

ANALISIS KANDUNGAN MINYAK ATSIRI DAUN TENGGULUN (*Protium javanicum* Burm.F.) DENGAN METODE KROMATOGRAFI GAS-SPEKTROSKOPI MASSA

I G. P. Sukmajaya A. P. T., N. M. Puspawati, dan A. A. Bawa Putra

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran

ABSTRAK

Daun Tenggulun umumnya digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan inflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kandungan kimia minyak atsiri yang diekstraksi dari daun Tenggulun dengan kromatografi gas (GC) yang dihubungkan dengan spektrometer massa (MS). Minyak atsiri diperoleh dengan metode destilasi uap. Analisis spektra GC-MS menunjukkan bahwa minyak atsiri daun Tenggulun sebagian besar merupakan golongan monoterpen seperti β -ocimen (49,87 %) serta α -pinen (0,36 %) dan seskuiterpen seperti β -kariofilen (24,95%), germacren (4,01%), α -humulen (2,98%), β -elemen (2,38%), kariofilen oksida (0,81%), α -amorpen (0,46%), dan spatulenol (2,64%).

Kata kunci : : Daun Tenggulun, destilasi uap, minyak atsiri, GC-MS

ABSTRACT

Leaves of Tenggulun are commonly used in traditional medicine for inflammatory therapy. This research aims to analyze the chemical composition of the volatile oil extracted from Tenggulun leaf by gass chromatography (GC) coupled to mass spectrometer (MS). The volatile oil was obtained by steam distillation method. GC-MS spectra demonstrate that the volatile oil of Tenggulun leaf is constituted mainly of monoterpenes such as β -ocimene (49.87%) and α -pinene (0.36%) and sesquiterpenes such as β -caryophyllene (24.95%), germacrene (4.01%), α -humulene (2.98%), β -elemene (2.38%), caryophyllene oxide (0.81%), α -amorphene (0.46%), and spathulenol (2.64%).

Keywords : Tenggulun leaf, steam distillation, volatile oil, GC-MS

PENDAHULUAN

Masyarakat Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan tumbuhan berkhasiat obat sebagai salah satu upaya untuk menanggulangi masalah kesehatan. Pengetahuan tentang tumbuhan berkhasiat obat ini merupakan warisan budaya bangsa berdasarkan pengalaman yang secara turun temurun telah diwariskan oleh generasi terdahulu kepada generasi berikutnya hingga sekarang (Wijayakusuma, 1992). Penggunaan tumbuhan berkhasiat obat sebagai obat tradisional di Indonesia dibuktikan dengan adanya peninggalan berupa naskah lama pada daun lontar Husodo (Jawa), Usadha (Bali), Lontarak

pabbura (Sulawesi Selatan), dokumen Serat Primbon Jampi dan Serat Racikan Wulang Dalem (Sari, 2006).

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil minyak atsiri yang cukup besar di dunia. Alam Indonesia sangat kaya dengan tumbuh-tumbuhan yang mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri dapat dihasilkan dari berbagai bagian tanaman seperti akar, batang, ranting, daun, bunga, ataupun buah. Jenis tanaman penghasil minyak atsiri ada 150-200 spesies. Di Indonesia terdapat sekitar 40 jenis tanaman penghasil minyak atsiri. Sementara itu, minyak atsiri yang beredar di pasaran dunia ada sekitar 70 jenis (Taufik, 2008). Minyak atsiri sebagai

bahan wewangian banyak digunakan pada industri parfum, penyedap masakan, ataupun obat-obatan (Guenther, 1972).

Salah satu jenis tumbuhan yang mengandung minyak atsiri adalah Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.). Tenggulun tergolong dalam famili *Burseraceae*. Tenggulun tumbuh menyebar di Pulau Jawa pada daerah yang memiliki ketinggian kurang dari 500 meter di atas permukaan laut (Kriswiyanti, 1997). Di Bali, tumbuhan ini dikenal dengan nama Tingulun atau Tenggulun. Tenggulun merupakan salah satu tumbuhan yang mulai langka keberadaannya di wilayah Bali. Kekhasan dari daun Tenggulun ini adalah berbau asam dan mengandung minyak yang mudah menguap (Heyne, 1987).

