak atsiri dari bunga cengkeh dan karakterisasi sifat fisik dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya. Karakterisasi komponen penyusun minyak cengkeh menggunakan KG-SM dilaksanakan di UPT Instrumentasi, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya. Pembuatan radikal bebas dan uji aktivitas minyak cengkeh sebagai antiradikal bebas menggunakan spektroskopi ESR dilaksanakan di Laboratorium Fisika Lanjut, Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat Penelitian**

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat distilasi, seperangkat alat ESR *Leybold Heracus*, kompartmen dan lampu UV, refraktometer Abbe, Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa Shimadzu-QP2010S, mikro pipet, seperangkat alas gelas, tabung Durham, vial, oven, dan desikator.

##### **3.2.2 Bahan Penelitian**

###### **3.2.2.1 Sampel**

Sampel adalah bunga cengkeh kering yang diperoleh dari Kecamatan Sumber Manjing, Kabupaten Malang. Gambar bunga cengkeh kering ditunjukkan pada Lampiran 5.2. Gambar determinasi tanaman cengkeh ditunjukkan pada Lampiran 5.10

### 3.2.2.2 Bahan Kimia

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  p.a, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) p.a, minyak jagung perdagangan merk CCO, gas nitrogen, dan akuades.

### 3.3 Tahapan Penelitian

Tahapan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Determinasi Bunga Cengkeh
2. Pembuatan  $\text{MgSO}_4$  anhidrat
3. Isolasi minyak atsiri bunga cengkeh menggunakan metode distilasi uap selama 8 jam
4. Karakterisasi komponen penyusun minyak atsiri bunga cengkeh menggunakan instrumen Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa
5. Pembuatan sumber radikal dengan pemaparan minyak jagung menggunakan sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm selama 40 menit
6. Uji aktivitas minyak cengkeh sebagai antiradikal bebas menggunakan ESR.

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Determinasi Tanaman Cengkeh

Tanaman cengkeh dideterminasi untuk memastikan tanaman cengkeh yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Syzygium aromaticum*.

#### 3.4.2 Pembuatan $\text{MgSO}_4$ anhidrat

Padatan  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  sebanyak 50 g dimasukkan ke dalam mortar dan digerus hingga terbentuk serbuk. Serbuk  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  ditimbang massanya. Kemudian dipanaskan pada temperatur  $120^\circ\text{C}$  selama 24 jam. Setelah dipanaskan,  $\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  dimasukkan ke desikator, dibiarkan sampai dingin dan ditimbang sehingga diketahui massanya. Dimasukkan kembali ke dalam oven, desikator, dan ditimbang massanya hingga berat konstan. Selanjutnya  $\text{MgSO}_4$  hasil preparasi ditutup dengan aluminium foil sehingga tidak terjadi kontak dengan udara bebas. Selanjutnya ditentukan hidratnya yang ditunjukkan dengan perhitungan yang disajikan pada Lampiran 2.1.

### **3.4.3 Isolasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Menggunakan Metode Distilasi Uap**

Bunga cengkeh kering ditimbang sebanyak 200 g dan dimasukkan ke dalam labu distilasi. Kemudian dirangkai alat distilasi. Distilasi diproses selama 8 jam. Distilat hasil proses distilasi ditampung dalam corong pisah dan dibiarkan sehingga terbentuk 2 lapisan. Selanjutnya kedua lapisan tersebut dipisahkan dengan cara mengeluarkan fasa organik yang terletak pada bagian bawah dengan membuka kran corong pisah dan ditampung dalam botol penampung.

Selanjutnya, fasa minyak yang diperoleh kemungkinan masih mengandung sedikit molekul air. Oleh karena itu ditambahkan sedikit demi sedikit  $MgSO_4$  hasil preparasi dan setelah dihitung diperoleh  $MgSO_4 \cdot H_2O$  sambil diaduk sehingga  $MgSO_4 \cdot H_2O$  akan mengikat molekul air yang tersisa sehingga lebih mudah dipisahkan dengan cara dekantasi.  $MgSO_4 \cdot H_2O$  ditambahkan hingga  $MgSO_4 \cdot H_2O$  tetap berupa serbuk (tidak menggumpal lagi). Kemudian ditampung dalam botol sampel dan dialiri gas  $N_2$  sebelum vial ditutup. Selanjutnya dihitung rendemennya.

### **3.4.4 Karakterisasi berdasarkan sifat fisik Minyak Cengkeh**

Karakterisasi berdasarkan sifat fisik minyak cengkeh meliputi warna, bau, berat jenis, dan indeks bias. Untuk pengamatan terhadap warna dilakukan secara visual menggunakan indra penglihatan terhadap sampel minyak cengkeh.

Pengukuran berat jenis menggunakan piknometer 2 mL. Piknometer kosong ditimbang. Selanjutnya minyak bunga cengkeh hasil distilasi dimasukkan ke dalam piknometer 2 mL sampai penuh, ditutup dan ditimbang (Lampiran 5.9). Selanjutnya dihitung selisih antara berat piknometer yang berisi minyak dengan piknometer kosong (Lampiran 2.2). Sedangkan pengukuran indeks bias menggunakan refraktometer Abbe. Sebelum digunakan, refraktometer perlu dikalibrasi menggunakan akuades. Akuades ditetaskan di atas kaca sampel sebanyak 2 tetes, ditutup, dan diamati indeks bias dengan memutar skrol hingga terlihat garis tengah yang memisahkan antara gelap dan terang. Selanjutnya dilakukan pengukuran indeks bias untuk minyak cengkeh dengan perlakuan yang sama seperti pada saat kalibrasi menggunakan akuades (Lampiran 5.8) dan perhitungan (Lampiran 2.3).

### **3.4.5 Karakterisasi Komponen Penyusun Minyak Cengkeh Menggunakan Metode Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa**

Minyak cengkeh yang diperoleh dianalisis komponen penyusunnya dan dibandingkan dengan eugenol standar dengan menginjeksikan 0,05  $\mu\text{L}$  minyak bunga cengkeh hasil distilasi uap pada *syringe* KG-SM dengan karakteristik:

Merk	: GCMS-QP2010S Shimadzu
Kolom	: Rastek RXi-5MS
Fase diam	: 5% difenil / 95% dimetil polisiloksan
Panjang	: 30 m
Gas pembawa	: Helium
Pengionan	: EI 70 eV
Temperatur injeksi	: 225°C
Tekanan	: 12 kPa
Temperatur kolom	: 60-215 °C dengan kenaikan 10°C per menit
Temperatur injektor	: 225 °C
Kecepatan aliran gas	: 84,2 mL/menit
<i>Split ratio</i>	: 158,4

### **3.4.6 Pembuatan Radikal Bebas dari Minyak Jagung yang Diradiasi Sinar UV**

Sebanyak 25 mL minyak jagung dituang ke dalam cawan gelas dan dimasukkan ke dalam kompartmen yang dilengkapi dengan lampu UV. Kemudian dinyalakan lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan diradiasi selama 40 menit. Minyak jagung diuji menggunakan ESR untuk mengetahui radikal bebas sebelum dan sesudah diradiasi.

### **3.4.7 Uji Aktivitas Antiradikal Bebas Minyak Cengkeh Menggunakan ESR**

Sebelum digunakan untuk menguji aktivitas antiradikal minyak cengkeh, ESR perlu dikalibrasi terlebih dahulu menggunakan DPPH. Tabung Durham yang berisi DPPH dimasukkan ke dalam kumparan berdiameter 0,5 cm. Instrumen ESR diatur frekuensi dan arus listrik sesuai dengan faktor  $g$  DPPH dan diamati luas resonansi yang ditunjukkan oleh spektrum pada osiloskop. Kalibrasi dilakukan dengan menghitung faktor  $g$  pada saat terjadi resonansi dan dibandingkan dengan nilai faktor  $g$  DPPH pada literatur. Mula-mula

dihitung besar medan magnet eksternal ( $B$ ) sesuai persamaan (2.2) dari data arus listrik ( $I$ ) kemudian dihitung faktor  $g$  dari nilai  $B$  dan frekuensi sesuai persamaan (2.4).

1 mL minyak jagung yang telah diradiasi sinar UV dimasukkan ke dalam 5 tabung durham. Minyak jagung yang telah diradiasi diamati luas resonansi dengan mengatur frekuensi dan arus listrik setiap jenis radikal bebas hidroksil, peroksil, hidrogen, dan alkil. Selanjutnya, 45, 50, 55, 60, 65  $\mu\text{L}$  minyak cengkeh sebagai antiradikal bebas dimasukkan ke dalam 5 tabung Durham yang berbeda dan diamati penurunan luas kurva resonansi sesuai perhitungan yang disajikan pada Lampiran 4.3, 4.4, dan 4.5.



## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Determinasi Tanaman Cengkeh**

Determinasi tanaman cengkeh ditunjukkan pada Lampiran 5.10. Dari data determinasi tersebut diketahui bahwa sampel merupakan tanaman cengkeh dengan nama klasifikasi *Syzygium aromaticum*.

#### **4.2 Isolasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Menggunakan Metode Distilasi Uap**

Minyak atsiri bunga cengkeh yang diperoleh dari hasil distilasi uap bunga cengkeh kering 200 g adalah 17,27 g dengan rendemen sebesar 8,6 %. Perhitungan rendemen disajikan pada Lampiran 2.2. Pada penelitian Nurdjannah [37], isolasi minyak bunga cengkeh dengan metode distilasi uap selama 9 jam menghasilkan rendemen 9,67 %. Sedangkan pada penelitian Sukandar [53], distilasi uap selama 6 jam menghasilkan rendemen 6,5 %. Dan pada penelitian Guan [54], isolasi minyak bunga cengkeh selama 8 jam menghasilkan rendemen 10,1 %. Hasil tersebut menunjukkan bahwa lama distilasi berpengaruh terhadap rendemen minyak yang dihasilkan.

Bunga cengkeh kering diisolasi minyak atsiri bunga cengkeh menggunakan metode distilasi uap. Bunga cengkeh kering ditimbang sebanyak 200 g menggunakan neraca analitik. Massa penimbangan bunga tersebut disesuaikan dengan kapasitas volume labu distilasi dikarenakan ketebalan bahan akan mempengaruhi jumlah minyak atsiri yang dihasilkan. Semakin tebal dan rapat suatu bahan, maka laju penguapan minyak atsiri oleh uap air akan berlangsung cukup lambat, sebaliknya jika bahan yang didistilasi tidak terlalu rapat maka laju penguapan minyak atsiri oleh uap air akan berjalan lebih cepat. Pada proses ini terjadi peristiwa difusi yaitu berpindahnya minyak atsiri dari kelenjar minyak ke luar jaringan melalui membran akibat tekanan dari uap air, sehingga minyak atsiri dapat terekstrak dan menguap bersama uap air.

Bunga cengkeh yang digunakan adalah bunga cengkeh yang sudah kering. Hal ini dimaksudkan sebagai teknik pengawetan bunga cengkeh setelah panen untuk keperluan industri. Selain itu, bertujuan agar molekul air yang terkandung di dalam jaringan bunga cengkeh

dapat menguap sehingga minyak atsiri lebih mudah keluar dari kelenjar minyak [55].

Berdasarkan penelitian Nurjannah [37], isolasi minyak bunga cengkeh dilakukan selama 9-12 jam. Namun pada waktu tersebut penambahan minyak tidak berbeda nyata dan semakin lama waktu distilasi kadar eugenol akan semakin turun. Sedangkan menurut Guenther [55] waktu distilasi selama 8-24 jam masih menunjukkan karakteristik fisik yang sesuai dengan standar. Sehingga dilakukan isolasi minyak atsiri bunga cengkeh selama 8 jam karena waktu tersebut merupakan waktu maksimum untuk memperoleh minyak dengan rendemen yang besar yang masih terdapat kandungan eugenol yang sangat besar.

Pada proses isolasi ini minyak cengkeh akan terdorong oleh uap air yang berasal dari ketel uap menuju kondensor. Pengembunan terjadi di dalam kondensor, sehingga uap air yang bercampur minyak akan mengembun dan mencair kembali serta mengalir menuju corong pisah. Senyawa yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap terlebih dahulu, kemudian diikuti oleh senyawa yang memiliki titik didih tinggi. Pada proses isolasi ini dihasilkan distilat berupa campuran air dan minyak atsiri bunga cengkeh dengan aroma khas bunga cengkeh. Pada distilat yang diperoleh terdapat minyak yang berada pada lapisan bawah dan molekul-molekul air pada lapisan atas. Sehingga dilakukan pemisahan dengan cara mengalirkan lapisan bawah yang berupa minyak keluar dari corong pisah dan ditampung dalam botol sampel. Minyak yang diperoleh selanjutnya ditambahkan  $MgSO_4 \cdot H_2O$  yang telah dipreparasi dari  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  dengan cara memanaskan  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  untuk menguapkan molekul  $H_2O$ . Penambahan  $MgSO_4 \cdot H_2O$  ini digunakan untuk mengikat molekul air yang masih terdapat di dalam minyak.  $MgSO_4$  termasuk senyawa inert, cepat dalam menyerap air, efisien, dan dapat digunakan untuk sebagian besar kasus [51]. Serbuk  $MgSO_4$  memiliki kapasitas hidrat sebanyak 7 molekul  $H_2O$ . Oleh karena itu,  $MgSO_4 \cdot H_2O$  masih dapat menyerap 6 molekul  $H_2O$ . Penambahan  $MgSO_4$  dilakukan hingga serbuk  $MgSO_4$  tidak menggumpal lagi.  $MgSO_4 \cdot H_2O$  tidak menggumpal lagi merupakan parameter fisik telah terikatnya molekul air pada minyak. Pemisahan antara minyak dan  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  dapat dilakukan dengan cara dekantasi. Apabila serbuk  $MgSO_4$  terbawa ke dalam minyak maka dapat dilakukan sentrifugasi.

Minyak yang bebas air selanjutnya dimasukkan ke dalam vial yang telah dibersihkan sebelumnya. Sebelum ditutup, dilakukan

pengaliran gas  $N_2$ . Hal tersebut dilakukan untuk mencegah terjadinya oksidasi terhadap minyak akibat adanya  $O_2$ . Setelah bebas pelarut, maka dihitung rendemen minyak atsiri bunga cengkeh (perhitungan ditunjukkan pada lampiran 2.2).

#### 4.3 Karakterisasi berdasarkan sifat fisik Minyak Cengkeh

Karakterisasi sifat fisik meliputi pengamatan terhadap warna dan bau minyak, pengukuran indeks bias, dan penentuan berat jenis. Hasil uji sifat fisik minyak cengkeh disajikan dalam Tabel 4.1.

