

Ekstraksi Minyak Atsiri Dari Daun *Eucalyptus grandis* Menggunakan Isolat Enzim Selulase

Muhammad Yunus Salam

¹Fakultas Pertanian, ²Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara

mhdyunus@gmail.com

Abstrak

Penelitian ekstraksi minyak atsiri dari daun *Eucalyptus grandis* menggunakan isolat enzim Selulase dari bekicot *Achatina fulica* telah dilakukan untuk mendapatkan metode yang sesuai dengan minyak atsiri yang mudah menguap. Penelitian ini menggunakan metode Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan dua faktorial. Faktor I adalah Temperatur (T) yang terdiri dari 4 perlakuan yaitu $T_1 = 55^\circ\text{C}$, $T_2 = 60^\circ\text{C}$, $T_3 = 65^\circ\text{C}$, $T_4 = 70^\circ\text{C}$. Faktor II adalah Konsentrasi Enzim Selulase (K) yang terdiri dari 4 perlakuan yaitu $K_1 = 1\%$, $K_2 = 2\%$, $K_3 = 3\%$, $K_4 = 4\%$. Parameter yang diamati yaitu Rendemen, Bobot Jenis, Indeks Bias, dan Aroma. Dari hasil analisis statistik pada setiap parameter : Temperatur memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap nilai rendemen, bobot jenis, indeks bias dan aroma. Konsentrasi Enzim memberikan pengaruh yang berbeda berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap nilai rendemen, bobot jenis, indeks bias dan aroma.

Kata Kunci: Daun *Eucalyptus Grandis*, Enzim Selulase, Inkubator, Gelas Ukur

1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara terbesar yang terkenal dengan kekayaan alamnya khususnya pada keanekaragaman hayati. Salah satu adalah tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat yang sudah digunakan oleh masyarakat Indonesia. Kurang lebih tercatat 30.000 spesies tanaman tingkat tinggi. Hingga saat ini 7000 spesies tanaman telah diketahui khasiatnya yang di gunakan sebagai bahan baku dalam industri farmasi, pangan dan industri lainnya (Setianingsih, S 2017).

Tanaman *Eucalyptus* termasuk Famili Myrtaceae, genus *Eucalyptus* dengan spesies *Eucalyptus* spp. Spesies-spesies yang sudah dikenal umum antara lain, *Eucalyptus alba* (ampupu), *Eucalyptus deglupta*, *Eucalyptus grandis*, *Eucalyptus plathyphylla*, *Eucalyptus saligna*, *Eucalyptus umbellate*, *Eucalyptus camadulensis*, *Eucalyptus pellita*, *Eucalyptus tereticornis*, *Eucalyptus torreliana*. *Eucalyptus grandis* sendiri banyak tumbuh diwilayah indonesia khususnya sumatra utara dan di Riau yang luasnya berkisaran 820.000 ha, hal ini memiliki potensi yang besar dengan ketersediaan bahan baku yang besar (Khaeruddin, 1999).

Ekstraksi daun *Eucalyptus* merupakan salah satu usaha dalam memisahkan minyak atsiri dari tanaman atau bagian tanaman asal. Minyak atsiri dalam tanaman terdapat pada bagian dalam rambut kelenjar dan sel kelenjar. Bila tanaman itu tetap utuh, minyak atsiri tetap berada dalam kelenjar pada batang tanaman sehingga sukar untuk dipisahkan. Minyak atsiri hanya dapat dipisahkan dari sel tanaman bila ada uap air atau pelarut lain yang sampai ke tempat minyak tersebut, yang selanjutnya akan membawa butir-butir minyak menguap secara bersamaan. Agar minyak atsiri itu lebih cepat kontak dengan pelarut maka bagian-bagian tanaman harus dipotong-potong (Koensoemardiyah, 2010).

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

Proses ekstraksi untuk memperoleh minyak atsiri pada kembang lesan dilakukan dengan destilasi air *Stahl*. Kelebihan dari destilasi air adalah prinsip kerja sederhana karena bahan uji direndam dengan air dan didihkan sampai titik didihnya. Hasil destilasi minyak atsiri kembang lesan diperoleh sebanyak 15 ml dari 2 kg kembang lesan basah yang didestilasi selama 5 jam. Sehingga diperoleh kadar minyak atsiri dari kembang lesan sebesar 0.75% (v/b).

Ekstraksi enzimatis pada prinsipnya sama dengan ekstraksi konvensional. Hanya saja disini digunakan enzim yang berfungsi mengambil zat yang akan diekstrak. Dengan demikian tidak diperlukan lagi pelarut khusus (solvent) dalam proses ekstraksi. Pelarut yang biasanya ditambahkan dalam ekstraksi enzimatis adalah air. Cara ekstraksi enzimatis ini memiliki beberapa keunggulan jika dibandingkan dengan ekstraksi konvensional, diantaranya ekstraksi tidak menggunakan *solvent* organik, sehingga dampaknya terhadap lingkungan minimal, produk yang dihasilkan aman untuk konsumsi manusia karena tidak mengandung bahan kimia dan Kualitas produk yang dihasilkan lebih tinggi (Hartati, I, 2010).