Tumbuhan Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) secara tradisional daunnya telah digunakan oleh masyarakat di Bali sebagai obat sakit perut, obat batuk, dan obat mencret. Kulit batangnya dapat digunakan untuk mengobati bengkak dan kusta (Segatri, 1989). Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa minyak atsiri pada daun Tenggulun ini mengandung senyawa cinnamil tiglat dan miristofenon serta memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli* (Sanjaya, 2002). Selain itu, minyak atsiri tumbuhan dari satu genus yang sama (*Protium heptaphyllum* Aubl March.) memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi dan diketahui mengandung senyawa atsiri dari golongan monoterpen dan seskuiterpen (Bandeira, *et al.*, 1999).

Metode dan tahap-tahap pengerjaan yang telah digunakan dalam penelitian berbagai tumbuhan dari genus *Protium* ini adalah dengan metode fitokimia. Berdasarkan uji fitokimia dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa daun tenggulun positif mengandung senyawa dari golongan steroid dan terpenoid (Sanjaya, 2002). Komponen-komponen senyawa yang diperkirakan ada di dalam tumbuhan tersebut selama ini diidentifikasi dengan menggunakan IR, ¹³C-NMR, ¹H-NMR, maupun GC-MS (Bandeira, *et al.*, 1999; Maria, *et al.*, 1995).

Kromatografi gas-cair merupakan cara/teknik yang paling sesuai untuk mengidentifikasi minyak atsiri karena dengan cara ini memungkinkan sekaligus analisis kualitatif dan kuantita-

tif. Dalam kromatografi gas, sampel cairan disuntikkan ke dalam ruang injeksi dengan jarum injeksi melalui klep khusus. Sampel akan terbawa melalui kolom. Di dalam kolom, sampel akan dipisahkan satu dengan yang lainnya dan kemudian diteruskan ke detektor berupa signal/isyarat listrik. Selanjutnya akan direkam berupa pulsa-pulsa di rekorder. Puncak-puncak spektrum tersebut akan dilewatkan ke spektrometer massa untuk mengetahui massa molekul relatif (Mr) dan pola fragmen-tasinya (Lafferty, 1988). Berdasarkan pendekatan-kemotaksonomi dan penjelasan latar belakang di atas, maka dilakukanlah penelitian tentang analisis kandungan minyak atsiri daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) dengan metode kromatografi gas-spektroskopi massa.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) yang diambil di seputaran wilayah Bukit Jimbaran, Kelurahan Jimbaran, Kecamatan Kuta Selatan, Kabupaten Badung pada bulan Januari 2012 yang sebelumnya sudah di determinasi di UPT LIPI Kebun Raya Eka Karya Bedugul, Tabanan, Bali pada bulan November 2011. Sedangkan bahan-bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah aquadest, Natrium sulfat anhidrat (p.a.), Natrium klorida (p.a.), dan vaselin.

Peralatan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kertas saring, aluminium foil, gelas beaker, gelas ukur, pipet volume, pipet tetes, botol vial, corong pisah, corong kaca, spuit, spatula, statif, klem, seperangkat alat destilasi uap, dan seperangkat alat kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) tipe Shimadzu QP-2010S.

Cara Kerja

Preparasi sampel

Sampel daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) dikumpulkan secara

bertahap dan random (tua maupun muda) dari wilayah Bukit Jimbaran pada Bulan Januari 2012. Daun yang sudah terkumpul, selanjutnya dibersihkan dengan cara dicuci menggunakan air, kemudian dipotong hingga menjadi bagian yang lebih kecil. Karena pengerjaannya menggunakan jaringan segar, maka kondisi daun diusahakan agar tetap terjaga kesegarannya (Sanjaya, 2002).

Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap

Kira-kira sebanyak 6 kg daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) dalam keadaan masih cukup segar, dipotong menjadi bagian yang lebih kecil dan diberi air sampai menutupi sampel, kemudian didestilasi dengan alat destilasi uap. Proses destilasi ini dilakukan sebanyak tiga kali, dimana pada setiap tahapnya digunakan 2 kg daun Tenggulun. Alat destilasi uap ini dilengkapi dengan dandang bertutup rapat yang dapat menampung sampel dalam jumlah yang banyak dan dihubungkan dengan kondensor. Selama proses destilasi ini berlangsung, partikel-partikel minyak pada bahan baku akan terbawa bersama uap dan dialirkan pada kondensor. Di dalam alat pendingin/kondensor terjadi proses pengembunan, sehingga uap air yang bercampur dengan minyak akan mengembun dan tertampung di dalam buret. Setelah itu, campuran air dan minyak di dalam buret dipisahkan (Guenther, 1990).