**Tabel 4.1 Karakterisasi Sifat Fisik Minyak Bunga Cengkeh**

Parameter	Hasil Penelitian	SNI 06-4267-1996
Warna	Kuning Muda	Tidak berwarna-kuning muda
Bau	Khas cengkeh	Khas cengkeh
Indeks Bias (20 °C)	1,5356	1,529-1,537
Berat Jenis (15 °C)	1,06635	1,04-1,07

Pengamatan terhadap warna ini dilakukan secara visual menggunakan indera penglihatan. Parameter warna ini sesuai dengan SNI 06-4267-1996 yang menyebutkan bahwa minyak cengkeh tidak berwarna sampai kuning muda. Berdasarkan parameter warna, minyak cengkeh hasil distilasi uap berada pada kualitas tersebut.

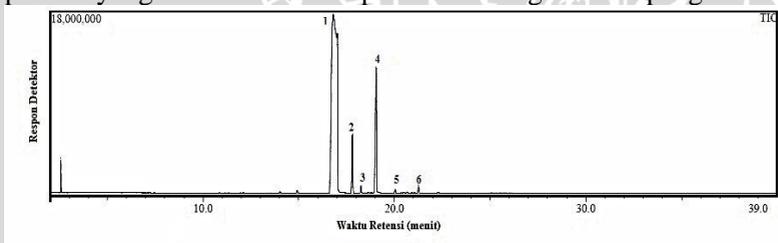
Penentuan berat jenis pada penelitian ini digunakan piknometer kapasitas 2 mL. Perhitungan berat jenis ini merupakan perbandingan antara massa minyak atsiri bunga cengkeh dengan akuades (Lampiran 2.3). Penentuan berat jenis dilakukan pada temperatur 28 °C. Perhitungan berat jenis ini sesuai dengan SNI 06-4267-1996 yang menyebutkan bahwa minyak cengkeh memiliki berat jenis sebesar 1,04 – 1,07. Berdasarkan perhitungan, minyak cengkeh hasil distilasi uap berada pada kualitas tersebut. Salah satu hal yang berhubungan dengan berat jenis adalah massa molekul komponen penyusun minyak atsiri bunga cengkeh. Berat jenis pada masing-masing minyak atsiri memiliki nilai yang berbeda-beda.

Indeks bias juga merupakan salah satu parameter fisik kualitas minyak cengkeh. Pengukuran indeks bias dilakukan dengan menggunakan refraktometer (Lampiran 5.8). Sebelum digunakan untuk mengukur indeks bias minyak cengkeh hasil distilasi, perlu dilakukan kalibrasi menggunakan akuades untuk memastikan bahwa alat tersebut sudah siap untuk digunakan. Pada penelitian ini,

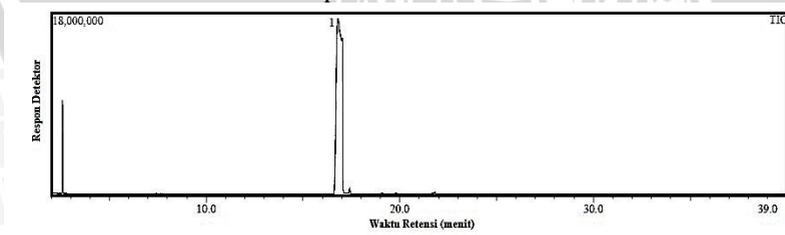
dilakukan pengukuran indeks bias pada temperatur 28 °C. skala yang terbaca dikonversi sesuai dengan SNI 06-4267-1996 sehingga diperoleh indeks bias sebesar 1,5356 (perhitungan ditunjukkan pada Lampiran 2.4). Nilai ini memenuhi standar SNI 06-4267-1996 yang menyebutkan bahwa nilai indeks bias untuk minyak bunga cengkeh berkisar antara 1,529-1,537. Indeks bias dipengaruhi oleh adanya senyawa yang memiliki rantai karbon panjang dan juga banyak ikatan rangkap (Nainggolan dalam [1]). Banyaknya senyawa yang memiliki rantai karbon panjang dan ikatan rangkap akan membelokkan sinar yang datang menjauhi garis normal sehingga akan mempengaruhi nilai indeks bias.

#### 4.4 Karakterisasi Komponen Penyusun Minyak Cengkeh Menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa

Hasil analisis komponen minyak bunga cengkeh menggunakan KG-SM berupa *Total ion chromatogram* (TIC) yang merupakan grafik hubungan antara waktu retensi dengan respon detektor dari komponen-komponen penyusun minyak atsiri. Dari TIC tersebut diperoleh 6 puncak seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.1. Dan puncak yang muncul sebelum puncak 1 diduga adalah pengotor.



**Gambar 4.1** TIC Komponen Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Hasil Distilasi Uap



**Gambar 4.2** TIC Eugenol standar

Minyak atsiri bunga cengkeh yang diperoleh dari hasil distilasi uap dikarakterisasi menggunakan KG-SM untuk mengetahui komponen penyusunnya. Instrumen KG-SM akan memisahkan

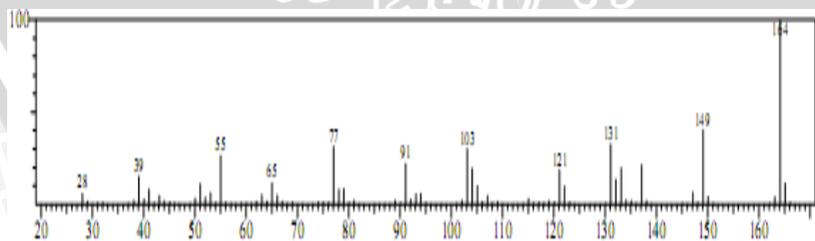
komponen penyusun minyak atsiri bunga cengkeh berdasarkan distribusi senyawa pada fase diam kemudian dilanjutkan oleh detektor SM yang menentukan struktur komponen yang telah dipisahkan oleh KG melalui suatu pembelahan fragmen-fragmen akibat ditembak elektron sebesar 70 eV. Instrumen KG-SM yang digunakan yaitu GCMS-QP2010S Shimadzu yang menggunakan kolom Restek Rtx-5MS disusun oleh senyawa yang memiliki karakteristik nonpolar yaitu 5 % difenil / 95 % dimetilpolisiloksan. Oleh karena itu, senyawa-senyawa yang tergolong nonpolar akan tertahan lebih lama di kolom menyebabkan senyawa-senyawa yang bersifat polar akan keluar terlebih dahulu. Gas Helium digunakan sebagai fasa gerak. Temperatur injeksi sebesar 225 °C selama 5 menit kemudian mengalami peningkatan setiap 10 °C/menit hingga mencapai temperatur 305 °C selama 25 menit.

TIC dari minyak cengkeh yang diperoleh dikonfirmasi menggunakan TIC dari eugenol (Gambar 4.2) untuk mengetahui apakah komponen terbesar dari minyak cengkeh adalah eugenol.

Puncak dari kromatogram dianalisis lebih lanjut menggunakan spektrometer massa seperti ditunjukkan pada Tabel 4.2. dan diinterpretasikan pola fragmentasinya.

**Tabel 4.2** Waktu Retensi dan % Area Komponen Minyak Atsiri Bunga Cengkeh

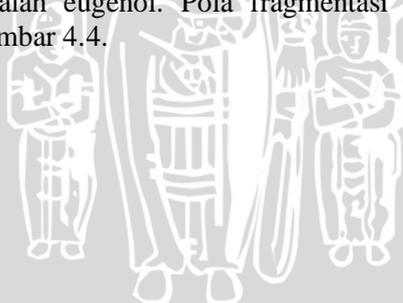
Puncak	Waktu Retensi (menit)	% Area
1	16,791	62,99
2	17,797	3,92
3	18,225	0,45
4	19,051	12,43
5	20,039	0,25
6	21,254	0,53

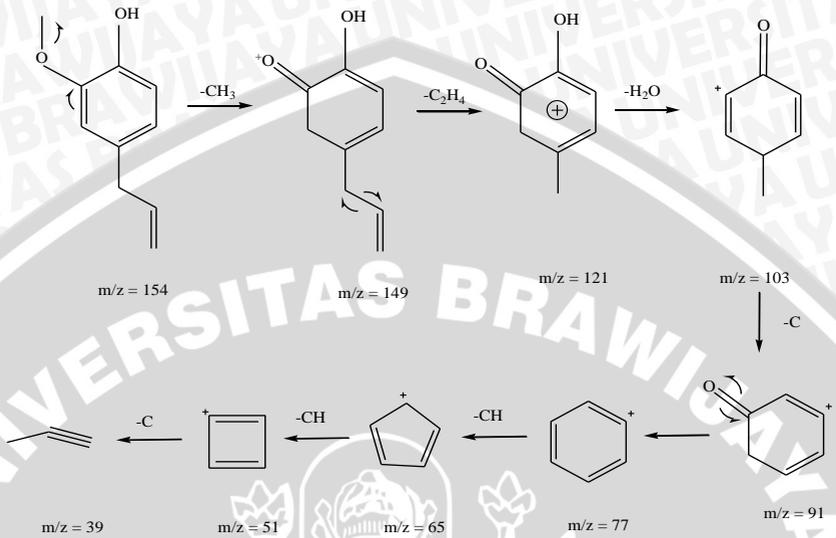


**Gambar 4.3** Spektrum Massa Komponen Penyusun Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Hasil Distilasi Dengan Waktu Retensi 16,791 menit

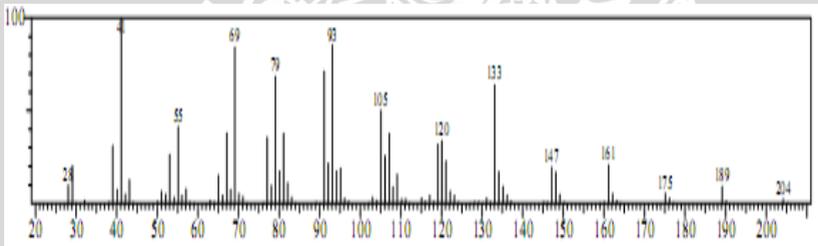
Spektrum massa minyak atsiri bunga cengkeh hasil distilasi uap dengan waktu retensi 16,791 menit menunjukkan adanya puncak  $m/z = 164, 149, 131, 121, 103, 91, 77, 65, 55,$  dan  $39$  (Gambar 4.3). Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai kemiripan dengan pola fragmentasi senyawa eugenol (Lampiran 3.1).

Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 16,791 menit dan 17,025 menit memiliki pola fragmentasi yang sama yaitu ion molekul pada puncak  $m/z = 164$  yang ditunjukkan sebagai puncak paling kanan. Ion molekul  $m/z = 164$  diduga mengalami pemutusan  $\text{CH}_3$  menghasilkan puncak  $m/z = 149$ . Puncak  $m/z = 149$  mengalami pemutusan  $\text{C}_2\text{H}_4$  menghasilkan puncak  $m/z = 121$ .  $m/z = 121$  mengalami pemutusan  $\text{H}_2\text{O}$  menghasilkan puncak  $m/z = 103$ . Puncak  $m/z = 103$  mengalami pemutusan  $\text{C}$  menghasilkan puncak  $m/z = 91$ . Puncak  $m/z = 91$  mengalami pemutusan  $\text{CH}_2$  yang menghasilkan puncak  $m/z = 77$ . Puncak  $m/z = 77$  mengalami pemutusan  $\text{C}$  menghasilkan puncak  $m/z = 65$ . Puncak  $m/z = 65$  mengalami pemutusan  $\text{C}_2\text{H}$  menghasilkan puncak  $m/z = 40$ . Berdasarkan pola fragmentasi tersebut, diduga senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 16,791 adalah eugenol. Pola fragmentasi senyawa eugenol diduga seperti Gambar 4.4.





**Gambar 4.4** Pola Fragmentasi yang diduga untuk eugenol

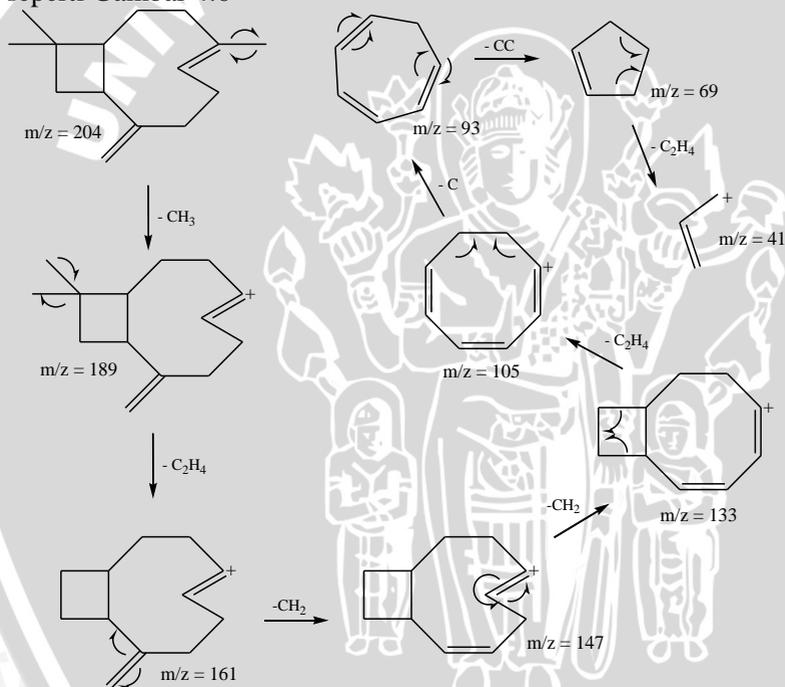


**Gambar 4.5** Spektrum Massa Komponen Penyusun Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Hasil Distilasi Dengan Waktu Retensi 17,797 menit

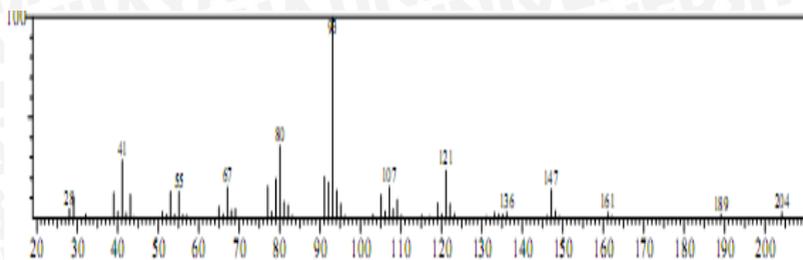
Spektrum massa minyak atsiri bunga cengkeh dengan waktu retensi 17,797 menit menunjukkan adanya puncak  $m/z$  189, 175, 161, 147, 133, 120, 105, 93, 79, 69, 55, 41, dan 40 (Gambar 4.5). Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai kemiripan dengan pola fragmentasi senyawa  $\beta$ -kariofilen (Lampiran 3.2).

Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB ion molekul berada pada puncak  $m/z = 204$ . Ion molekul melepaskan  $CH_3$  radikal sehingga dihasilkan puncak  $m/z = 189$ . Pada puncak  $m/z = 189$  mengalami pemutusan  $CH_2$  menghasilkan puncak  $m/z = 175$ . Pada puncak  $m/z = 175$  kembali mengalami pemutusan  $CH_2$  sebanyak 3 kali

menghasilkan puncak  $m/z = 133$ . Pada puncak  $m/z = 133$  mengalami pemutusan  $C_2H_4$  menghasilkan puncak  $m/z = 105$ . Pada puncak  $m/z = 105$  mengalami pemutusan  $C$  sehingga menghasilkan puncak  $m/z = 93$ . Puncak  $m/z = 93$  kemungkinan mengalami 2 pemutusan yaitu pemutusan  $CH_2$  dan  $CC$ . pada pemutusan  $CH_2$  puncak  $m/z = 93$  menghasilkan puncak  $m/z = 79$  sedangkan pada pemutusan  $CC$  menghasilkan puncak  $m/z = 69$ . Pada puncak  $m/z = 69$  selanjutnya mengalami pemutusan  $CH_2$  sebanyak 2 kali berturut-turut hingga diperoleh puncak  $m/z = 41$ . Berdasarkan pola fragmentasi tersebut, senyawa hasil distilasi dengan waktu retensi 17,797 menit diduga adalah  $\beta$ -kariofilen. Pola fragmentasi senyawa  $\beta$ -kariofilen diduga seperti Gambar 4.6



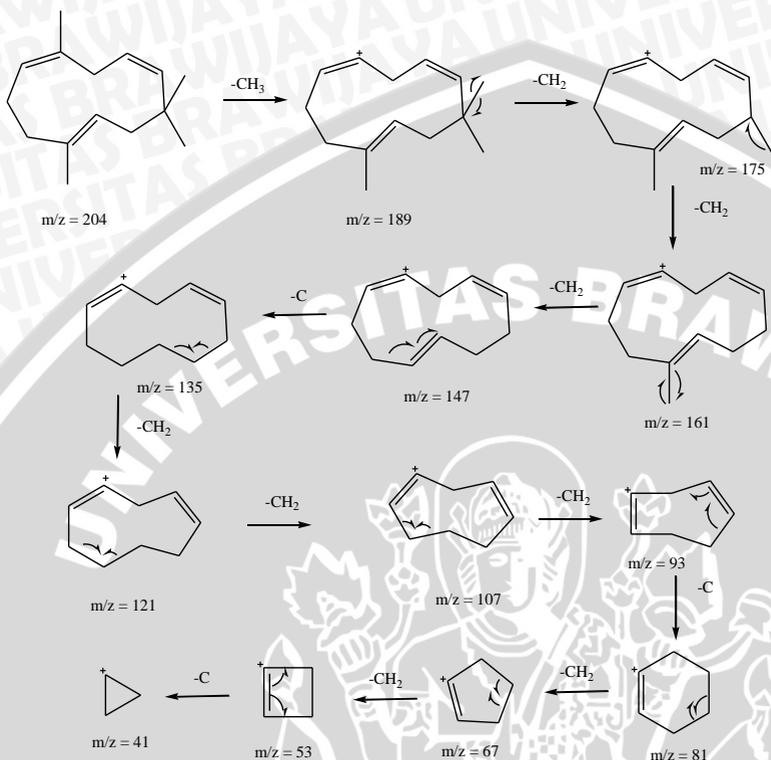
**Gambar 4.6** Pola fragmentasi yang diduga untuk  $\beta$ -kariofilen



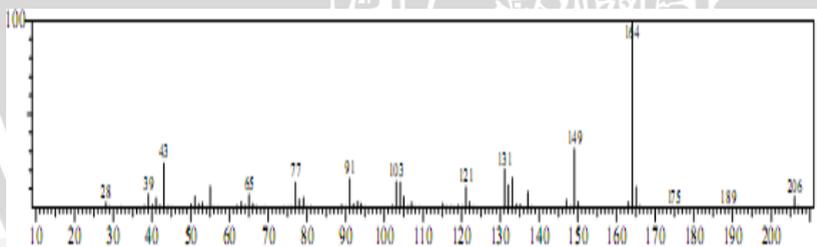
**Gambar 4.7** Spektrum Massa Komponen Penyusun Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Hasil Distilasi Dengan Waktu Retensi 18,225 menit

Spektrum massa senyawa penyusun minyak atsiri bunga cengkeh hasil distilasi dengan waktu retensi 18,225 menit menunjukkan adanya puncak  $m/z = 204$ , 189, 161, 147, 136, 121, 107, 93, 80, 67, 55, 41, dan 28 (Gambar 4.7). Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai kemiripan dengan pola fragmentasi senyawa  $\alpha$ -humulen (Lampiran 3.3).

Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 15,625 menit memiliki ion molekul pada puncak  $m/z = 204$  yang ditunjukkan sebagai puncak paling kanan. Ion molekul  $m/z = 204$  diduga mengalami pemutusan  $\text{CH}_3$  menghasilkan puncak  $m/z = 189$ . Puncak  $m/z = 189$  mengalami pemutusan  $\text{CH}_2$  sebanyak 3 kali berturut-turut sehingga menghasilkan puncak  $m/z = 147$ .  $m/z = 147$  mengalami pemutusan C menghasilkan puncak  $m/z = 135$ . Puncak  $m/z = 135$  mengalami pemutusan  $\text{CH}_2$  sebanyak 3 kali berturut-turut sehingga menghasilkan puncak  $m/z = 93$ . Puncak  $m/z = 93$  mengalami pemutusan C yang menghasilkan puncak  $m/z = 81$ . Puncak  $m/z = 81$  mengalami pemutusan  $\text{CH}_2$  sebanyak 2 kali menghasilkan puncak  $m/z = 53$ . Puncak  $m/z = 53$  mengalami pemutusan C menghasilkan puncak  $m/z = 41$ . Berdasarkan pola fragmentasi tersebut, diduga senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 18,225 adalah  $\alpha$ -humulen. Pola fragmentasi senyawa  $\alpha$ -humulen diduga seperti Gambar 4.8



**Gambar 4.8** Pola fragmentasi yang diduga untuk  $\alpha$ -humulene

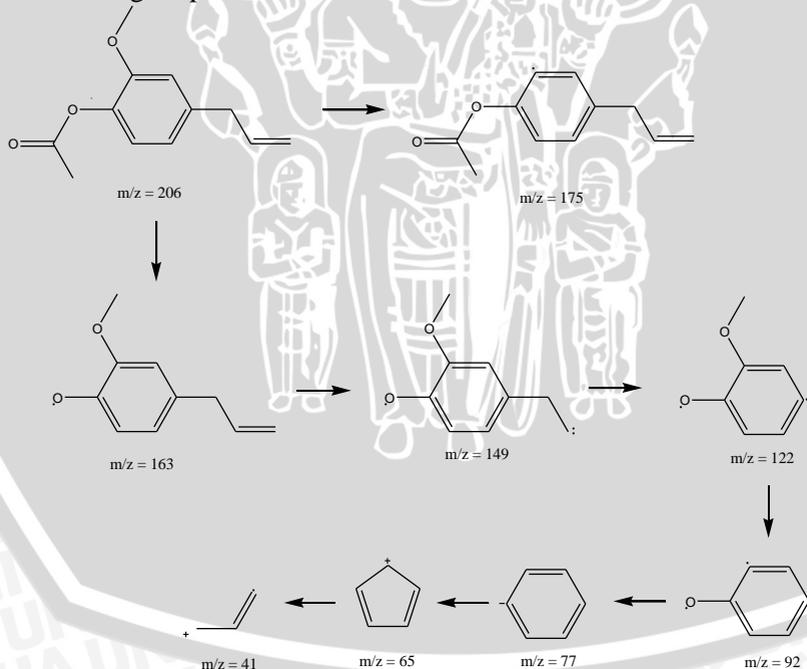


**Gambar 4.9** Spektrum Massa Komponen Penyusun Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Hasil Distilasi Dengan Waktu Retensi 19,051 menit

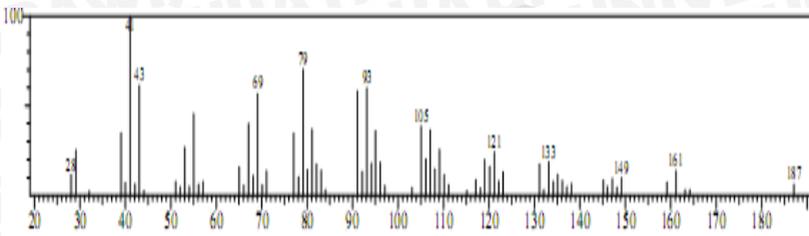
Spektrum massa minyak atsiri bunga cengkeh hasil distilasi uap dengan waktu retensi 19,051 menit menunjukkan adanya puncak  $m/z = 206, 189, 175, 164, 149, 131, 121, 103, 91, 77, 65, 43, 39$  dan  $28$  (Gambar 4.9). Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan

bahwa senyawa tersebut mempunyai kemiripan dengan pola fragmentasi senyawa eugenil asetat (Lampiran 3.4).

Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 19,051 menit memiliki ion molekul pada puncak  $m/z = 206$  yang ditunjukkan sebagai puncak paling kanan. Ion molekul  $m/z = 206$  diduga mengalami 2 kali pemutusan yaitu memutuskan  $OCH_3$  menghasilkan puncak  $m/z = 175$  dan memutuskan  $C(O)CH_3$  yang menghasilkan puncak  $m/z = 163$ . Puncak  $m/z = 163$  mengalami pemutusan  $CH_2$  menghasilkan puncak  $m/z = 149$ .  $m/z = 149$  mengalami pemutusan  $C_2H_4$  menghasilkan puncak  $m/z = 122$ . Puncak  $m/z = 122$  mengalami pemutusan  $OCH_3$  menghasilkan puncak  $m/z = 92$ . Puncak  $m/z = 92$  diduga mengalami pemutusan O yang menghasilkan puncak  $m/z = 77$ . Puncak  $m/z = 77$  mengalami pemutusan CH menghasilkan puncak  $m/z = 65$ . Puncak  $m/z = 65$  mengalami pemutusan CH menghasilkan puncak  $m/z = 41$ . Berdasarkan pola fragmentasi tersebut, diduga senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 19,051 adalah eugenil asetat. Pola fragmentasi senyawa eugenil asetat diduga seperti Gambar 4.10



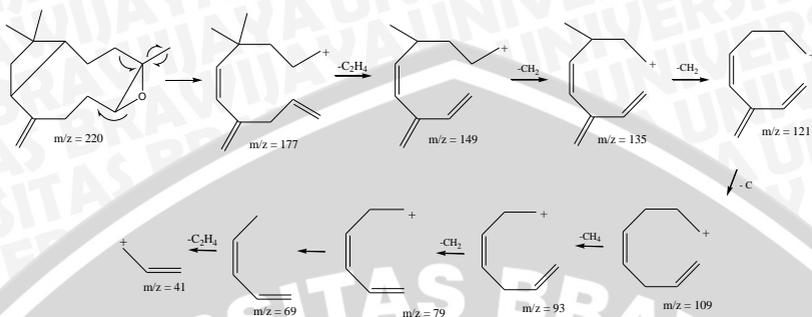
**Gambar 4.10** Pola fragmentasi yang diduga untuk eugenil asetat



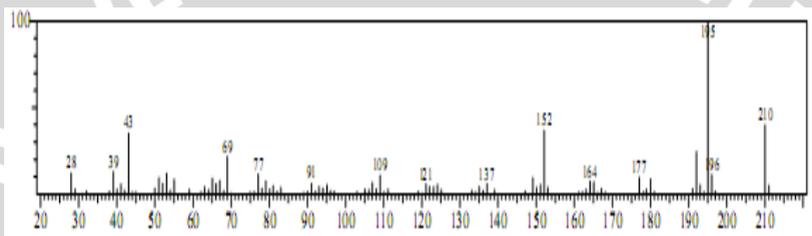
**Gambar 4.11** Spektrum Massa Komponen Penyusun Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Hasil Distilasi Dengan Waktu Retensi 20,039 menit

Spektrum massa minyak atsiri bunga cengkeh hasil distilasi uap dengan waktu retensi 20,039 menit menunjukkan adanya puncak  $m/z = 187, 177, 161, 149, 133, 121, 105, 93, 79, 69, 43, 41$  dan  $28$  (Gambar 4.11). Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai kemiripan dengan pola fragmentasi senyawa kariofilen oksida (Lampiran 3.5).

Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 20,039 menit memiliki ion molekul pada puncak  $m/z = 220$  yang ditunjukkan sebagai puncak paling kanan. Ion molekul  $m/z = 220$  diduga mengalami 2 kali pemutusan yaitu memutuskan  $C_2H_3O$  menghasilkan puncak  $m/z = 177$  dan memutuskan  $C_3H_7O$  yang menghasilkan puncak  $m/z = 161$ . Puncak  $m/z = 161$  mengalami pemutusan C menghasilkan puncak  $m/z = 149$ .  $m/z = 149$  mengalami pemutusan  $C_2H_4$  menghasilkan puncak  $m/z = 121$ . Puncak  $m/z = 121$  mengalami pemutusan 2 kali pemutusan  $CH_2$  menghasilkan puncak  $m/z = 93$ . Puncak  $m/z = 93$  diduga mengalami 2 kali pemutusan yaitu pemutusan CC yang menghasilkan puncak  $m/z = 69$  dan pemutusan  $CH_2$  yang menghasilkan puncak  $m/z = 79$ . Puncak  $m/z = 79$  mengalami pemutusan  $C_3H_2$  menghasilkan puncak  $m/z = 41$ . Berdasarkan pola fragmentasi tersebut, diduga senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 20,039 adalah kariofilen oksida. Pola fragmentasi senyawa kariofilen oksida diduga seperti Gambar 4.12



**Gambar 4.12** Pola fragmentasi yang diduga untuk kariofilen oksida

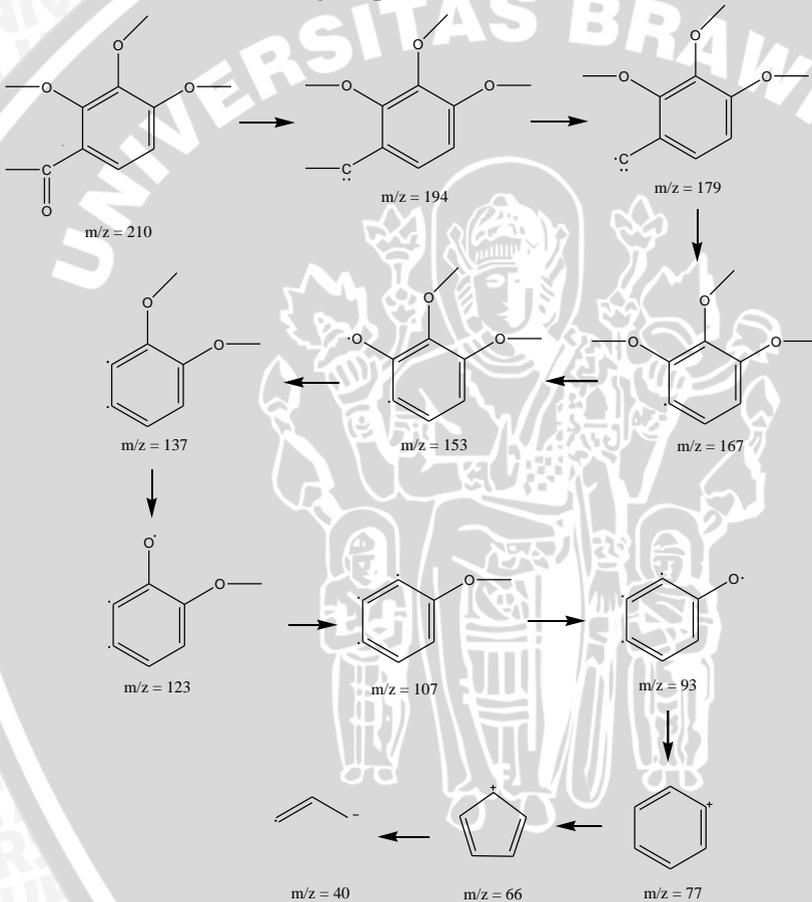


**Gambar 4.13** Spektrum Massa Komponen Penyusun Minyak Atsiri Bunga Cengkeh Hasil Distilasi Dengan Waktu Retensi 21,254 menit

Spektrum massa minyak atsiri bunga cengkeh hasil distilasi uap dengan waktu retensi 21,254 menit menunjukkan adanya puncak  $m/z = 210, 195, 177, 165, 152, 137, 121, 109, 91, 77, 69$ , dan  $43$  (Gambar 4.13). berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai kemiripan dengan pola fragmentasi senyawa trimetoksi asetofenon (Lampiran 3.6).

Berdasarkan pustaka WILEY7.LIB menunjukkan bahwa senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 21,254 menit memiliki ion molekul pada puncak  $m/z = 210$  yang ditunjukkan sebagai puncak paling kanan. Ion molekul  $m/z = 210$  diduga mengalami pemutusan O menghasilkan puncak  $m/z = 194$ . Puncak  $m/z = 194$  mengalami pemutusan  $CH_3$  menghasilkan puncak  $m/z = 179$ .  $m/z = 179$  mengalami pemutusan C menghasilkan puncak  $m/z = 167$ . Puncak  $m/z = 167$  mengalami pemutusan pemutusan  $CH_3$  menghasilkan puncak  $m/z = 153$ . Puncak  $m/z = 153$  diduga mengalami pemutusan O yang menghasilkan puncak  $m/z = 137$ . Puncak  $m/z = 137$  mengalami pemutusan  $CH_3$  menghasilkan puncak  $m/z = 123$ . Puncak  $m/z = 123$  diduga mengalami pemutusan O yang menghasilkan puncak  $m/z = 107$ . Puncak  $m/z = 107$  mengalami

pemutusan  $\text{CH}_3$  menghasilkan puncak  $m/z = 93$ . Puncak  $m/z = 93$  diduga mengalami pemutusan  $\text{O}$  yang menghasilkan puncak  $m/z = 77$ . Puncak  $m/z = 77$  mengalami pemutusan  $\text{CH}_2$  menghasilkan puncak  $m/z = 66$ . Puncak  $m/z = 66$  mengalami pemutusan  $\text{C}_2\text{H}_4$  menghasilkan puncak  $m/z = 40$ . Berdasarkan pola fragmentasi tersebut, diduga senyawa hasil distilasi uap dengan waktu retensi 21,254 adalah trimetoksi asetofenon. Pola fragmentasi senyawa trimetoksi asetofenon diduga seperti Gambar 4.14



**Gambar 4.14** Pola fragmentasi yang diduga untuk trimetoksi asetofenon

Berdasarkan hasil interpretasi spektrum massa, diperoleh 6 komponen dengan komponen utama adalah Eugenol (81,20 %),

Eugenil asetat (12,43 %), Trans( $\beta$ )-kariofilen (3,92 %). Tekanan uap masing-masing komponen berdasarkan NIST dan komponen minyak cengkeh ditunjukkan pada Tabel 4.3.

**Tabel 4.3** Komponen Minyak Cengkeh Hasil Distilasi Uap dan Tekanan Uap Masing-masing Komponennya

No	Senyawa	% Area	Tekanan Uap (mmHg pada 25°C)
1	Eugenol	81,20	0,03
2	Trans $\beta$ -kariofilen	3,92	0,013
3	$\alpha$ -humulen	0,45	0,008
4	Eugenil asetat	12,43	0,008
5	Kariofilen oksida	0,25	0,007
6	Trimetoksi asetofenon	0,53	0,000361

Kandungan dan kelimpahan minyak atsiri yang diperoleh berbeda dengan penelitian Alma [6], karena perbedaan bunga cengkeh yang didistilasi serta jenis kolom yang digunakan pada KG-SM.

#### 4.5 Aktivitas Antiradikal Menggunakan ESR

##### 4.5.1 Jenis radikal dari minyak jagung yang diradiasi sinar UV

Jenis radikal bebas yang diperoleh dari minyak jagung yang telah diradiasi sinar UV  $\lambda = 254$  nm selama 40 menit, ditunjukkan dari nilai  $g$  masing-masing radikal adalah radikal alkil, hidroksil, dan peroksil, seperti ditunjukkan pada Tabel 4.4. Radikal terbanyak yang terbentuk secara berurutan adalah radikal peroksil, hidroksil, dan alkil dengan perhitungan luas resonansi yang ditunjukkan pada Lampiran 4.3, 4.4, dan 4.5.

**Tabel 4.4** Jenis Radikal Bebas yang Terbentuk dari Minyak Jagung Setelah Radiasi UV

No	$\nu$ (mHz)	I (A)	$g$	Jenis Radikal	Luas kurva resonansi (cm <sup>2</sup> )
1	19,1	0,274	2,003088	Alkil	0,15
2	31,4	0,265	2,000674	Hidroksil	0,175
3	32,7	0,161	2,015068	Peroksil	0,28

Radikal bebas dalam minyak jagung dapat ditentukan menggunakan ESR dengan menentukan jenis radikal bebas dari nilai  $g$  yang diperoleh dari perhitungan (persamaan 2.4) yang melibatkan frekuensi ( $\nu$ ), arus ( $I$ ) dan nilai magnet ( $B$ ). Jenis radikal bebas yang terbentuk dilihat dari nilai  $g$  karena setiap radikal bebas memiliki nilai  $g$  yang berbeda-beda.

Dari hasil radiasi minyak jagung diperoleh 3 jenis radikal. Sedangkan menurut Nadliroh [48] terdapat 5 jenis radikal dari hasil pemanasan terhadap minyak jagung. Hal tersebut dikarenakan radikal yang sangat reaktif, seperti hidrogen, bergabung dengan radikal lain.

Pembuatan sumber radikal dilakukan dengan cara meradiasi minyak jagung menggunakan sinar UV pada panjang gelombang 254 nm selama 40 menit. Dilakukan pada panjang gelombang tersebut karena energi yang dibutuhkan untuk memutuskan ikatan pada minyak jagung harus melebihi energi disosiasi ikatannya.

Bahan yang digunakan sebagai sumber radikal adalah minyak jagung karena selain dapat berperan sebagai zat pembawa (*carrier*) ternyata minyak jagung juga dapat menghasilkan radikal bebas ketika terkena radiasi sinar UV. Radikal bebas tersebut bersumber dari komponen utama minyak jagung yang tersusun dari gliserol dan asam lemak. Proses terbentuknya radikal disajikan pada Lampiran 4.1.

Teori disosiasi ikatan menjelaskan bahwa ukuran kestabilan molekul terletak pada energi ikatannya. Energi ini merupakan perubahan entalpi yang diperlukan untuk memutuskan ikatan tertentu satu mol molekul [28]. Energi ikatan antara dua atom berikatan memiliki nilai energi ikat yang khas. Energi yang dibutuhkan untuk terjadinya disosiasi ikatan pada atom C-O sebesar  $351 \text{ kJ/mol}$  untuk membentuk radikal bebas hidroksil. Energi tersebut lebih kecil dari energi radiasi sehingga radikal bebas hidroksil juga mudah terbentuk. Energi disosiasi yang dibutuhkan untuk membentuk radikal bebas alkil pada ikatan C-C trigliserida sebesar  $347 \text{ kJ/mol}$  lebih rendah daripada energi disosiasi ikatan C-O. Hal ini dikarenakan energi disosiasi ikatan pada C-C belum merupakan energi rata-rata karbon jenuh pada rantai trigliserida sehingga nilai energi disosiasi ikatan C-C lebih rendah daripada C-O. Energi lebih tinggi selanjutnya adalah energi disosiasi ikatan O=O dari molekul  $\text{O}_2$  sebesar  $498,7 \text{ kJ/mol}$  untuk membentuk radikal peroksil.

#### 4.5.2 Aktivitas Minyak atsiri Cengkeh sebagai Antiradikal bebas

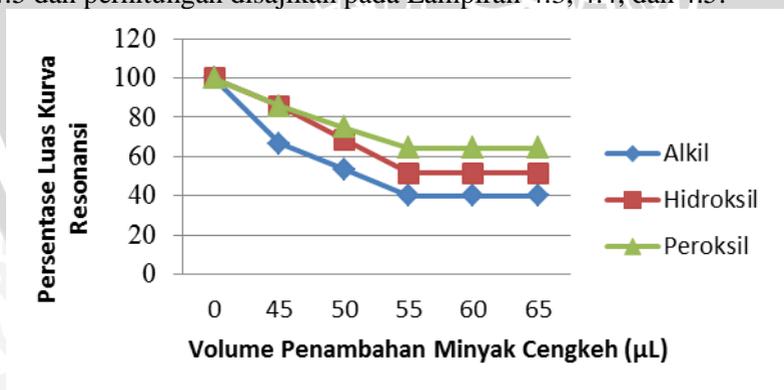
Aktivitas minyak cengkeh sebagai antiradikal ditunjukkan dari penurunan luas kurva resonansi radikal bebas setelah penambahan minyak cengkeh ke dalam minyak jagung yang mengandung radikal hidroksil, peroksil, dan alkil (perhitungan disajikan pada Lampiran 4.3, 4.4, dan 4.5). Penambahan volume minyak cengkeh mempengaruhi aktivitasnya sebagai antiradikal. Aktivitas optimal antiradikal minyak cengkeh terhadap radikal hidroksil (48,57 %), alkil (60 %), dan peroksil (35,71 %) diperoleh pada penambahan 55  $\mu\text{L}$  minyak cengkeh. Pengaruh penambahan volume minyak cengkeh sebagai antiradikal dalam minyak jagung ditunjukkan dalam Tabel 4.5.

**Tabel 4.5** Data penurunan luas kurva resonansi dari berbagai jenis radikal setelah penambahan minyak cengkeh pada minyak jagung

No	Jenis Radikal	Volume Minyak Cengkeh ( $\mu\text{L}$ )	Luas Kurva Resonansi Awal ( $\text{cm}^2$ )	Luas Kurva Resonansi Akhir ( $\text{cm}^2$ )	Penurunan Luas Kurva Resonansi (%)
1	Alkil	45	0,15	0,10	33,33
		50	0,15	0,08	46,67
		55	0,15	0,06	60
		60	0,15	0,06	60
		65	0,15	0,06	60
		Eugenol	0,15	0,06	60
2	Hidroksil	45	0,175	0,15	14,29
		50	0,175	0,12	31,43
		55	0,175	0,09	48,57
		60	0,175	0,09	48,57
		65	0,175	0,09	48,57
		eugenol	0,175	0,09	48,57
3	Peroksil	45	0,28	0,24	16,67
		50	0,28	0,21	25
		55	0,28	0,18	35,71
		60	0,28	0,18	35,71
		65	0,28	0,18	35,71
		eugenol	0,28	0,18	35,71

Sebelum dilakukan uji aktivitas, ESR dikalibrasi menggunakan DPPH sehingga dapat terlihat pada layar osiloskop seperti disajikan pada Lampiran 4.2. Dilakukan kalibrasi dengan tujuan untuk mengetahui harga  $g$  dari DPPH yang kemudian dikonfirmasi dengan harga  $g$  DPPH pada literatur sehingga relatif terhadap radikal yang lainnya. Volume minyak cengkeh yang ditambahkan sebanyak 45, 50, 55, 60, dan 65  $\mu\text{L}$  karena volume tersebut merupakan volume minimal dari minyak cengkeh yang mampu memerangkap radikal bebas dari minyak jagung.

Senyawa yang berkontribusi dalam memerangkap radikal bebas adalah senyawa yang bersifat reduktor karena memiliki kelimpahan elektron sehingga mampu mendonorkan atom H. Selain itu, senyawa yang memiliki ikatan rangkap juga mampu berperan dalam memerangkap radikal bebas. Namun, senyawa dengan ikatan rangkap yang terkonjugasi memiliki aktivitas antiradikal lebih tinggi karena terstabilkan oleh delokalisasi elektron. Pada minyak cengkeh, semua komponennya memiliki karakteristik tersebut, namun komponen yang memiliki kelimpahan paling besar yang berkontribusi dalam memerangkap radikal bebas. Dalam hal ini, eugenol merupakan senyawa yang diduga berkontribusi dalam memerangkap radikal bebas. Hal tersebut dapat terlihat dari hasil penurunan luas kurva resonansi radikal bebas pada saat ditambahkan eugenol menunjukkan hasil yang sama dengan penurunan luas kurva resonansi saat ditambahkan minyak cengkeh ditunjukkan pada Tabel 4.5 dan perhitungan disajikan pada Lampiran 4.3, 4.4, dan 4.5.