Husain Nashrianto (2013) telah melaporkan hasil penelitian dalam pemanfaatan enzim *pektinase* terlihat pada hari ketiga dan semakin tinggi konsentrasi enzim *pektinase* yang digunakan untuk ekstraksi maka hasil (rendemen) minyak atsiri semakin besar. Hasil analisis minyak atsiri yaitu bunga kantil dengan berat jenis 0,825 gram/ml, indeks bias 1,494, putaran optik 50, bilangan asam 12,23 ; bunga kenanga dengan berat jenis 0,917 gram/ml, indeks bias 1,494, putaran optik -27, bilangan asam 1,12 ; bunga mawar dengan berat jenis 0,889 gram/ml, indeks bias 1,505, putaran optik 81, bilangan asam 6,73 ; dan bunga melati dengan berat jenis 0,960 gram/ml, indeks bias 1,489, putaran optik 47, bilangan asam 12,903.

Debrah and Ohta (1997) telah melaporkan bahwa untuk mengekstrak minyak kelapa dengan konsentrasi protease netral dari *Aspergillus oryzae* sebanyak 1% diperoleh minyak dengan rendemen minyak yang baik. Chen ;⁵ Diosady (2003) mengekstrak minyak kelapa menggunakan enzim kompleks dengan konsentrasi di bawah 2% menghasilkan rendemen minyak yang optimal dengan intensitas warna yang baik dan kadar air yang rendah.

Menurut penelitian Oktavia (2014), karakteristik enzim kasar *Selulase* kapang endofit dari lamun diperoleh nilai pH dan suhu optimum kerja enzim *Selulase* yaitu pH 7 dan suhu 60 °C. karakterisasi enzim *Selulase* yang dihasilkan oleh *Lactobacillus planatarum* diperoleh L. *planatarum* menghasilkan enzim *Selulase* pada suhu optimum 65 °C dengan aktivitas *Selulase* 0,052 U/mL, optimum pada pH 7 (netral) dengan aktivitas *Selulase* 0,054 U/mL (Putri, 2016).

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

2. METODE

Metode Penelitian

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

Faktor I : pengaruh temperatur (T) yang terdiri dari empat taraf yaitu :

- T1 = 50 °c
- T2 = 60 °c
- T3 = 70 °c
- T4 = 80 °c

Faktor II : Pengaruh konsentrasi enzim (K) yang terdiri dari empat taraf yaitu :

- K1= 1 %
- K2= 2 %
- K3= 3 %
- K4= 4 %

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

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

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

$$16 n \geq 31$$

$$n \geq 1,94.....di bulatkan menjadi 2$$

untuk memperoleh kelipatan di lakukan lipatan sebanyak 2 kali

Model Rancangan Percobaan

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

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

Dimana :

\check{Y}_{ijk} : Pengamatan dari faktor L dari taraf ke-i dan faktor A pada taraf ke-j dengan ulangan ke-k.

μ : Efek nilai tengah

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

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

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

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

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Data-rata hasil pengamatan pengaruh temperatur dan konsentrasi enzim terhadap masing-masing parameter dapat diketahui pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 3. Pengaruh Temperatur terhadap Parameter Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Temperatur	Rendemen (%)	Bobot Jenis (g/ml)	Indeks Bias (m/s)	Aroma
T ₁ = 55 °C	0,187	0,853	1,258	3,263
T ₂ = 60 °C	0,197	0,854	1,266	3,375
T ₃ = 65 °C	0,261	0,875	1,352	3,450
T ₄ = 70 °C	0,190	0,898	1,362	3,550

Tabel 1 diatas menunjukkan bahwa semakin tinggi temperatur, maka bobot jenis, indeks bias, dan aroma akan semakin meningkat sedangkan pada rendemen akan berfluktuatif. Rata-rata hasil pengamatan pengaruh waktu maserasi terhadap parameter dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Pengaruh Konsentrasi Enzim terhadap Parameter Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Konsentrasi Enzim	Rendemen (%)	Bobot Jenis (g/ml)	Indeks Bias (m/s)	Aroma
K ₁ = 1%	0,206	0,865	1,3125	3,263
K ₂ = 2%	0,207	0,869	1,3104	3,363
K ₃ = 3%	0,213	0,872	1,3084	3,425
K ₄ = 4%	0,254	0,875	1,3068	3,488

Tabel 2 diatas dapat menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi enzim, maka rendemen, bobot jenis, aroma semakin meningkat. Sedangkan indeks bias menunjukkan penurunan seiring bertambahnya konsentrasi enzim. Hasil uji statistik dan pembahasan dari pengaruh temperatur dan konsentrasi enzim terhadap parameter yang diamati dapat dilihat secara terperinci dibawah ini :

Rendemen

Pengaruh Temperatur

Berdasarkan daftar sidik ragam bahwa temperatur memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter rendemen. Berdasarkan grafik pengaruh temperatur terhadap rendemen minyak atsiri dari daun *eucalyptus grandis* dapat diketahui bahwa rendemen yang dihasilkan dari perlakuan temperatur 55 °C sampai ke perlakuan 65 °C mengalami peningkatan dan pada suhu 70 °C mengalami penurunan. Pada temperatur 55 °C rendemen berada pada titik 0,187 % kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada temperatur 65 °C menjadi 0,261 %, sedangkan pada temperatur 70 °C berada pada titik 0,190 % . Hal ini menunjukkan bahwa nilai rendemen yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,187 % sampai 0,261 % dan rata-ratanya yaitu 0,208 %.