Fase airnya dikeluarkan dan ditampung pada botol penampung, kemudian ditambahkan dengan Natrium klorida untuk memisahkan kemungkinan adanya sisa-sisa minyak yang masih teremulsi dalam air, dimana Natrium

klorida yang bersifat polar akan cenderung berikatan dengan molekul air yang bersifat polar sesuai dengan pernyataan “Like Dissolved Like“, sehingga minyak yang teremulsi dalam air akan terpisah dan terlihat lebih jelas, sedangkan fase minyaknya dikeluarkan dan ditampung pada botol vial. Minyak atsiri yang dihasilkan dari pemisahan di fase air selanjutnya digabung menjadi satu dengan destilat minyak atsiri hasil isolasi yang telah diperoleh sebelumnya. Untuk menghilangkan sisa-sisa air yang masih tertinggal dalam minyak atsiri, maka ke dalam destilat minyak atsiri tersebut ditambahkan dengan Natrium sulfat anhidrat (Guenther, 1990).

Analisis dengan kromatografi gas-spektrometer massa

Minyak atsiri yang telah murni selanjutnya dianalisis dengan GC-MS untuk mengetahui komponen golongan senyawa kimia penyusun minyak atsiri daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.). Spektrum massa yang diperoleh dari sampel minyak atsiri daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) dibandingkan dengan spektrum massa dari senyawa pembanding yang diketahui dalam database dan telah terprogram pada alat GC-MS (Sanjaya, 2002).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi minyak atsiri dengan metode destilasi uap

Hasil isolasi minyak atsiri daun tenggulun dengan destilasi uap dapat dilihat pada Tabel 1.

Table 1. Hasil Isolasi Minyak Atsiri Daun Tenggulun dengan Destilasi Uap.

| No | Jumlah Sampel (kg) | Berat Botol Kosong (g) | Berat Botol+Minyak (g) | Berat Minyak (g) | Volume Minyak (mL) | Massa Jenis Minyak (g/mL) | Rendemen (%) |
|------------------|--------------------|------------------------|------------------------|------------------|--------------------|---------------------------|--------------|
| 1 | 2,00 | 10,7816 | 12,5761 | 1,7945 | 1,80 | 0,9969 | 0,0897 |
| 2 | 2,00 | 10,8452 | 12,4815 | 1,6363 | 1,90 | 0,8612 | 0,0818 |
| 3 | 2,00 | 10,9627 | 12,3970 | 1,4343 | 1,70 | 0,8437 | 0,0717 |
| Rata-rata ± SD : | | | | 1,6217±0,18 | 1,80±0,10 | 0,9006±0,08 | 0,0811±0,01 |