**Gambar 4.15** Grafik pengaruh penambahan volume minyak cengkeh terhadap luas kurva resonansi radikal bebas

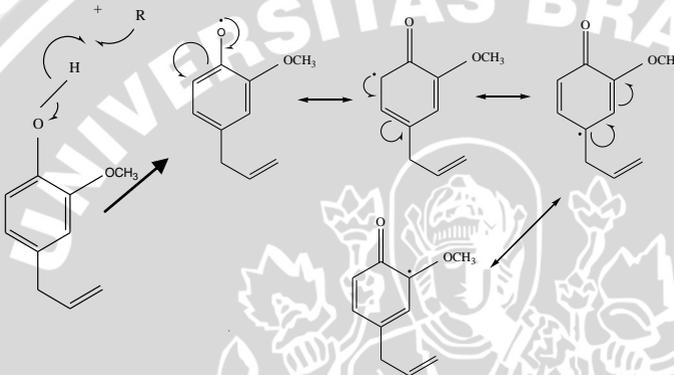
Berdasarkan Gambar 4.15 dan Tabel 4.5 luas kurva resonansi untuk masing-masing jenis radikal, terjadi penurunan seiring dengan banyaknya minyak cengkeh yang ditambahkan. Hal tersebut menunjukkan bahwa semakin banyak senyawa yang terperangkap radikal bebas. Namun pada penambahan minyak cengkeh sebanyak 55  $\mu\text{L}$  ketiga radikal tersebut sudah tidak mengalami penurunan. Hal ini menunjukkan bahwa pada penambahan tersebut telah terjadi kesetimbangan sehingga tidak ada lagi radikal yang dapat diperangkap oleh minyak cengkeh. Senyawa eugenol yang terkandung dalam minyak cengkeh memiliki ciri khas adanya gugus hidroksil pada gugus utama senyawa benzena. Hal ini dijelaskan bahwa satu elektron atom hidrogen akan mudah melepas ikatan karena atom oksigen akan terstabilkan oleh adanya delokalisasi elektron senyawa benzena sehingga satu elektron pada atom hidrogen akan berikatan dengan satu elektron tidak berpasangan radikal bebas.

Jika ditinjau dari segi penurunan terbesar, maka radikal alkil merupakan radikal yang paling banyak diperangkap disusul dengan radikal hidroksil. Hal ini disebabkan radikal alkil dan hidroksil sangat reaktif sehingga dapat merebut atom H dari eugenol dengan mudah membentuk rantai hidrokarbon seperti semula, sedangkan eugenol berubah menjadi radikal eugenol yang stabil. Hal ini menunjukkan bahwa minyak cengkeh optimal memerangkap radikal alkil dan hidroksil.

Suatu senyawa dikatakan dapat terperangkap radikal bebas apabila memiliki pasangan elektron bebas pada suatu atom. Namun, tidak semua atom yang memiliki pasangan elektron bebas mampu terperangkap radikal. Atom tersebut harus mampu melepaskan ikatannya dengan atom lain yang lebih elektropositif yaitu hidrogen. Adanya sistem delokalisasi elektron pada gugus benzena mampu menstabilkan satu elektron tidak berpasangan pada antiradikal bebas.

Eugenol mudah mendonorkan atom H pada radikal membentuk spesi  $\text{ArO}\cdot$ , karena ikatan O-H lebih mudah putus bila dibandingkan dengan ikatan C-O dan menghasilkan molekul yang stabil. Kestabilan ini dipengaruhi oleh delokalisasi elektron tak berpasangan pada cincin aromatis dan substituen-substituen yang dimiliki gugus fenolik. Gugus metoksi pada posisi ortho dan gugus alil pada posisi para merupakan gugus pendonor elektron sehingga dapat memudahkan eugenol menyumbangkan elektron pada radikal bebas.

Senyawa eugenol yang terkandung dalam minyak cengkeh memiliki ciri khas adanya gugus hidroksil pada gugus utama benzena. Hal ini dijelaskan bahwa satu elektron atom hidrogen akan mudah melepas ikatan karena atom oksigen akan terstabilkan oleh adanya delokalisasi elektron gugus benzena sehingga satu elektron pada atom hidrogen akan berikatan dengan satu elektron tidak berpasangan radikal bebas. Mekanisme memperangkap radikal bebas oleh senyawa eugenol ditunjukkan pada Gambar 4.16



**Gambar 4.16** Mekanisme perangkap oleh senyawa eugenol pada tahap terminasi radikal bebas

Berdasarkan gambar 4.16, mekanisme perangkap radikal bebas oleh senyawa eugenol terjadi pada tahap terminasi atau tahap akhir radikal bebas. Senyawa eugenol sebagai reduktor menyumbangkan satu elektron tidak berpasangannya kepada radikal bebas. Senyawa eugenol mudah memberikan elektron pada atom H dalam gugus hidroksil yang tersubstitusi pada benzena. Atom oksigen memiliki satu elektron tidak berpasangan kemudian adanya elektron bebas tidak berpasangan akan terstabilkan oleh ikatan rangkap terkonjugasi pada benzena [52]. Adanya sistem terkonjugasi pada benzena, maka kereaktifan radikal bebas akan berkurang. Sedangkan radikal bebas akan membentuk senyawa baru yang menandakan berakhirnya tahap terminasi.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **4.1 Kesimpulan**

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil isolasi minyak cengkeh selama 8 jam diperoleh rendemen 8,6 % dengan kualitas sesuai SNI
2. Analisis minyak cengkeh hasil distilasi uap dengan KG-SM diperoleh 6 komponen, dengan komponen utama yaitu eugenol (81,20 %)
3. Jenis radikal bebas yang dihasilkan dari radiasi minyak jagung adalah radikal hidroksil, alkil dan peroksil
4. Minyak cengkeh menunjukkan aktivitas antiradikal terhadap radikal alkil sebesar 60 %, hidroksil sebesar 48,57 % dan peroksil sebesar 35,71 % pada penambahan minyak cengkeh minimal 55  $\mu$ L.

#### **4.2 Saran**

Identifikasi minyak cengkeh perlu dilakukan menggunakan spektroskopi  $^1\text{H}$  dan  $^{13}\text{C}$  NMR dan dilakukan isolasi senyawa eugenol untuk uji aktivitasnya sebagai antiradikal bebas.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Irawan, T.A.B., 2010, Peningkatan Mutu Minyak Nilam Dengan Ekstraksi Dan Destilasi Pada Berbagai Komposisi Pelarut, Tesis, Magister Teknik Kimia, Universitas Diponegoro, Semarang.
- [2] Sumarni, N. B. Aji, dan Solekan, 2008, Pengaruh Volme Air Dan Berat Bahan Pada Penyulingan Minyak Atsiri, Jurnal Teknologi Vol. 1 No. 1.
- [3] Guenther, E., 1950, **The Essential Oils Vol. ID.** Van Nostrand Company Inc. Toronto New York, London.
- [4] Gunawan, A., 2009, **Perbandingan Efek Analgesik antara Parasetamol dengan kombinasi Parasetamol dan Kafein pada Mencit**, <http://eprints.ums.ac.id>. Diakses tanggal 1 September 2012.
- [5] Guenther, E., 2006, **Minyak Atsiri**, Jilid I, penerjemah Ketaren S., Penerbit UI Press, Jakarta.
- [6] Alma, M. H., dkk., 2007, **Chemical Composition and Content of Essential Oil from The Bud of Cultivated Turkish Clove (Syzygium aromaticum L.)**, Bio Resources Vol.2, No.2, pp:265-269.
- [7] Ketaren, S., 1950, **Minyak dan Lemak Pangan**, International Student Edition, Mc Graw Hill Kogakusha Ltd, Tokyo.
- [8] Zam-Zam, M.N., 1993, **Pengaruh Penggilingan dan Lama Penyulingan Bunga Cengkeh terhadap Rendemen dan Mutu Minyaknya**, Laporan Kerja Praktek, Akademi Kimia Analis, Bogor.
- [9] Badan Standadisasi Nasional, 2006, **SNI 06-4267-1996 Minyak Cengkeh (Clove oil)**, Jakarta, Hal: 1.
- [10] Davis, M.R., Quiqley, M.N., 1995, **Liquid Chromatographic Determination of UV Absorbers in Sunscreen**, J. Chem. Educ., Vol.72, pp 279.
- [11] Stanfield, J.W., 2003, **Sun Protectants: Enhancing Product Functionality with Sunscreen**, in Schuller, R., Romanowski, P., Eds.,

- Multifunctional Cosmetics**, 145-148, Marcel Dekker Inc., New York.
- [12] Walters, C., Keeney, A., Wigal, C. T., Johnston, C. R., and Cornelius, R. D., 1997, **The Spectrophotometric Analysis and Modeling of Sunscreens**, *J. Chem. Ed.*, Vol 74 (1), pp 99-101.
- [13] Harrison, K., 2007, **Eugenol**, <http://www.3dchem.com>, diakses tanggal 25 September 2012.
- [14] Fessenden, R.J., Fessenden, J.S., 1989, **Kimia Organik, Jilid 2, edisi ketiga**, diterjemahkan oleh: A.H. Pudjaatmaka, Erlangga, Surabaya.
- [15] Asha DS, Deepak G, 2011, **Antioxidant Activities of Methanolic Extracts of Sweet-Flag (*Acorus calamus*) Leaves and Rhizomes**, *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, Vol 17, pp. 1-11.
- [16] Ketaren, S., 1985, **Pengantar Teknologi Minyak Atsiri**, Balai Pustaka, Jakarta. Ketaren, S., 1986, **Pengantar Teknologi Minyak dan Lemak Pangan**, Cetakan Pertama, UI-Press, Jakarta.
- [17] Armando, R., 2009, **Memproduksi 15 Minyak Atsiri Berkualitas**, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- [18] Najiyati, S., dan Danarti, 2003, **Budi Daya dan Penanganan Pascapanen Cengkeh**, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta. Nawar, W.W., 1985, **Lipid, Food Chemistry**, edited by O. R. Fennerma Marcel Dekker, Inc, New York.
- [19] Tjitrosoepomo, G., 2007, **Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta**, UGM Press, Yogyakarta.
- [20] Nurdjannah, N., 2004, **Diversifikasi Tanaman Cengkeh**, *Perspektif*, Vol.3, No.2, Hal: 61 – 70.
- [21] Purseglove, J.W, E B. Brown, C. L green and S. R. J. Robbins, 1981, **Spices**. Vol I. Longman, London and New York.
- [22] Gunawan, D., dan Mulyani, S., 2004, **Ilmu Obat Alam (Farmakognosi) Jilid I**, Penerbit Penebar Swadaya, Jakarta.
- [23] Buck, D. F., 1991, **Antioxidants**. Di dalam J. Smith, editor, *Food Additive User's Handbook*, Blackie Academic & Professional, Glasgow-UK.

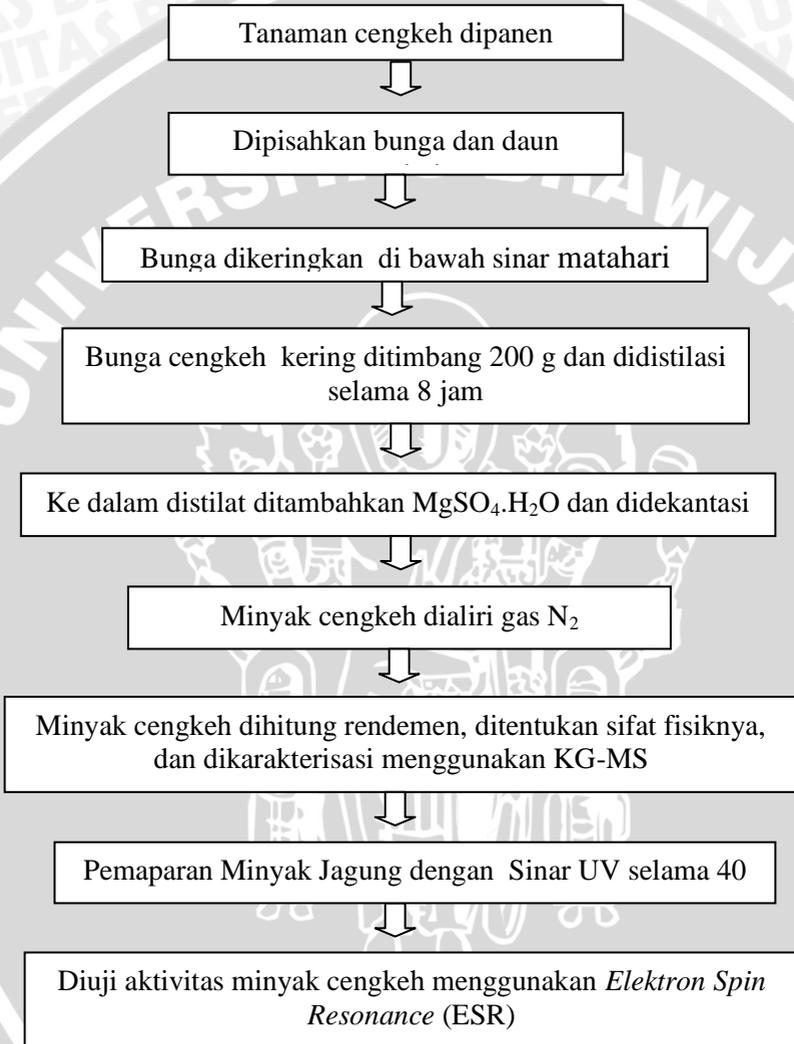
- [24] Gordon, C., 1990, **The Mechanism of Antioxidant activity in vitro**, in Hudson B.J.F. (ed). *Food Antioxidants*, Elsevier Applied Science, London.
- [25] Ingold, K. U., 1962, **Metal Catalysis**, di dalam. Symposium of Food : Lipid and Their Oxidation, The AVI Publishing Co., Westport, Connecticut.
- [26] Chang, R., 2005, **Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti, Jilid I, Edisi Ketiga**, Erlangga, Jakarta.
- [27] Puspita-Nienaber, N. L., Rahayu, W. P., dan Andarwulan, N., 1997, **Sifat Antioksidan dan Antimikroba Rempah-Rempah dan Bumbu Tradisional**, Yogyakarta.
- [28] Dalimartha, S. dan Soedibyo, M., 1999, **Awet Muda Dengan Tumbuhan Obat dan Diet Supleme**, Trubus Agriwidya, Jakarta, hal. 36-40.
- [29] Ohtani, 2000, **New antioxidant from the African medicinal herb Thonginia Sanguinea**, Journal Nat Production, New York.
- [30] Robinson, T., 1995, **Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi**, ITB, Bandung.
- [31] Trilaksani W., 2003, **Antioksidan: jenis, sumber, mekanisme kerja, dan peran terhadap kesehatan**, Sekolah Pascasarjana, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- [32] Boelens, M. H and Boelens, H., 1997, **Differences in chemical and sensory properties of orange flower and rose oil obtained from hydrodistillation and from supercritical CO<sub>2</sub> Extraction**, perfumer & Flavorist, Vol 22, pp 31-35.
- [33] Somantri, A., 2011, **Aplikasi Statistika dalam Penelitian**, CV Pustaka Setia, Bandung.
- [34] Santoso, H.B., 1990, **Bertanam Nilam**, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, hal. 18.
- [35] Guenther, E., 1987, **Minyak Atsiri**, Penerjemah : S. Ketaren, UI Press, Jakarta.
- [36] Belcher, E.F.M., 1965, **The Distillation of Clove Oils. Perfume and Essential Oil Review**, pp148 – 151.
- [37] Nurdjannah, N dan T Hidayat, 1994, **Pengaruh Cara dan Waktu Penyulingan terhadap Mutu Minyak**