Grafik menunjukkan bahwa hasil terendah berada pada perlakuan temperatur 55 °C. Hal ini disebabkan karena perlakuan temperatur 55 °C merupakan perlakuan awal dimana enzim *Selulase* belum dapat aktif dengan optimal. Akibatnya, pemecahan sel – sel daun oleh enzim tidak berjalan dengan baik dalam mengekstrak minyak atsiri pada daun sehingga menyebabkan rendemen pada perlakuan temperatur 55 °C memiliki rendemen yang terendah. Pada temperatur 70 °C rendemen mengalami penurunan ini dikarenakan enzim selulase tidak dapat aktif dengan baik dikarenakan suhu media atau lingkungan enzim melebihi batas optimum enzim untuk dapat beraktifitas yang mengakibatkan proses ekstraksi tidak optimal. Hal ini sesuai penelitian Putri (2016) tentang karakterisasi enzim selulase yang aktif baik pada suhu optimum 65 °C dengan aktivitas selulase 0,052 U/mL.

Pengaruh Konsentrasi Isolat Enzim *Selulase*

Berdasarkan daftar sidik ragam dapat dilihat bahwa konsentrasi enzim *Selulase* memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter rendemen. Berdasarkan grafik pengaruh konsentrasi enzim terhadap rendemen minyak atsiri daun *eucalyptus grandis* dapat diketahui bahwa rendemen yang dihasilkan dari perlakuan konsentrasi enzim *Selulase* 1% sampai ke perlakuan 4% mengalami peningkatan. Pada konsentrasi 1% rendemen berada pada titik 0,206 % kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada konsentrasi 4 % menjadi 0,254 %. Hal ini menunjukkan bahwa nilai rendemen yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,206 % sampai 0,254 % dan rata-ratanya yaitu 0,220%.

Grafik diatas menunjukkan bahwa hasil terendah berada pada perlakuan 1 %. Hal ini disebabkan karena perlakuan 1 % merupakan perlakuan dengan jumlah konsentrasi enzim paling sedikit. Akibatnya, pemecahan sel - sel daun berjalan lama untuk mengekstrak minyak atsiri, ini menyebabkan rendemen pada perlakuan 1% memiliki rendemen yang terendah. Hal ini karena semakin sedikitnya jumlah konsentrasi enzim yang digunakan, maka semakin sedikit rendemen yang dihasilkan (Kuncoro, 2013). Rendemen tertinggi berada pada konsentrasi enzim 4 % sebesar 0,254 %. Hal ini disebabkan semakin tinggi konsentrasi enzim maka rendemen yang dihasilkan akan semakin tinggi (Nashrianto, 2013) .

Interaksi Antara Temperatur dan Konsentrasi Enzim *Selulase* Terhadap Rendemen Minyak atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan daftar sidik ragam diketahui bahwa interaksi temperatur dan konsentrasi Enzim *Selulase* memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap rendemen yang diperoleh. Berdasarkan hasil uji beda rata-rata pengaruh interaksi temperatur dan konsentrasi enzim *selulase* terhadap rendemen minyak atsiri daun *eucalyptus grandis*, dapat diketahui bahwa perlakuan dengan temperatur 65 °C dan konsentrasi enzim *Selulase* 4 % ($T_3(K_4)$) memperoleh nilai rendemen yang tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebesar 0,34100 %. Sedangkan nilai terendah yaitu pada perlakuan dengan temperatur 55 °C dan konsentrasi enzim *Selulase* 1 % ($T_1(K_1)$) sebesar 0,18300 %.