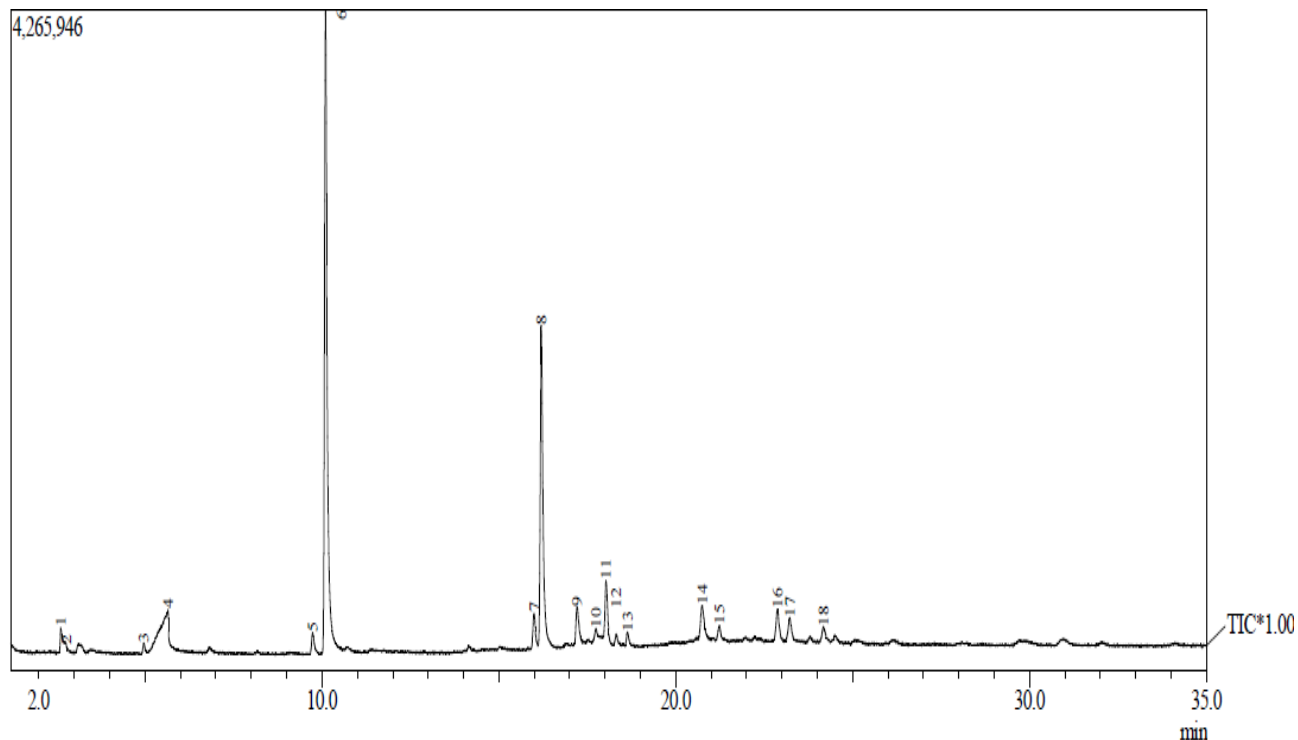
Minyak atsiri yang diperoleh dari proses isolasi 6 kg daun tenggulun ini berwarna kuning muda sebanyak 5,40 mL, massa jenis sebesar 0,9006 g/mL, dan dengan nilai rendemen sebesar 0,08%. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Sanjaya (2002), disebutkan bahwa massa jenis minyak atsiri daun tenggulun dari *famili Burseraceae* berkisar antara 0,8700 sampai 1,0240 g/mL. Amaral, *et al.* (2009) melaporkan bahwa minyak atsiri dari satu genus tumbuhan yang sama, yaitu *Protium heptaphyllum* Aubl March. yang dihasilkan dari proses destilasi uap ini sebanyak 2,11 % (b/b). Perbedaan hasil yang didapatkan ini kemungkinan disebabkan karena perbedaan keadaan geografis serta kecanggihan teknologi dalam proses destilasi minyak atsiri.

Minyak atsiri yang telah diperoleh selanjutnya diidentifikasi dengan menggunakan

GC-MS untuk mengetahui komponen senyawa-senyawa atsiri penyusun minyak atsiri daun Tenggulun.

Analisis kandungan minyak atsiri dengan metode kromatografi gas-spektroskopi massa