- Bunga Cengkeh**, Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat, Vol.IX, No.2.
- [38] Agusta, A., 2000, **Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia**. Penerbit Institut Teknologi Bandung, Hal. 101, Bandung.
- [39] Sastrohamidjojo, H., 2004, **Kimia Minyak Atsiri**, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- [40] Atkins, 1999, **Kimia Fisika**, Erlangga, Jakarta.
- [41] Christeensen, and A. Hamnet, 1997, **Techniques and Mechanism As In Electro Chemistry First Edition**, Blckie academic and professional, Glasgow, US.
- [42] Beiser, A., 1987, **Konsep Fisika Modern Edisi Keempat**, Erlangga, Jakarta.
- [43] Yarif, A. ,1992, **Theory and Application of Quantum Mechanic.c**. John Wiley and Sons.
- [44] Soedoyo, P., 1992, **Azaz-azaz Ilmu Fisika**, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- [45] Reitz, R. John, Milford, J., Frederick, Christy, W. Robert, 1993, **Dasar Teori Listrik Magnet edisi ketiga**, ITB, Bandung.
- [46] Markham, K.R. 1988. **Cara Mengidentifikasi Flavonoid**, ITB, Bandung.
- [47] Hayani, E., 2007, **Pemisahan Komponen Rimpang Temu Kunci Secara Kromatografi Kolom**, Buletin Teknik Pertanian Vol. 12 No. 1.
- [48] Nadliroh, K., 2012, **Efek Penambahan Rempah-rempah Pada Berbagai Jenis Minyak Goreng Jelantah Sebagai Penurun Kadar Radikal Bebas Dengan Metode Resonansi Spin Elektron**, Skripsi Jurusan Fisika, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang.
- [49] Firdaus, M.P., 2011, **Pengaruh Waktu Penampungan Distilat Terhadap Kadar Sitronelal Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* dc.) dan Toksisitasnya Terhadap Udang Laut *Artemia salina***, Skripsi, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.

- [50] Salim, F, 1975, **Pengaruh pelayuan dan pengeringan terhadap sifat fisika kimia cengkeh**, Tesis S1, FATETA, IPB.
- [51] Astuti, N. Y., 2009, **Uji Aktivitas Penangkap Radikal DPPH oleh Analog Kurkumin Monoketon dan n-Heteroalifatik Monoketon**, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- [52] Fessenden R.J dan J.S. Fessenden, 2002, **Dasar-dasar Kimia Organik**, Binarupa Aksara Publisher, Tangerang.
- [53] Sukandar, D., N. Radiastuti, Khoeriyah, 2010, **Karakterisasi Senyawa Aktif Anti Bakteri Minyak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)**, JKTI, Vol. 12, No. 1.
- [54] Guan W., Li S., Yan R., Tang S., Quan C., 2007, **Comparison of Essential Oil of Clove Bud Extracted with Supercritical Carbon Dioxide and Other Three Traditional Extraction Method**, *Food. Chem.*, Vol. 101, pp 1558-1564.
- [55] Guenther, E., 2011, **Minyak Atsiri**, Ketaren (penerjemah), UI Press, Jakarta.

## LAMPIRAN

### 1 Diagram Alir Tahapan Penelitian



## 1.1 Preparasi $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

Kristal  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$

- Ditimbang sebanyak 50 g
- Dimasukkan kedalam mortar
- Digerus
- Dipindahkan ke dalam cawan porselen
- Dipanaskan dalam oven pada temperatur  $120^\circ\text{C}$
- Dimasukkan kedalam desikator
- Ditimbang massanya
- Diulangi hingga berat konstan
- Disimpan dalam wadah tertutup
- Dihitung kapasitas hidratnya

$\text{MgSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$

## 1.2 Isolasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh

Bunga Cengkeh Kering

- Ditimbang sebanyak 200 g
- Dimasukkan kedalam labu distilasi
- Dirangkai pada seperangkat alat distilasi
- Dinyalakan pompa dan pemanas
- Didistilasi selama 8 jam
- Dipisahkan fasa organik dan fasa air
- Ditampung fasa organik dalam botol penampung

Fasa organik

- Dipindahkan dalam gelas kimia tertutup aluminium foil
- Ditambahkan  $\text{MgSO}_4$  anhidrat sedikit demi sedikit dan diaduk perlahan
- Diulangi hingga endapan  $\text{MgSO}_4$  tidak menggumpal
- Didekantasi
- Disentrifugasi
- Dimasukkan dalam botol vial kering

Minyak cengkeh bebas air

- Diletakkan dibawah selang gas N<sub>2</sub>
- Kran gas N<sub>2</sub> dibuka
- Dipaparkan selama 1 menit
- Ditutup botol vial dengan penutup putar
- Disimpan dalam lemari pendingin

Minyak bunga cengkeh

### 1.3 Karakterisasi berdasarkan sifat fisik minyak bunga cengkeh hasil distilasi uap

Minyak bunga cengkeh

- Diamati warna dan baunya
- Dimasukkan kedalam piknometer 2mL dan ditimbang
- Ditetskan di atas kaca sampel pada refraktometer
- Ditutup dan diamati indeks biasnya

Warna, bau, berat jenis, dan indeks bias

### 1.4 Karakterisasi komponen minyak bunga cengkeh menggunakan KG-SM

Minyak bunga cengkeh

- Dipipet sebanyak 0,05  $\mu$ L dengan menggunakan pipet mikro
- Diinjeksikan ke dalam tempat sampel KG-SM

TIC dan spektrum massa komponen penyusun minyak bunga cengkeh

### 1.5 Pembuatan radikal bebas dari minyak jagung

Minyak jagung sebanyak 25mL

- Dituang ke dalam cawan gelas
- Dimasukkan dalam kompartmen UV
- Diradiasi selama 40 menit dengan Sinar UV dengan panjang gelombang 254nm

- Diukur Intensitas radiasi menggunakan luxmeter
- Dihitung flux, dan energi radiasi
- Diuji keberadaan radikal bebas sebelum dan sesudah radiasi

Minyak jagung setelah diradiasi

## 1.6 Uji aktivitas antiradikal pada minyak cengkeh menggunakan ESR

ESR

- Dikalibrasi dengan DPPH

ESR siap digunakan

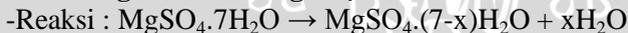
Minyak Jagung Hasil Radiasi

- Dipipet sebanyak 5ml
- Dimasukkan ke dalam 5 tabung Durham
- Ditambahkan minyak cengkeh 45, 50, 55, 60, 65  $\mu\text{L}$  ke dalam masing-masing tabung
- Ditutup tabung
- Diukur menggunakan ESR
- Dihitung faktor g dan luas area resonansi

Nilai  $\nu$  dan arus tiap jenis radikal dan kurva resonansi masing-masing radikal

## 2 Perhitungan

### 2.1 Perhitungan Hidrat $\text{MgSO}_4$



$$\text{-Massa } \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 48,44 \text{ g}$$

$$\text{-Massa } \text{MgSO}_4 \cdot (7-x)\text{H}_2\text{O} = 28,30 \text{ g}$$

$$\text{-Massa } x\text{H}_2\text{O} = \text{massa } (\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - \text{MgSO}_4 \cdot (7-x)\text{H}_2\text{O}) \\ = 48,44 \text{ g} - 28,30 \text{ g} = 20,14 \text{ g}$$

$$\text{-Mr } \text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 246 \text{ g/mol}$$

$$\text{-Mr } x\text{H}_2\text{O} = x \cdot 18 \text{ g/mol}$$

$$\chi = \frac{\text{mol H}_2\text{O}}{\text{mol MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}$$

$$\begin{aligned}
&= \frac{m \text{ H}_2\text{O} / Mr \text{ H}_2\text{O}}{m \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} / Mr \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}} \\
&= \frac{m \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - m \text{ MgSO}_4 \cdot (7-x)\text{H}_2\text{O} / Mr \text{ H}_2\text{O}}{m \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} / Mr \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}} \\
&= \frac{Mr \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}{Mr \text{ H}_2\text{O}} \left( \frac{m \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - m \text{ MgSO}_4 \cdot (7-x)\text{H}_2\text{O}}{m \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}} \right) \\
&= \frac{Mr \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}}{Mr \text{ H}_2\text{O}} \left( 1 - \frac{m \text{ MgSO}_4 \cdot (7-x)\text{H}_2\text{O}}{m \text{ MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}} \right) \\
&= \frac{246 \text{ g/mol}}{18 \text{ g/mol}} \left( 1 - \frac{28,30 \text{ g}}{48,44 \text{ g}} \right) \\
&= 5,682 \approx 6
\end{aligned}$$

## 2.2 Perhitungan Rendemen

-Massa minyak cengkeh yang diperoleh = 17,27 g

- Massa sampel bunga cengkeh kering = 200 g

$$\text{-Rendemen} = \frac{W_{\text{minyak}}}{W_{\text{sampel}}} \times 100\%$$

$W_{\text{minyak}}$  = berat minyak atsiri yang diperoleh

$W_{\text{sampel}}$  = berat sampel bunga cengkeh kering yang didistilasi

$$\text{-Rendemen minyak} = \frac{17,27 \text{ g}}{200 \text{ g}} \times 100\% = 8,6 \%$$

## 2.3 Perhitungan Berat jenis

Massa piknometer ( $m_1$ ) = 8,00 g

Massa piknometer + air ( $m_2$ ) = 10,47 g

Massa minyak cengkeh ( $m_3$ ) = (2,61 g + 2,61 g + 2,60 g) / 3  
= 2,6067 g

$$\text{Berat jenis} = \frac{m_3}{m_2 - m_1} = \frac{2,6067 \text{ g}}{(10,47 - 8,00) \text{ mL}} = 1,0553 \text{ g/mL}$$

Perhitungan berat jenis dengan faktor koreksi menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\rho = \rho' + k (T' - T)$$

dimana,

$\rho$  = 1,04-1,07, indeks bias minyak atsiri bunga

cengkeh pada  $T = 15^\circ\text{C}$  menurut SNI 06-4267-1996

$\rho'$  = berat jenis minyak atsiri bunga cengkeh pada  $T = 28^\circ\text{C}$

$k$  = 0,00085, faktor koreksi indeks bias minyak atsiri bunga cengkeh tiap derajat [Guenther, 2011]

$T' = 28^{\circ}\text{C}$ , temperatur pengukuran saat pengerjaan  
 $T = 15^{\circ}\text{C}$ , temperatur pengukuran menurut SNI 06-4267-1996

$$\begin{aligned}\rho &= \rho' + 0,00085(T' - T) \\ &= 1,0553 \text{ g/mL} + 0,00085 (28^{\circ}\text{C} - 15^{\circ}\text{C}) \\ &= 1,06635\end{aligned}$$

## 2.4 Perhitungan Indeks Bias

$$n = n' + k (T' - T)$$

dimana,

$n = 1,529-1,537$ , indeks bias minyak atsiri bunga cengkeh pada  $T = 20^{\circ}\text{C}$  menurut SNI 06-4267-1996

$n' =$  indeks bias minyak atsiri bunga cengkeh pada  $T = 28^{\circ}\text{C} = 1,532$

$k = 0,00045$ , faktor koreksi indeks bias minyak atsiri bunga cengkeh tiap derajat [Guenther, 2011]

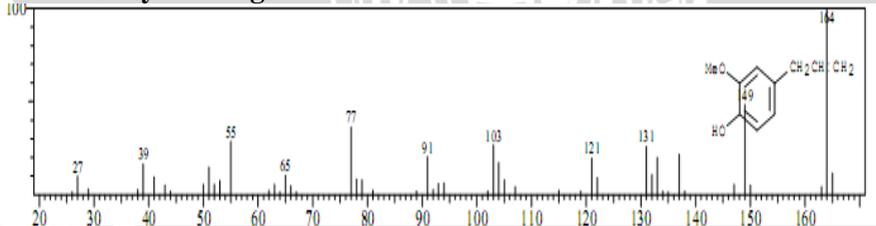
$T' = 28^{\circ}\text{C}$ , temperatur pengukuran saat pengerjaan

$T = 20^{\circ}\text{C}$ , temperatur pengukuran menurut SNI 06-4267-1996

$$\begin{aligned}n &= n' + 0,00045 (T' - T) \\ &= 1,532 + 0,00045 (28 - 20)^{\circ}\text{C} \\ &= 1,5356\end{aligned}$$

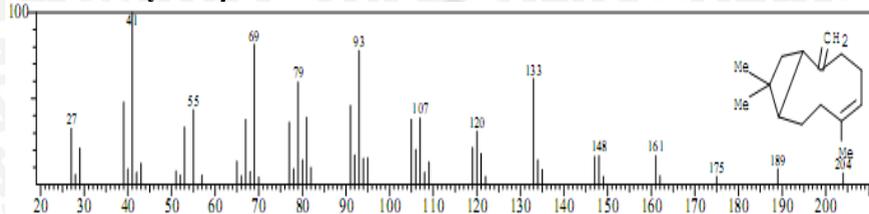
## 3 Spektrum Massa Senyawa Hasil KG-SM dari Pustaka WILEY7.LIB