Berdasarkan grafik hubungan interaksi temperatur dan konsentrasi enzim *selulase* terhadap rendemen minyak atsiri daun *eucalyptus grandis* dapat diketahui bahwa seiring meningkatnya temperatur, maka rendemen yang diperoleh antar masing-masing perlakuan akan berfluktuatif, hal tersebut dapat dilihat pada grafik antar perlakuan temperatur. Pada perlakuan T_1K_1 rendemen diperoleh yaitu 0,18300 % dan terus naik sampai perlakuan T_3K_4 rendemen di peroleh yaitu 0,34100 %, kemudian terjadi penurunan pada perlakuan T_4K_1 yaitu 0,18600 %. Namun jika seluruh perlakuan T_1 sampai dengan T_4 dirata-ratakan, maka rendemen akan semakin menurun seiring dengan bertambahnya temperatur. Sedangkan pada perlakuan konsentrasi enzim, terjadi perbedaan bahwa banyaknya konsentrasi akan menghasilkan rendemen yang berfluktuatif, namun jika dirata-ratakan nilai tersebut akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Hal ini berarti bahwa seiring dengan meningkatnya konsentrasi dan waktu maserasi maka rendemen yang dihasilkan akan berfluktuatif antar masing masing perlakuan. Namun, jika dilihat dari rata-rata hasil perolehan rendemen antar perlakuan maka semakin tinggi konsentrasi enzim maka rendemen akan semakin meningkat dan akan semakin menurun akibat bertambahnya temperatur. Menurunnya rendemen dengan bertambahnya temperatur mengindikasikan bahwa enzim tidak dapat aktif dengan baik pada suhu 70 °C sehingga rendemen yang dihasilkan menurun. Hal ini sesuai Putri (2016) tentang karakterisasi enzim *Selulase* yang aktif baik pada suhu optimum 65 °C dengan aktivitas selulase 0,052 U/mL.

Bobot Jenis Pengaruh Temperatur

Berdasarkan daftar sidik ragam dapat dilihat bahwa temperatur memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter bobot jenis. Berdasarkan uji pengaruh temperatur terhadap bobot jenis minyak atsiri daun *eucalyptus grandis* dapat diketahui bahwa perlakuan T_1 berbeda sangat tidak nyata terhadap perlakuan T_2 dan berbeda sangat nyata pada perlakuan T_3 dan T_4 . Perlakuan T_2 berbeda sangata nyata dengan perlakuan T_3 dan T_4 . Perlakuan T_3 berbeda sangat nyata dengan perlakuan T_4 . Nilai rataan bobot jenis tertinggi berada pada perlakuan T_4 yaitu sebesar 0,898 g/ml sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan T_1 yaitu sebesar 0,853 g/ml.

Berdasarkan grafik pengaruh temperatur terhadap bobot jenis minyak atsiri daun *eucalyptus grandis*, dapat diketahui bahwa bobot jenis yang dihasilkan dari perlakuan temperatur 55 °C sampai ke perlakuan 70 °C mengalami peningkatan. Pada temperatur 55 °C bobot jenis berada pada titik 0,853 g/ml kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada temperatur 70 °C menjadi 0,898 g/ml. Hal ini

menunjukkan bahwa nilai bobot jenis yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,853 g/ml sampai 0,898 g/ml dan rata-ratanya yaitu 0,87 g/ml. Nilai tersebut tidak berbeda jauh dari hasil penelitian yang dilaporkan oleh Ratnaningsih (2018) dengan metode destilasi yakni sebesar 0,89 g/ml.

Hasil terendah berada pada perlakuan temperatur 55 °C. Hal ini disebabkan karena perlakuan dengan temperatur 55 °C merupakan perlakuan dengan temperatur terendah. Akibatnya, senyawa lain yang ada pada minyak atau kotoran yang dapat menurunkan mutu minyak tidak hilang dengan penguapan. Apabila nilai berat jenis dari minyak terlalu tinggi atau terlalu rendah, dapat dipastikan adanya senyawa lain yang tidak seharusnya berada di minyak tersebut (Safwani, 2015). Selain itu adanya kotoran yang masuk ke dalam minyak atsiri akan mempengaruhi perubahan berat jenis (Siarudin dan Widiyanto, 2014).

Pengaruh Konsentrasi Isolat Enzim *Selulase*

Berdasarkan daftar sidik ragam dapat dilihat bahwa konsentrasi enzim memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter bobot jenis. Berdasarkan uji pengaruh konsentrasi enzim *selulase* terhadap bobot jenis minyak atsiri daun *eucalyptus grandis*, dapat diketahui bahwa bobot jenis mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Perlakuan K_1 berbeda tidak nyata terhadap perlakuan K_2 dan berbeda sangat nyata pada perlakuan K_3 dan K_4 . Perlakuan K_2 berbeda sangat nyata dengan perlakuan K_3 dan K_4 . Perlakuan K_3 berbeda sangat nyata dengan perlakuan K_4 . Nilai rata-rata bobot jenis tertinggi berada pada perlakuan K_4 yaitu 0,875 g/ml sedangkan nilai terendah berada pada perlakuan K_1 yaitu sebesar 0,865 g/ml.

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

Berdasarkan grafik pengaruh konsentrasi enzim terhadap bobot jenis minyak atsiri daun *eucalyptus grandis*, diketahui bahwa bobot jenis yang dihasilkan dari perlakuan konsentrasi enzim 1% sampai ke perlakuan 4 % mengalami peningkatan. Pada konsentrasi enzim 1% bobot jenis berada pada titik 0,865 g/ml kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada perlakuan 4 % menjadi 0,875 g/ml. Hal tersebut dapat diketahui bahwa nilai bobot jenis yang didapat antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 0,865 g/ml sampai 0,875 g/ml atau jika dirata-ratakan yaitu 0,870 g/ml. Jika dibandingkan dengan standar minyak *Eucalyptus* menurut SNI 01-5009.11- 2001, dapat diketahui minyak *Eucalyptus* memiliki kisaran bobot jenis antara 0,900 – 0,930 sedangkan bobot jenis yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* 0,865 – 0,875. Dari nilai bobot jenis ini menunjukkan bahwa bobot jenis yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* tidak berbeda jauh dengan minyak *Eucalyptus*.