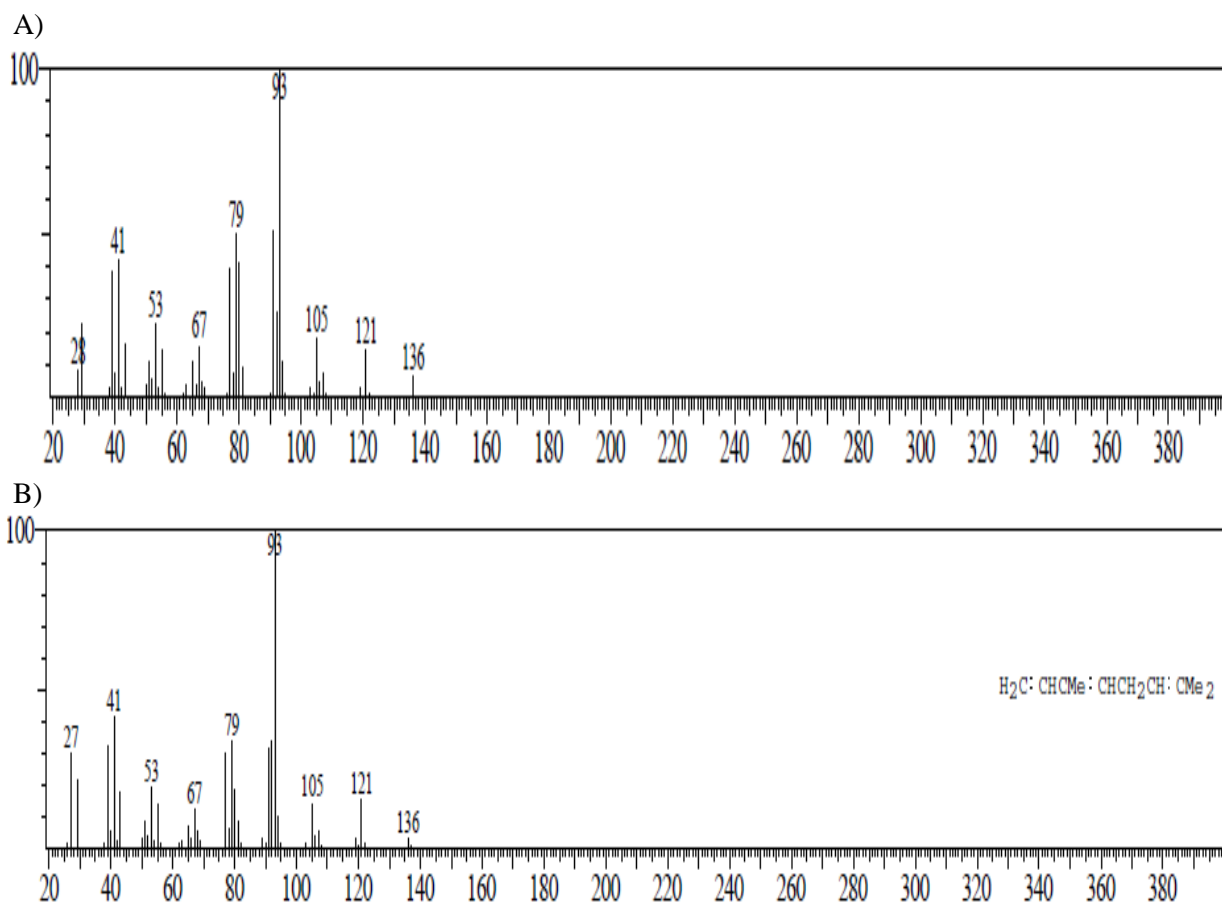
Kromatogram hasil isolasi minyak atsiri daun Tenggulun dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS) menunjukkan delapan belas puncak senyawa dengan sembilan puncak senyawa utama yang teridentifikasi masuk dalam golongan minyak atsiri, dimana dari kesembilan puncak senyawa tersebut dilaporkan terdapat dua puncak senyawa dengan kelimpahan relatif yang cukup besar, yaitu 49,87 % serta 24,95 % dan tujuh puncak senyawa lainnya dengan kelimpahan relatif yang cukup kecil seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Kromatogram Minyak Atsiri Daun Tenggulun

Tabel 2. Dugaan Senyawa-senyawa Atsiri pada Kromatogram Minyak Atsiri Daun Tenggulun Berdasarkan Database WILEY229.LIB