### 3.1 Senyawa Eugenol



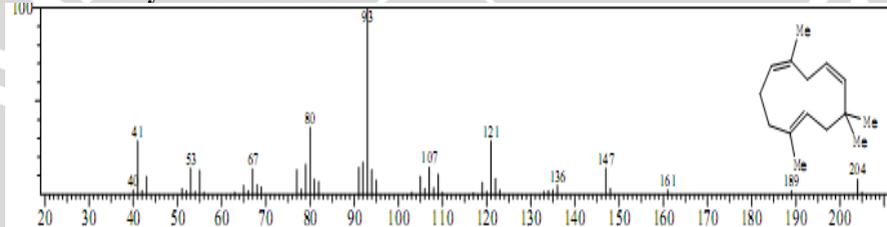
Berat molekul : 164  
Rumus molekul :  $\text{C}_{10}\text{H}_{12}\text{O}_2$   
Nama komponen : Eugenol  
Pustaka : WILEY7.LIB

### 3.2 Senyawa $\beta$ -kariofilen



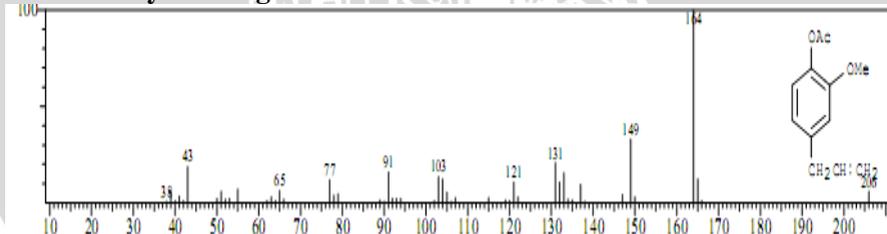
Berat molekul : 204  
Rumus molekul : C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>  
Nama komponen :  $\beta$ -kariofilen  
Pustaka : WILEY7.LIB

### 3.3 Senyawa $\alpha$ -humulen



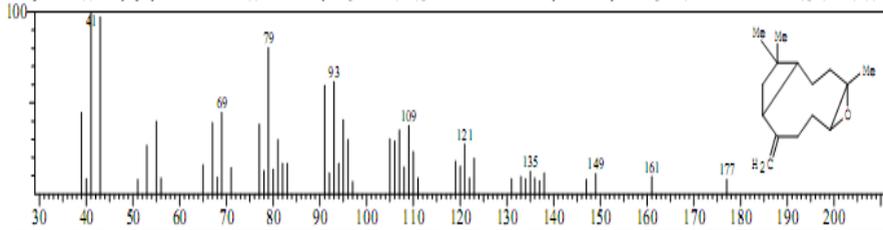
Berat molekul : 204  
Rumus molekul : C<sub>15</sub>H<sub>24</sub>  
Nama komponen :  $\alpha$ -humulen  
Pustaka : WILEY7.LIB

### 3.4 Senyawa Eugenil asetat



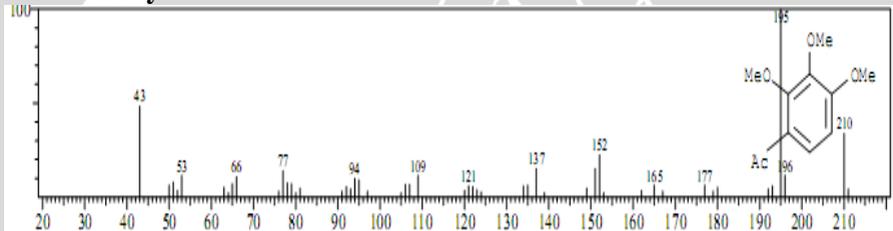
Berat molekul : 206  
Rumus molekul : C<sub>12</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>  
Nama komponen : eugenil asetat  
Pustaka : WILEY7.LIB

### 3.5 Senyawa Kariofilen oksida



Berat molekul : 220  
Rumus molekul :  $C_{15}H_{24}O$   
Nama komponen : kariofilen oksida  
Pustaka : WILEY7.LIB

### 3.6 Senyawa Trimetoksi asetofenon

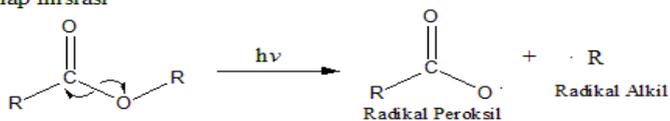


Berat molekul : 210  
Rumus molekul :  $C_{11}H_{14}O_4$   
Nama komponen : trimetoksi asetofenon  
Pustaka : WILEY7.LIB

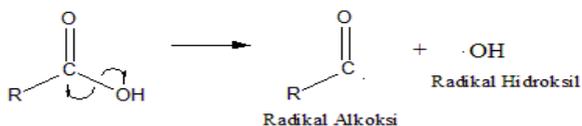
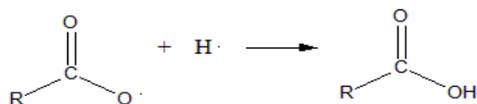
## 4 Data Penelitian

### 4.1 Mekanisme Pembentukan Radikal Bebas Minyak Jagung

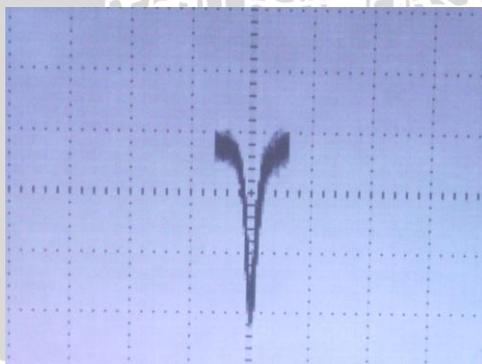
Tahap Inisiasi



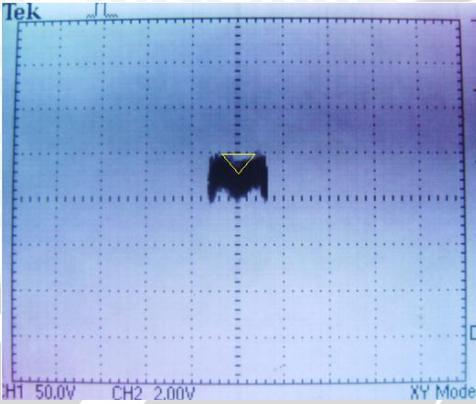
Tahap Propagasi



### 4.2 Kalibrasi menggunakan DPPH

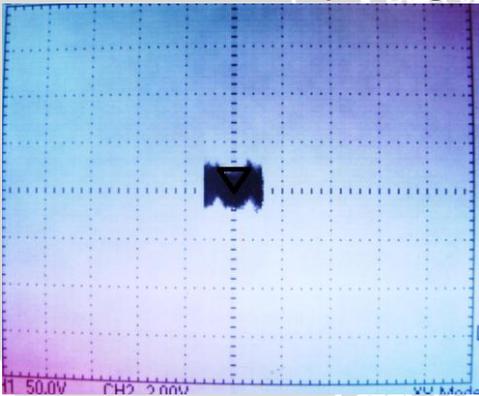


### 4.3 Luas Kurva Resonansi Radikal Alkil pada Minyak Jagung radiasi 40 menit



$$\begin{aligned} \text{luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,5 \\ &= 0,15 \end{aligned}$$

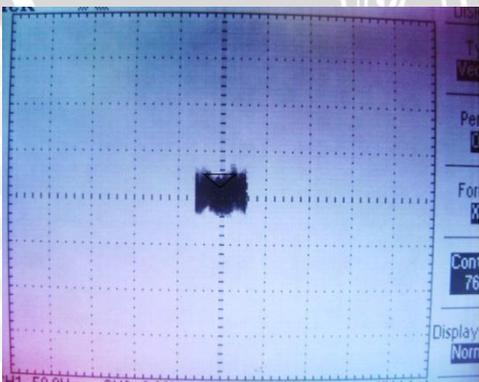
#### 4.3.1 Luas Kurva Resonansi Radikal Alkil Setelah Penambahan Minyak Cengkeh



Volume penambahan minyak cengkeh = 45  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,4 \times 0,5 \\ &= 0,10 \end{aligned}$$

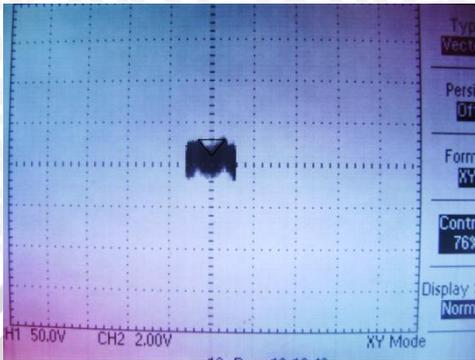
$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,15 - 0,10}{0,15} \times 100\% \\ &= 33,33\% \end{aligned}$$



Volume penambahan minyak cengkeh = 50  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,4 \times 0,4 \\ &= 0,08 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,15 - 0,08}{0,15} \times 100\% \\ &= 46,67\% \end{aligned}$$

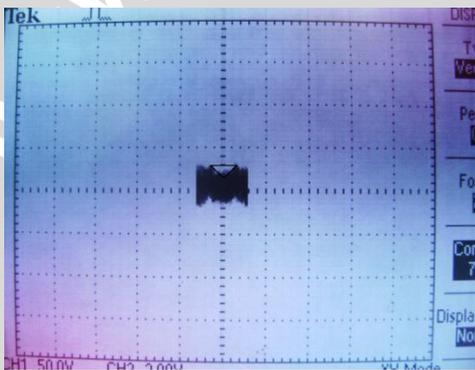


Volume penambahan  
minyak cengkeh = 55  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,4 \times 0,3 \\ &= 0,06 \end{aligned}$$

Penurunan

$$\begin{aligned} &= \frac{0,15 - 0,06}{0,15} \times 100\% \\ &= 60\% \end{aligned}$$

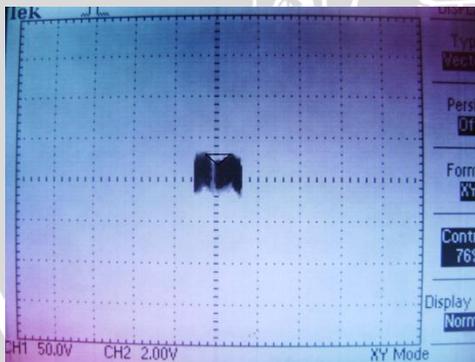


Volume penambahan  
minyak cengkeh = 60  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,4 \times 0,3 \\ &= 0,06 \end{aligned}$$

Penurunan

$$\begin{aligned} &= \frac{0,15 - 0,06}{0,15} \times 100\% \\ &= 60\% \end{aligned}$$

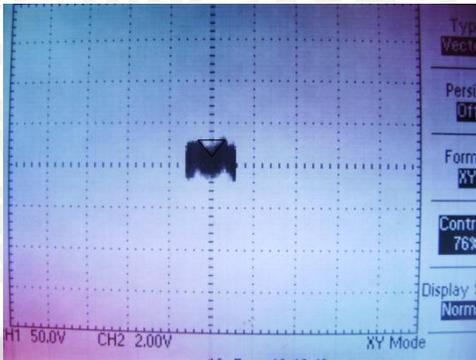


Volume penambahan  
minyak cengkeh = 65  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,4 \times 0,3 \\ &= 0,06 \end{aligned}$$

Penurunan

$$\begin{aligned} &= \frac{0,15 - 0,06}{0,15} \times 100\% \\ &= 60\% \end{aligned}$$



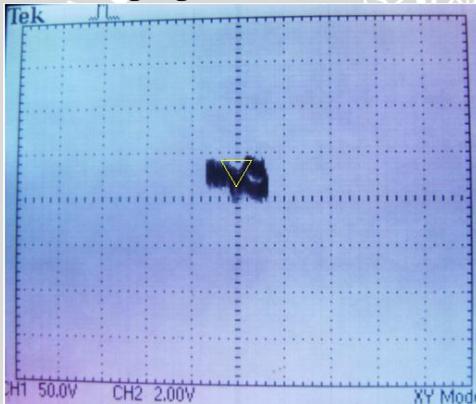
Penambahan Eugenol =  
55  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,4 \times 0,3 \\ &= 0,06 \end{aligned}$$

Penurunan

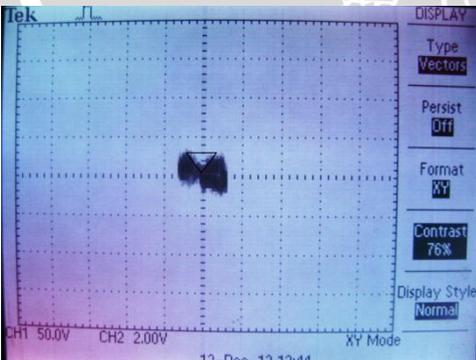
$$\begin{aligned} &= \frac{0,15 - 0,06}{0,15} \times 100\% \\ &= 60\% \end{aligned}$$

#### 4.4 Luas Kurva Resonansi Radikal Hidroksil pada Minyak Jagung radiasi 40 menit



$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,7 \times 0,5 \\ &= 0,175 \end{aligned}$$

##### 4.4.1 Luas Kurva Resonansi Radikal Hidroksil setelah Penambahan Minyak Cengkeh



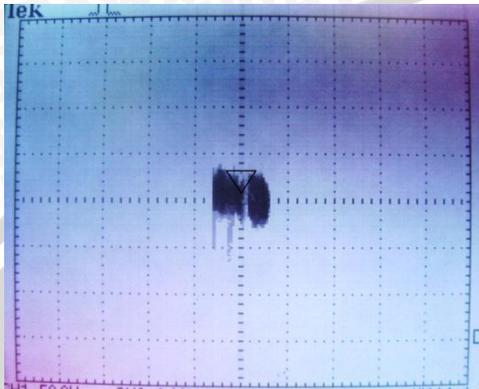
Volume penambahan minyak cengkeh = 45  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,5 \\ &= 0,15 \end{aligned}$$

