

**PENGARUH JENIS PELARUT ORGANIK DAN UMUR DAUN
PINUS TERHADAP RENDEMEN LILIN**
(Effect of organic solvents and pine needles' age on wax yields)

Oleh/By
Bambang Wiyono

Summary

The objective of this research is to study the effect of organic solvents and pine needles' age on wax yields. The organic solvents used in extracting wax consisted of chloroform, n-hexane and ethanol; however, the radiata pine needles' age used as raw materials for the extraction were primary pine needles (one year old or less), secondary pine needles (two or more years old), and mixture of both. The data were analysed with an A x B factorial design where A represented organic solvents and B depicted pine needles' age. The difference between means of wax yields was calculated with an LSD method in the SAS computer packages.

Results showed that organic solvents, pine needles' age and the interaction of both gave a highly significance on wax yields. Compared to the other combinations, a combination of chloroform solvent and secondary pine needles produced the highest of wax yield. A wax yield obtained by extracting secondary pine needles was statistically similar to a wax yield obtained from a mixture of both primary and secondary pine needles. A chloroform solvent is a good solvent to extract pine needle waxes from any kind of pine species.

I. PENDAHULUAN

Pada permukaan tanaman, seperti daun, dilapisi oleh zat yang tahan terhadap air dan zat ini disebut lilin. Lilin ini pada tanaman memegang peranan penting dalam menjaga keseimbangan air dalam tanaman (Misra, *et al.* 1987), sebagai penahan keluar masuknya air dalam sel, meminimumkan kerusakan sel daun dan menghambat penyerangan jamur dan serangga (Linkens and Jackson, 1991).

Pada saat ini hanya sedikit sekali industri yang tidak menggunakan lilin dalam produknya. Dalam industri semir (polish), lilin digunakan untuk menjaga, melindungi dan memperindah produk. Pemanfaatan lilin sebagai komponen semi atau plitur pada sepatu, mebel, lantai dan mobil karena menghasilkan kilap yang tahan lama dan kekerasan lapisan yang sangat kuat (Codd, *et al.* 1971). Dalam industri pengepakan makanan, lilin digunakan sebagai lapisan luar untuk mencegah kerusakan karena kelembaban serta kerusakan secara kimia dan mekanis pada buah

buah dan sayuran. Lilin juga digunakan sebagai pelapis pada industri kertas, kayu, logam dan dalam industri tekstil. Disamping itu lilin digunakan pula pada industri kosmetik dan farmasi. Lilin dapat bertindak sebagai anti-oksidan dan bahan penolong dalam industri minyak lemak. Sebagai komponen, lilin digunakan untuk pembuatan permen karet, kembang api, herbisida, penyekat panas, pelumas, krem kosmetik, lipstik, salep obat dan pekerjaan akhir pada industri penyamakan kulit.

Beberapa teknik ekstraksi lilin dengan menggunakan pelarut non polar telah dilakukan, seperti kloroform (Kollattukudy, 1975), n-heksana (Tulloch and Weenink, 1969), dietil eter atau bensena (Linskens dan Jackson, 1991), etc. Dalam isolasi lilin dari daun pinus, diantara peneliti ada yang menggunakan n-heksana (Herbin dan Robin, 1968) dan kloroform (Franisch, *et al.* 1978) sebagai pelarut. Dengan menggunakan pelarut kloroform, Franisch (*et al.* 1977) telah mengekstraksi berbagai umur daun pinus radiata. Rendemen lilin yang diperoleh rata-rata sekitar 0, 2 % berdasarkan berat basahanya. Disamping itu peneliti ini juga menyarankan untuk menggunakan pelarut ethanol untuk mengekstraksi lilin dari daun pinus. Sedangkan Herbin dan Robin (1968) mengekstraksi daun pinus dari berbagai jenis dengan menggunakan pelarut n-heksana, namun sayangnya tidak diketahui rendemen lilin yang dihasilkannya. Oleh karena itu dalam penelitian ini dicoba untuk mengekstraksi lilin dari daun pinus radiata dengan menggunakan beberapa macam pelarut organik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh jenis pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dan umur daun pinus terhadap rendemen lilin yang dihasilkan. Sedangkan sasarannya adalah untuk memperoleh jenis pelarut dan umur daun pinus yang terbaik yang menghasilkan rendemen lilin optimum.

II. BAHAN DAN METODE PENELITIAN

A. Persiapan

Daun *Pinus radiata* yang digunakan diperoleh dari salah satu perusahaan kayu di Selandia Baru. Daun pinus diambil dari berbagai posisi pada pohon pinus yang berumur sekitar 5-10 tahun. Daun pinus yang diambil terdiri dari daun yang berumur satu tahun atau kurang (daun pinus primer), dua tahun atau lebih (daun pinus sekunder) dan daun pinus campuran umur keduanya. Daun pinus primer berwarna hijau muda dan rantingnya berwarna coklat muda. Warna ini dapat dibedakan dengan warna daun dan ranting dari daun pinus sekunder dimana daunnya hijau tua dan rantingnya berwarna coklat tua sampai warna abu abu. Setelah membuang pangkal pembungkus daun, daun dipotong kecil-kecil dan dimasukkan ke dalam lemari es untuk menjaga kesegarannya.