| No | Puncak Senyawa | Waktu Retensi (menit) | % Area | M ⁺ | Senyawa Dugaan | Golongan Senyawa |
|----|----------------|-----------------------|--------|----------------|---------------------|------------------|
| 1 | Puncak 3 | 4,961 | 0,36 | 136 | α -pinen | Monoterpen |
| 2 | Puncak 6 | 10,097 | 49,87 | 136 | β -ocimen | Monoterpen |
| 3 | Puncak 7 | 15,990 | 2,38 | 204 | β -elemen | Seskuiterpen |
| 4 | Puncak 8 | 16,197 | 24,95 | 204 | β -kariofilen | Seskuiterpen |
| 5 | Puncak 9 | 17,210 | 2,98 | 204 | α -humulen | Seskuiterpen |
| 6 | Puncak 10 | 17,741 | 0,46 | 204 | α -amorpen | Seskuiterpen |
| 7 | Puncak 11 | 18,026 | 4,01 | 204 | Germacren | Seskuiterpen |
| 8 | Puncak 15 | 21,232 | 0,81 | 220 | Kariofilen oksida | Seskuiterpen |
| 9 | Puncak 16 | 22,881 | 2,64 | 220 | Spatulenol | Seskuiterpen |

Gambar 2. A) Spektrum Massa Senyawa Puncak 6
(B) Spektrum Massa Senyawa β -ocimen

Puncak-puncak senyawa pada kromatogram yang termasuk dalam golongan minyak atsiri antara lain puncak 3, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 15, dan 16. Seluruh puncak senyawa ini selanjutnya

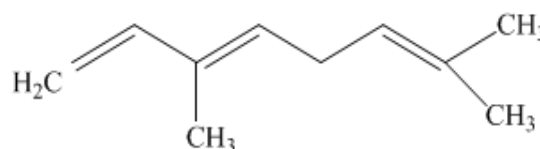
diidentifikasi dengan menganalisis spektrum massanya. Hasil spektrum massa masing-masing puncak kemudian dibandingkan dengan spektrum massa yang terdapat dalam database,

sehingga dapat diduga senyawa-senyawa atsiri penyusun minyak atsiri daun Tenggulun. Perkiraan senyawa-senyawa atsiri berdasarkan database WILEY229.LIB dapat dilihat pada Tabel 2.

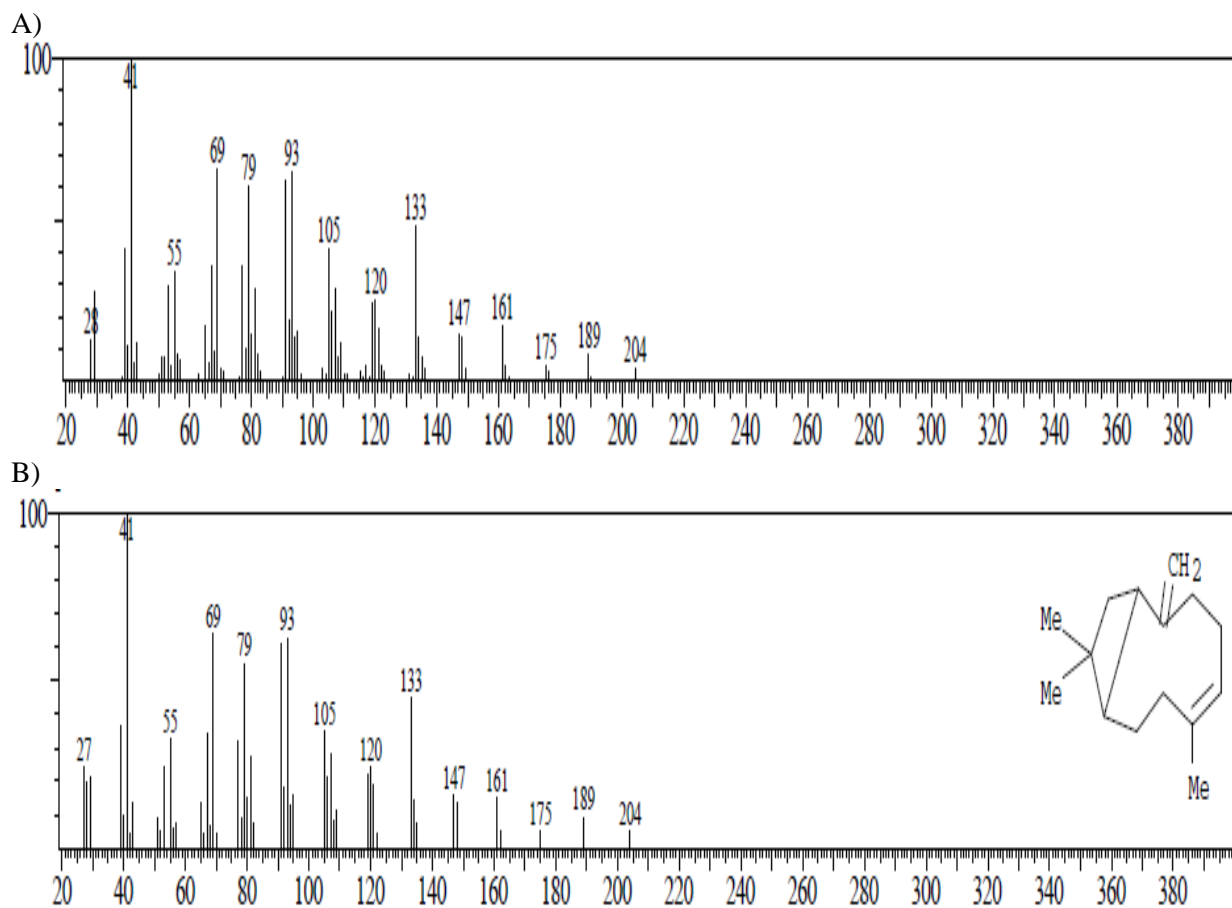
Senyawa puncak 6 dari kromatogram yang memiliki waktu retensi (t_R) 10,097 menit dan dengan persentase luas puncak sebesar 49,87 % menghasilkan spektrum massa seperti pada Gambar 2.