Interaksi Antara Temperatur dan Konsentrasi Enzim *Selulase* Terhadap Bobot jenis Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus grandis*

Berdasarkan daftar sidik ragam diketahui bahwa interaksi temperatur dan konsentrasi Enzim *Selulase* memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap bobot jenis yang diperoleh. Perlakuan dengan temperatur 70 °C dan konsentrasi enzim sebesar 4% (T_4K_4) memperoleh nilai bobot jenis yang tertinggi dibandingkan perlakuan lainnya yaitu sebesar 0,904 g/ml. Sedangkan nilai terendah yaitu pada perlakuan dengan temperatur 55 °C dan konsentrasi 1% (T_1K_1).

Berdasarkan grafik hubungan interaksi temperatur dan konsentrasi enzim *selulase* terhadap bobot jenis minyak atsiri daun *eucalyptus grandis*, dapat diketahui bahwa seiring dengan naiknya temperatur, maka bobot jenis yang diperoleh antar masing-masing perlakuan akan berfluktuatif, hal tersebut dapat dilihat pada grafik antar perlakuan temperatur. Pada perlakuan T_1K_1 bobot jenis diperoleh yaitu 0,850 g/ml, kemudian meningkat terus sampai perlakuan T_1K_4 bobot jenis diperoleh yaitu 0,856 g/ml, dan terjadi penurunan pada perlakuan T_2K_1 yaitu 0,854 g/ml dan meningkat kembali pada angka 0,904 g/ml. Namun jika seluruh perlakuan T_1 sampai dengan T_4 dirata-ratakan, maka bobot jenis akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya temperatur. Pada perlakuan konsentrasi enzim tidak terjadi perbedaan dengan temperatur bahwa banyaknya konsentrasi juga akan menghasilkan bobot jenis yang berfluktuatif, namun jika dirata-ratakan nilai tersebut akan semakin meningkat seiring dengan bertambahnya konsentrasi enzim. Hal ini dikarenakan seiring dengan meningkatnya temperatur dan konsentrasi enzim maka bobot jenis yang dihasilkan akan berfluktuatif antar masing masing perlakuan. Namun, jika dilihat dari rata-rata hasil perolehan bobot jenis antar perlakuan maka semakin tinggi temperatur dan konsentrasi enzim bobot jenis akan semakin meningkat. Ini dikarenakan pada temperatur yang tinggi akan menguapkan kotoran yang tidak berguna bagi kualitas minyak. Menurut hasil penelitian Widiyanto (2014). Mengenai bobot jenis yang akan terpengaruh dengan adanya kotoran yang masuk ke dalam minyak atsiri yang dapat menurunkan kualitas minyak atsiri.

Indeks Bias

Pengaruh Temperatur

Dari daftar sidik ragam dapat dilihat bahwa konsentrasi n-heksan memberikan pengaruh yang berbeda nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter bilangan asam yang dihasilkan. Berdasarkan grafik pengaruh temperatur terhadap indeks bias minyak atsiri daun *eucalyptus grandis* dapat diketahui bahwa indeks bias yang dihasilkan dari perlakuan temperatur 55 °C sampai ke perlakuan 70 °C mengalami peningkatan. Pada temperatur 55 °C indeks bias berada pada titik 1,258 kemudian terus terjadi kenaikan sampai pada temperatur 70 °C menjadi 1,362. Hal ini menunjukkan bahwa nilai indeks bias yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 1,258 sampai 1,362 dan rata-ratanya yaitu 1,309. Jika dibandingkan dengan standar minyak *Eucalyptus* menurut SNI 01-5009.11- 2001, dapat diketahui minyak kayu putih memiliki kisaran indeks bias antara 1,46- 1,47 sedangkan indeks bias yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* 1,258 - 1362. Dari nilai indeks bias ini menunjukkan bahwa indeks bias yang didapat dari minyak *Eucalyptus grandis* tidak berbeda jauh dengan minyak *Eucalyptus*.

Hasil terendah berada pada perlakuan temperatur 55 °C. Hal ini disebabkan karena perlakuan temperatur 55 °C merupakan perlakuan dengan suhu yang rendah sehingga tidak dapat menguapkan air dengan jumlah yang besar sehingga air mempengaruhi nilai indeks bias dari minyak. Menurut Guenther (1988), nilai indeks bias juga dipengaruhi dengan adanya air dalam kandungan minyak tersebut, semakin banyak kandungan airnya, semakin kecil nilai indeks biasnya. Hal ini karena sifat air yang mudah membiaskan cahaya yang datang. Jadi, minyak atsiri dengan nilai indeks bias besar lebih bagus dibandingkan minyak atsiri dengan nilai indeks bias yang kecil.