Penurunan

$$\begin{aligned} &= \frac{0,175 - 0,15}{0,175} \times 100\% \end{aligned}$$

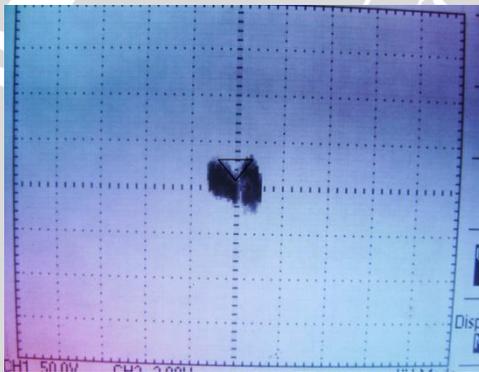
=14,29%



Volume penambahan  
minyak cengkeh = 50  $\mu$ L

$$\begin{aligned}\text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,4 \\ &= 0,12\end{aligned}$$

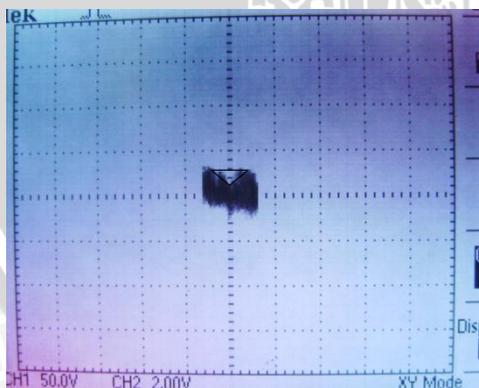
$$\begin{aligned}\text{Penurunan} &= \frac{0,175 - 0,12}{0,175} \times 100\% \\ &= 31,43\%\end{aligned}$$



Volume penambahan  
minyak cengkeh = 55  $\mu$ L

$$\begin{aligned}\text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,3 \\ &= 0,09\end{aligned}$$

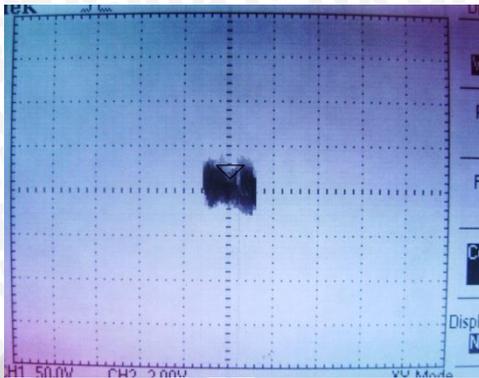
$$\begin{aligned}\text{Penurunan} &= \frac{0,175 - 0,09}{0,175} \times 100\% \\ &= 48,57\%\end{aligned}$$



Volume penambahan  
minyak cengkeh = 60  $\mu$ L

$$\begin{aligned}\text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,3 \\ &= 0,09\end{aligned}$$

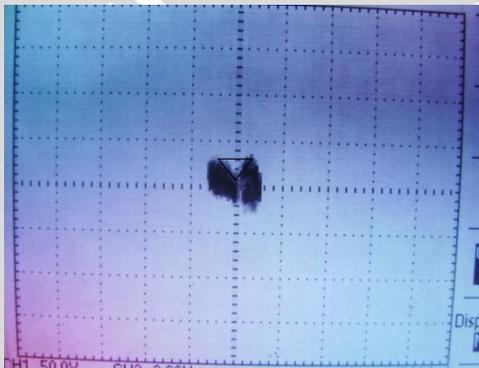
$$\begin{aligned}\text{Penurunan} &= \frac{0,175 - 0,09}{0,175} \times 100\% \\ &= 48,57\%\end{aligned}$$



Volume penambahan minyak cengkeh = 65  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,3 \\ &= 0,09 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,175 - 0,09}{0,175} \times 100\% \\ &= 48,57\% \end{aligned}$$

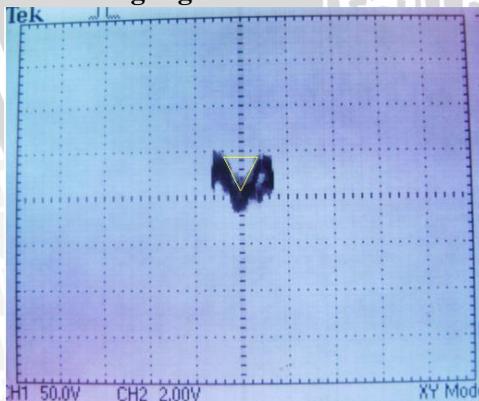


Penambahan Eugenol = 55  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,3 \\ &= 0,09 \end{aligned}$$

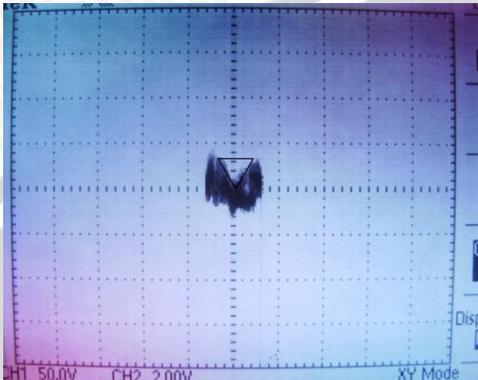
$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,175 - 0,09}{0,175} \times 100\% \\ &= 48,57\% \end{aligned}$$

#### 4.5 Luas Kurva Resonansi Radikal Peroksil pada Minyak Jagung radiasi 40 menit



$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,8 \times 0,7 \\ &= 0,28 \end{aligned}$$

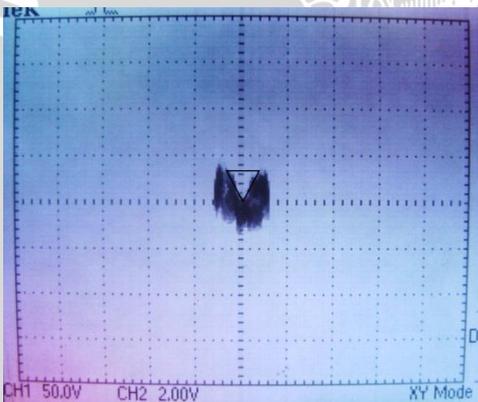
#### 4.5.1 Luas Kurva Resonansi Radikal Peroksil setelah Penambahan Minyak Cengkeh



Volume penambahan minyak cengkeh = 45  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,8 \\ &= 0,24 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,28 - 0,24}{0,28} \times 100\% \\ &= 16,67\% \end{aligned}$$



Volume penambahan minyak cengkeh = 50  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,7 \\ &= 0,21 \end{aligned}$$

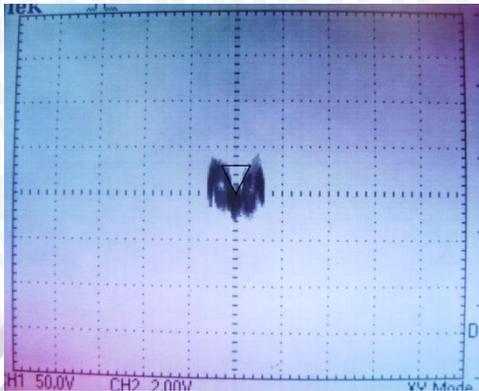
$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,28 - 0,21}{0,28} \times 100\% \\ &= 25\% \end{aligned}$$



Volume penambahan minyak cengkeh = 55  $\mu$ L

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,6 \\ &= 0,18 \end{aligned}$$

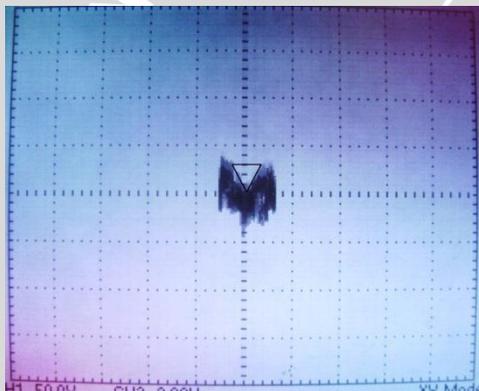
$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,28 - 0,18}{0,28} \times 100\% \\ &= 35,71\% \end{aligned}$$



Volume penambahan  
minyak cengkeh = 60  $\mu\text{L}$

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,6 \\ &= 0,18 \end{aligned}$$

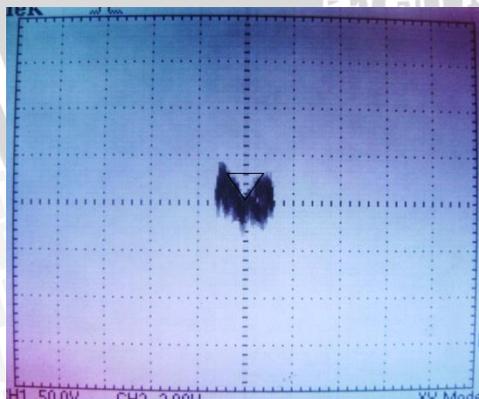
$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,28 - 0,18}{0,28} \times 100\% \\ &= 35,71\% \end{aligned}$$



Volume penambahan  
minyak cengkeh = 65  $\mu\text{L}$

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,6 \\ &= 0,18 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,28 - 0,18}{0,28} \times 100\% \\ &= 35,71\% \end{aligned}$$



Penambahan Eugenol =  
55  $\mu\text{L}$

$$\begin{aligned} \text{Luas} &= \frac{1}{2} \times a \times t \\ &= \frac{1}{2} \times 0,6 \times 0,6 \\ &= 0,18 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Penurunan} &= \frac{0,28 - 0,18}{0,28} \times 100\% \\ &= 35,71\% \end{aligned}$$

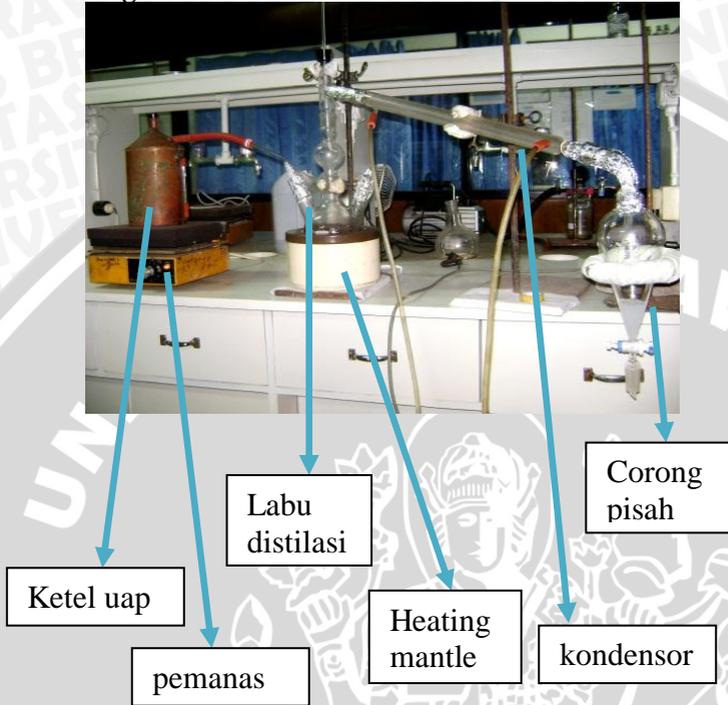
**5 Dokumentasi Penelitian**  
**5.1 Tanaman Cengkeh**



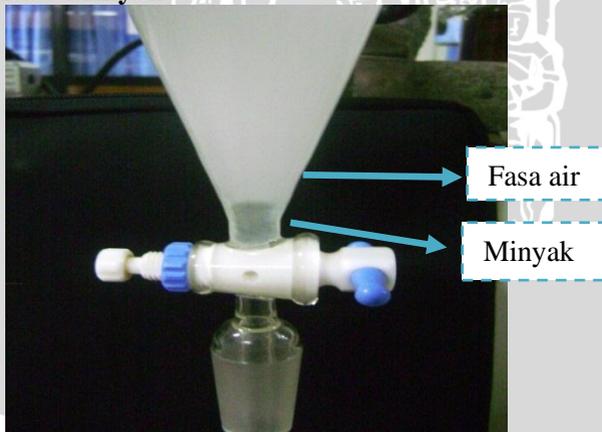
**5.2 Sampel Bunga Cengkeh Kering**



### 5.3 Rangkaian Alat Distilasi



### 5.4 Distilat + Minyak



### 5.5 Minyak Cengkeh Hasil Distilasi Uap



### 5.6 Preparasi $MgSO_4 \cdot H_2O$



### 5.7 Preparasi Radiasi Minyak Jagung

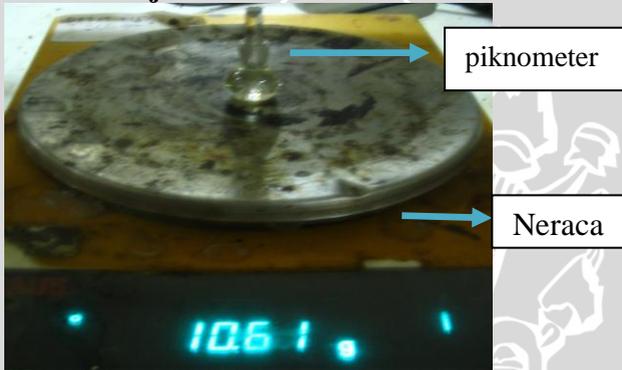


Cawan gelas

5.8 Pengukuran indeks bias



5.9 Penentuan berat jenis



piknometer

Neraca

## 5.10 Determinasi Tanaman Cengkeh



LABORATORIUM TAKSONOMI, STRUKTUR DAN  
PERKEMBANGAN TUMBUHAN  
JURUSAN BIOLOGI, FAKULTAS MIPA  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
JALAN VETERAN, MALANG 65145  
Telepon/faks: 0341-575841

### KETERANGAN IDENTIFIKASI

No. 0059/Takso Identifikasi/03/2012

Kepala Laboratorium Taksonomi, Struktur dan Perkembangan Tumbuhan, Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, menerangkan bahwa spesimen yang dibawa oleh:

Nama : Henny Prianto (NIM. 0910920043)  
Instansi : Jurusan Kimia, FMIPA, Universitas Brawijaya

Berdasarkan deskripsi karakter dan kunci identifikasi pada Flora of Java (Backer dan Van den Brink, 1968), volume I, halaman 342, diidentifikasi sebagai:

Familia : Myrtaceae  
Genus : *Syzygium aromaticum*  
Species : *Syzygium aromaticum* (L.) Merril & Perry

Demikian surat keterangan identifikasi ini dibuat untuk digunakan seperlunya.

Malang, 21 September 2012

Kepala Laboratorium  
Taksonomi, Struktur dan  
Perkembangan Tumbuhan,

LABORATORIUM  
TAKSONOMI  
Saeffinah Indriyani, M.Si.  
NIP. 19630909 198802 2 001