Spektrum massa di atas menunjukkan ion molekuler (M^+) dengan m/z 136 dan memiliki nilai puncak ($M+1$) dengan m/z 137. Setelah itu, dilakukan analisis data dengan pendekatan Tabel Beynon diperoleh % $M+1$ yaitu 11,06 %, sehingga dapat dihitung jumlah atom C pada senyawa yaitu ± 10 atom C. Berat molekul yang genap tersebut dapat menunjukkan bahwa komponen senyawa itu tidak mengandung

atom N atau mengandung jumlah atom N yang genap. Rumus molekul yang paling mungkin dari Tabel Beynon adalah $C_{10}H_{16}$. Perhitungan harga DBE diperoleh jumlah kesetaraan ikatan rangkap ekivalen sebanyak 3 buah ikatan rangkap (Silverstein, *et al.*, 1991). Berdasarkan hasil korelasi dari pendekatan database WILEY229.LIB, maka diduga senyawa pada puncak 6 adalah β -ocimen. Senyawa β -ocimen memiliki struktur seperti pada Gambar 3.

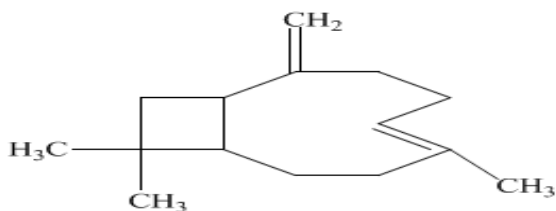


Gambar 3. Struktur Senyawa β -ocimen



Gambar 4. (A) Spektrum Massa Senyawa Puncak 8
(B) Spektrum Massa Senyawa β - kariofilen

Spektrum massa di atas menunjukkan ion molekuler (M^+) dengan m/z 204 dan memiliki nilai puncak ($M+1$) dengan m/z 205. Setelah itu, dilakukan analisis data dengan pendekatan Tabel Beynon diperoleh % $M+1$ yaitu 16,59 %, sehingga dapat dihitung jumlah atom C pada senyawa yaitu ± 15 atom C. Berat molekul yang genap tersebut dapat menunjukkan bahwa komponen senyawa itu tidak mengandung atom N atau mengandung jumlah atom N yang genap. Rumus molekul yang paling mungkin dari Tabel Beynon adalah $C_{15}H_{24}$. Perhitungan harga DBE diperoleh jumlah kesetaraan ikatan rangkap ekuivalen sebanyak 4 buah ikatan rangkap (Silverstein, *et al.*, 1991). Berdasarkan hasil korelasi dari pendekatan database WILEY229.LIB, maka diduga senyawa pada puncak 8 adalah β -kariofilen. Senyawa β -kariofilen memiliki struktur seperti pada Gambar 5.