Pengaruh Konsentrasi Isolat Enzim *Selulase*

Berdasarkan daftar sidik ragam dapat dilihat bahwa konsentrasi enzim memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter indeks bias. perlakuan K_1 berbeda sangat nyata terhadap perlakuan K_2 dan K_3 dan K_4 . Berdasarkan pengaruh konsentrasi enzim terhadap indeks bias minyak atsiri daun *eucalytus grandis* dapat diketahui bahwa indeks bias yang dihasilkan dari perlakuan konsentrasi 1% sampai ke perlakuan 4% terus mengalami penurunan. Pada konsentrasi 1% indeks bias berada pada 1,3125, kemudian terus terjadi penurunan sampai titik terendah yaitu pada konsentrasi 4% menjadi 1,3068 dan jika dirata-ratakan yaitu 1,3095.

Jika pengaruh perlakuan konsentrasi enzim di bandingkan dengan pengaruh perlakuan temperatur dimana indeks bias terus mengalami peningkatan seiring dengan bertambahnya suhu, sedangkan pengaruh konsentrasi enzim berbanding terbalik, dimana setiap penambahan konsentrasi enzim maka nilai indeks bias menurun hal ini dikarenakan semakin banyak konsentrasi enzim yang di berikan maka kadar air yang berada pada bahan akan bertambah. Menurut Guenther (1988), nilai indeks bias juga dipengaruhi dengan adanya air dalam kandungan minyak tersebut, semakin banyak kandungan airnya, semakin kecil nilai indeks biasnya. Hal ini karena sifat air yang mudah membiaskan cahaya yang datang. Jadi, minyak atsiri dengan nilai indeks bias besar lebih bagus dibandingkan minyak atsiri dengan nilai indeks bias yang kecil.

Aroma

Pengaruh Temperatur

Berdasarkan daftar sidik ragam dapat dilihat bahwa temperatur memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter aroma. Berdasarkan pengaruh konsentrasi enzim terhadap indeks bias minyak atsiri daun *eucalytus grandis* diatas dapat diketahui bahwa aroma yang dihasilkan dari perlakuan temperatur 55 °C sampai ke perlakuan 70 °C mengalami peningkatan. Pada temperatur 55 °C aroma berada pada titik 3,263. Kemudian terus terjadi peningkatan sampai pada perlakuan 70 °C menjadi 3,550. Hal tersebut dapat diketahui bahwa nilai aroma yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 3,263 sampai 3,550 dan jika dirata-ratakan yaitu 3,4095. Hasil penelitian diatas menunjukkan pengaruh temperatur menghasilkan aroma yang di sukai, hal ini sesuai dengan Standar Mutu Minyak Kayu Putih (SNI 06-3954-2006) dimana aroma minyak kayu putih sangat di sukai karena aromanya menenangkan.

Pengaruh Konsentrasi Isolat Enzim *Selulase*

Berdasarkan daftar sidik ragam dapat dilihat bahwa konsentrasi enzim memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) terhadap parameter. Berdasarkan pengaruh konsentrasi enzim terhadap aroma minyak atsiri daun *eucalyptus grandis* dapat diketahui bahwa aroma yang dihasilkan dari perlakuan konsentrasi enzim 1% sampai ke perlakuan 4% mengalami peningkatan. Pada konsentrasi enzim 1% aroma berada pada titik 3,263. Kemudian terus terjadi peningkatan sampai pada perlakuan konsentrasi enzim 4% menjadi 3,488. Hal tersebut dapat diketahui bahwa nilai aroma yang diperoleh antar keseluruhan perlakuan berkisar antara 3,263 sampai 3,488 dan jika dirata-ratakan yaitu 3,384. Hal ini tidak berbeda jauh dengan aroma yang dihasilkan dengan perlakuan temperatur dimana aroma masi dalam katagori yang disukai.

4. KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan Pengaruh Temperatur dan Konsentrasi Enzim terhadap Analisis Minyak atsiri dari daun *Eucalyptus grandis* dapat ditarik kesimpulan antara lain

1. Enzim *Selulase* dapat digunakan untuk mengekstrak minyak *Eucalyptus* dari daun *Eucalyptus grandis*, dengan metode enzimatik isolat *selulase* bekicot *Achatina fulica*.
2. Temperatur memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) pada analisis sifat fisik minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*.
3. Konsentrasi enzim memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) pada analisis sifat fisik minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*.
4. Interaksi temperatur dan konsentrasi enzim memberikan pengaruh yang berbeda sangat nyata ($p < 0,01$) pada analisis sifat fisik minyak atsiri daun *Eucalyptus grandis*.

REFERENSI

- Abdoulaye Mahama, 2018. Efficacy of *Eucalyptus camaldulensis* leaf extracts against the pea beetle *Callosobruchus maculatus* and their impact on biochemical and microbiological properties of the treated bambara groundnut grains. 6(2). 869-877. Cameroon.
- Arianty, N., & Masyhura, M. (2019, October). Strategi Pemasaran Susu Kedelai Dalam Upaya Meningkatkan Pendapatan Keluarga. In *Prosiding Seminar Nasional Kewirausahaan* (Vol. 1, No. 1, pp. 257-264).
- Ariyani, dkk. 2014. Optimasi Waktu Inkubasi Produksi Enzim *Selulase* Oleh *Aspergillus Niger* Menggunakan Fermentasi Substrat Padat. *J. Biopropal Industri* 5, no.2 (2014): h. 61-67.
- Armando, R. (2009). Memproduksi 15 Minyak Atsiri Berkualitas. Jakarta: Penebar Swadaya. Hal. 23-33.
- Ateng, S, dkk. 2015. Aktivitas Enzim Amilase, Lipase dan Protoase Dari Larva *Hermetia Illucens* Yang Diberikan Pakan Jerami Padi. *J. Biokimia* 5, no. 2 (2015): h. 18-31.
- Baghaee-, S. 2017. "Candidatus *Phytoplasma solani*" associated with *Eucalyptus* witches' broom in Iran. Department of Crop Protection, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
- Bahri, dkk. "Karakterisasi Enzim Amilase Dari Kecambah Biji Jagung Ketan (*Zea Mays Ceratina L.*). *J. Natural Science* 1, no. 1 (2012): h. 132-143.
- Cahyani, I, M. 2018 Efektivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun *Eucalyptus* (*Eucalyptus globulus*) Dalam Sediaan Krim Sebagai Antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213. Yayasan Farmasi Semarang.
- Dewan atsiri Indonesia dan IPB, 2009. Minyak Atsiri Indonesia

- Efruan GK, Martosupono M, Rondonuwu FS, (2016). Review: Bioaktivitas Senyawa 1,8-Sineol Pada Minyak Atsiri. Seminar Nasional Pendidikan dan Saintek: 171-175.
- Fuadi, M. (2018). Cara Pengawetan Ikan Mas (*Cyprinus carpio* L) Dengan Menggunakan Fermentasi Limbah Kubis (*Brassica oleracea*). *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 1(1).
- Fuadi, M., & Arianingrum, W. (2019). Studi Pembuatan Minuman Instan Cangkang Telur Berkalsium Tinggi. *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 2(1).
- Ganesan, D. 2017 Antioxidant activity of phenolic compounds from extracts of *Eucalyptus globulus* and *Melaleuca styphelioides* and their protective role on D-glucose-induced hyperglycemic stress and oxalate stress in NRK-49F cells. Sapienza University, Rome, Italy
- Guenther, E. 1988. Minyak Atsiri Jilid I. Terjemahan. Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Hadjer, T. 2017. Essential oil of Algerian *Eucalyptus citriodora*: Chemical composition. National. Institute of Agronomy (Algiers, Algeria).
- Hartati, I. 2010. Kajian Produksi Kolagen Dari Limbah Sisik Ikan Secara Ekstraksi Enzimatis. Universitas Wahid Hasyim Semarang Jl Menoreh Tengah X/22 Semarang.
- Irawati, R. "Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat Pada Enzim Selulase Kasar Yang Diproduksi Oleh *Bacillus Circulans*". Skripsi. Malang: Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim, 2016.
- Juliana, I. 2018. Analisis Kandungan Dan Penentuan Kadar Sineol Pada Minyak Kayu Putih (*Eucalyptus robusta*) Dari Pt. Toba Pulp Lestari Dengan Metode Gc-MS Skripsi.
- Ketaren, S. (1985). Pengantar Teknologi Minyak Atsiri. Jakarta: Balai Pustaka. Hal. 19-29.
- Khaeruddin. (1993). Pembibitan Hutan Tanaman Industri (HTI) Penebar Swadaya. Jakarta.
- Koensoemardiyah. (2010). A to Z Minyak Atsiri untuk Makanan, Kosmetik, dan Aromaterapi. Yogyakarta: Penerbit Andi. Hal. 6.
- Latifah, S. (2004). Pertanaman dan Hasil Tegakan *Eucalyptus grandis* di Hutan Tanaman Industri. <http://www.libraryusu.ac.id> [13 November 2017].
- Masyhura, M. D. Surnaherman. 2018. Pemanfaatan Biji Nangka Sebagai Bahan Alternatif Pembuatan Yoghurt Instan. *Jurnal]. Fakultas Pertanian. Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara*, 21(2).
- Masyhura, M. M., Nusa, M. I., & Prasetya, D. (2018). Aplikasi Ekstrak Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus*) Pada Pembuatan Susu Kedelai (*Hylocereus polyrhizus*). *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 2(1).
- Maysura, M. D., Rangkuti, K., & Fuadi, M. (2019). Pemanfaatan Limbah Ampas Tahu Dalam Upaya Diversifikasi Pangan. *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 2(2), 52-54.
- Mukhrani. 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, Dan Identifikasi Senyawa Aktif. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar.
- Nair, K. S. S. (2000). Insects Pest and Diseases in Indonesian Forest an Assessment of the Major Threats, Research Effort and Literature. Center for International Forestry Research (CIFOR). Bogor.
- Ndiaye, H, B. 2018. Characterization of essential oils and hydrosols from senegalese *Eucalyptus camaldulensis* Dehn. University Gaston Berger (Saint-Louis),
- Nusa, M. I., Fuadi, M., & Fatimah, S. (2015). Studi pengolahan biji buah nangka dalam pembuatan minuman instan. *AGRIUM: Jurnal Ilmu Pertanian*, 19(1).
- Nusa, M. I., Masyhura, M. D., & Hakim, F. A. (2019). Identifikasi Mutu Fisik Kimia Dan Organoleptik Penambahan Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*) Pada Pembuatan Es Krim Sari Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus* L.). *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 2(2), 47-51.
- Nusa, M. I., Suarti, B., & Marbun, R. A. (2017). Addition of tempe and old fermentation to the quality of albumin flour egg. *AGRIUM: Jurnal Ilmu Pertanian*, 20(3).