Gambar 5. Struktur Senyawa β -kariofilen

Minyak atsiri sebagian besar tersusun atas komponen monoterpen dan seskuiterpen. Berdasarkan Tabel 2. senyawa yang termasuk golongan monoterpen ada dua, yaitu α -pinen dan β -ocimen, sedangkan senyawa yang termasuk golongan seskuiterpen ada tujuh, yaitu α -amorpen, α -humulen, β -elemen, β -kariofilen, germacren, kariofilen oksida, dan spatulenol. Perbedaan yang cukup signifikan antara kesemua senyawa ini adalah jumlah ikatan rangkap, posisi ikatan rangkap, dan titik didihnya, dimana senyawa dengan titik didih yang lebih rendah dan senyawa dengan massa molekul yang lebih rendah akan keluar lebih awal dari kolom dan langsung di deteksi melalui spektrometer massa berdasarkan pola fragmentasinya.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian di atas, dapat disimpulkan bahwa senyawa-senyawa atsiri yang teridentifikasi dengan GC-MS dalam minyak atsiri daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) merupakan kombinasi senyawa golongan monoterpen dan seskuiterpen seperti β -ocimen (49.87 %), α -pinen (0.36 %), β -kariofilen (24.95 %), germacren (4.01 %), α -humulen (2.98 %), β -elemen (2.38 %), kariofilen oksida (0.81 %), α -amorpen (0.46 %), dan spatulenol (2.64 %).

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk memurnikan senyawa, menguji toksisitas, dan mengaplikasikannya dalam uji bioaktivitas lain yang memiliki korelasi dengan penelitian ini, sehingga menjadi lebih bermanfaat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada bapak Ir. I Ketut Sumiarta, M.Agr. serta semua pihak yang ikut membantu dan terlibat dalam penelitian ini, sehingga tulisan ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- Amaral, M. P. M., Braga, F. A. V., Passos, F. F. B., Almeida, F. R. C., Oliveira, R. C. M., Carvalho, A. A., Chaves, M. H., and Oliveira, F. A., 2009, Additional Evidence for The Anti-inflammatory Properties of The Essential Oil of *Protium heptaphyllum* Resin in Mice and Rats, *J. Pharmacology Research.*, 28 (5) : 775-782
- Bandeira, P. N., M. I. L. Machado., F. S. Cavalcanti., and T. L. G. Lemos., 1999, Essential Oil Composition of Leaves, Fruits, and Resin of *Protium heptaphyllum* (AuBl) March, *J. Essential Oil Research.*, 48 : 33-34

- Guenther, E., 1972, *Minyak Atsiri*, Jilid IV A, a.b. Ketaren S, Universitas Indonesia Press, Jakarta
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia II*, Edisi I, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Departemen Kehutanan, Jakarta
- Kriswiyanti, E., 1997, Identifikasi, Struktur Anatomi, dan Studi Pendahuluan Golongan Senyawa Kimia Daun Pelengkap Bumbu Lawar dan Betutu, *Laporan Penelitian* Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran
- Lafferty, F. W., 1988, *Interpretasi Spektra Massa*, Edisi Ketiga, a.b. Hardjono Sastrohamidjojo, Fakultas MIPA, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta
- Maria, Das G. B. Zoghbi and Jose G. S. Mala., 1995, Volatile Constituents From Leaves and Stem of *Protium heptaphyllum* (AuBl) March, *J. Essential Oil Research.*, 7 : 541-543
- Sari, L. O. R. K., 2006, Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 3 (1) : 1-7
- Sanjaya, I. M. A., 2002, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Atsiri Yang Memiliki Aktivitas Antibakteri Pada Daun Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.), *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran
- Silverstein, R. M., G. C. Bassler., T. C. Morrill., 1991, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, John Wiley and Sons, New York
- Segatri, 1989, *Taru Pramana Khasiat Tanaman-tanaman Untuk Obat Tradisional*, Penerbit Upada Sastra, Denpasar
- Taufik, A. T., 2008, *Menyuling Minyak Atsiri*, Cetakan Pertama, PT Intan Sejati, Klaten
- Wijayakusuma, H., 1992, *Tanaman Berkhasiat Obat Di Indonesia*, Jilid 4, Pustaka Kartini, Jakarta