- Pellita Pada Berbagai Waktu Penyimpanan Bahan Baku. Wahana Forestra: Jurnal Kehutanan Vol. 13, No.2. Pekanbaru.
- Pratiwi, A, 2018. Isolasi Dan Analisa Kandungan Minyak Atsiri Pada Kembang Lesoan. Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta. Bio eksoerimen Volume4 No.1
- Pudjiharta. (2001). Aspek hidrologi dari Eucalyptus. Buletin Penelitian Kehutanan Vol.2 No.1 Thn 2001.
- Rangkuti, M. F., Hafiz, M., Munthe, I. J., & Fuadi, M. (2020). APLIKASI PATI BIJI ALPUKAT (*Parcea americana*. Mill) SEBAGAI EDIBLE COATING BUAH STRAWBERRY (*Fragaria* sp.) DENGAN PENAMBAHAN EKSTRAK JAHE (*Zingiber officinale*. Rosc). *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 3(1), 1-10.
- Ratnaningsih, T, A. 2018 Rendemen Dan Kualitas Minyak Atsiri Eucalyptus
- Rosyida, I. 2016. Karakterisasi pH, Suhu dan Konsentrasi Substrat Pada Enzim Selulase Kasar Yang Diproduksi Oleh *Bacillus Circulans*. Skripsi. Malang: Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim.
- Rusli, M, E. (2010). Sukses Memproduksi Minyak Atsiri. Jakarta: PT. Agromedia Pustaka. Hal. 2.
- Samosir, S, J. 2018. Analisa Kandungan Kimia Dan Sifat Fisikaminyak Atsiri Dari Daun *Eucalyptus grandis* Dari Toba Pulp Lestari dengan Metode Gaschromatography Mass Spectrometry (Gc-Ms) Skripsi.
- Sastrohamidjojo, H. 2004. Kimia Minyak Atsiri. Yogyakarta : Gajah Mada
- Setianingsih, S. 2017. Isolasi Senyawa Kimia Stigmastan-3,5-Dien yang Mempunyai Daya Toksik Dari Daun Ekaliptus (*Eucalyptus deglupta*). 15 (1). Kimia FMIPA Unmul
- Siregar, M. S., Masyura, M. D., & Ardilla, D. (2018). Penambahan Komonomer Divinyl Benzena untuk Meningkatkan Derajat Pencangkakan Anhidrida Maleat pada Karet Alam Siklis. *Kumpulan Penelitian dan Pengabdian Dosen*, 1(1).
- Suarti, B., & Budijanto, S. (2021). Bio-active compounds, their antioxidant activities, and the physicochemical and pasting properties of both pigmented and non-pigmented fermented de-husked rice flour. *AIMS Agriculture and Food*, 6(1), 49-64.
- Syarafani, P . 2016. "Karakterisasi Enzim Selulase Yang Dihasilkan Oleh *Lactobacillus Plantarum* Pada Variasi Suhu, pH Dan Konsentrasi Substrat". Skripsi. Malang: Fakultas Sains Dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim,
- Taufik, M., Ardilla, D., Tarigan, D. M., Thamrin, M., Razali, M., & Afritario, M. I. (2018). Studi Awal: Analisis Sifat Fisika Lemak Babi Hasil Ekstraksi Pada Produk Pangan Olahan. *Agritech: Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 1(2).
- Thamrin, M., & Ardilla, D. (2016). Analysis Of Production Efficiency Factor Rice Rainfed Through Ptt Approach. *AGRIUM: Jurnal Ilmu Pertanian*, 20(2). University Press.
- Witono, Y, 2007. Ekstraksi Virgin coconut oil secara enzimatis Menggunakan protease dari tanaman biduri *Calotropis gigantea*. *AGRITECH*, Vol. 27, No. 3
- Yulia, O, dkk. 2014. Karakteristik Enzim Kasar Selulase Kapang Endofit dari Lamun. *J. Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis* 6.