B. Ekstraksi Lilin

Dalam ekstraksi ini mengikuti metode yang digunakan oleh Franisch (*et al.* 1977) dan Tulloch (1981). Masing-masing bahan daun pinus diekstraksi dengan menggunakan pelarut kloroform, n-heksana dan ethanol, yang dilakukan secara duplo. Sebanyak 600-700 ml pelarut organik dimasukkan ke dalam gelas beker

ukuran 1000 ml yang berisi daun pinus sebanyak 100 gram. Ekstraksi ini dilakukan selama 1 menit pada suhu kamar. Setelah disaring, pelarut dipekatkan dengan menggunakan alat penguap berputar secara vakum. Larutan tersebut dimasukan ke dalam botol contoh yang telah diketahui bobotnya, kemudian dikeringkan ke dalam alat pengering secara vakum selama 24 jam. Selanjutnya rendemen lilin yang dihasilkan dihitung sebagai berikut:

$$\text{Rendemen lilin} = \frac{A - B}{100} \times 100 \%$$

di mana A merupakan bobot botol contoh dan lilin, B merupakan bobot botol contoh kosong, dan 100 menunjukkan banyaknya daun pinus yang diekstraksi.

C. Metodologi

Data rendemen lilin yang dihasilkan dianalisis dengan menggunakan metode faktorial A X B dengan dua kali ulangan, di mana A adalah jenis pelarut, yang terdiri dari kloroform, n-heksana dan ethanol, sedangkan B adalah umur daun pinus yang terdiri dari daun pinus primer, daun pinus sekunder dan daun pinus campuran tanpa memperhatikan perbandingan diantara keduanya. Perbedaan nilai rata-rata diantara umur daun pinus maupun jenis pelarut dianalisis dengan menggunakan metode Beda Nyata Terkecil (BNT). Perhitungan metode faktorial ataupun metode BNT menggunakan program komputer SAS (Anonimus, 1985).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Dalam ekstraksi berbagai kelas umur daun pinus, pelarut kloroform menghasilkan rendemen lilin tertinggi (0,35 %), kemudian pelarut ethanol (0,07 %) dan yang terakhir adalah pelarut heksana (0,02 %), seperti yang terlihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen lilin hasil ekstraksi dengan pelarut organik*
Table 1. Wax yields obtained by liquid organic solvent extractions

Umur daun pinus (Age of pine needles)	Ulangan (Replication)	Kloroform (Chloroform)	Heksana (Hexane)	Ethanol
Satu tahun atau kurang/daun primer (One year old or less / primary needles)	1	0,290	0,024	0,077
	2	0,251	0,020	0,069
Rataan (Average)		0,271	0,022	0,073
Dua tahun atau lebih/sekunder (Two years or more old/ secondary needles)	1	0,426	0,021	0,066
	2	0,382	0,016	0,067
Rataan (Average)		0,404	0,019	0,068
Campuran (Mixture)	1	0,379	0,015	0,061
	2	0,371	0,018	0,068
Rataan (Average)		0,375	0,017	0,065
Rataan seluruhnya (Total average)		0,350	0,019	0,068

* Persen berdasarkan berat segar daun pinus (Percent based on fresh weight of pine needles)

Dari hasil pengamatan warna lilin yang dihasilkannya, lilin hasil ekstraksi dengan pelarut kloroform berwarna hijau tua, sesuai dengan warna lilin yang dihasilkan oleh peneliti terdahulu (Franisch, *et al.* 1977). Lilin yang diekstraksi dengan ethanol berwarna hijau muda, yang disebabkan klorofil daun sebagian besar ikut terekstraksi. Hal ini ditunjukkan oleh pendapat Weast (1992) yang menyatakan bahwa klorofil mudah larut dalam pelarut ethanol. Adapun lilin yang dihasilkan pelarut heksana berwarna kuning muda.

Tabel 2. Sidik ragam rendemen lilin

Table 2. Analysis of variance of wax yields

Sumber (Source)	Derajat bebas (Degree of freedom)	Kwadrat jumlah (Sum square)	Kwadrat tengah (Mean square)	Fhitung (F _{calculation})
Pelarut (Solvent)	2	0.38256344	0.191281720	924.35 **
Umur daun (Age of needles)	2	0.00545144	0.002725272	13.31 **
Interaksi (Interaction)	4	0.01438089	0.003595220	17.56 **
Galat (Error)	9	0.00184250		

** Sangat nyata (Highly significance), $P < 0.01$.

Tabel 3. Hasil uji Beda Nyata Terkecil nilai rata-rata rendemen lilin pada tingkat kepercayaan 5 %

Table 3. LSD test for means of wax yields at an 5 % confident level

	Pelarut (Organic solvents)		
	Chloroform	n-Hexane	Ethanol
Nilai rata-rata (Means value)	0.34983	0.0680	0.0190
	Umur daun pinus (Age of pine needles)		
	Daun primer (Primary)	Daun sekunder (Secondary)	Daun campuran (Mixture)
Nilai rata-rata (Means value)	0.12183	<u>16300</u>	<u>0.15200</u>

Keterangan (Remark) :

Tanda garis bawah menunjukkan tidak berbeda nyata (Underline sign indicates that there is no significant difference)

Hasil analisis statistik menunjukkan bahwa jenis pelarut, umur daun pinus dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen lilin yang dihasilkan (Tabel 2). Pelarut kloroform menghasilkan rendemen lilin tertinggi dibandingkan pelarut lainnya. Diantara daun pinus yang diekstraksi, daun pinus sekunder mengandung lilin tertinggi, namun hasil ini secara statistik tidak berbeda nyata dengan rendemen lilin yang diekstraksi dari daun pinus umur campuran (Tabel 3).

Herbin dan Robin (1968) menyebutkan bahwa lilin yang diekstraksi dari berbagai genera pinus kandungan kimia utamanya adalah ester lilin (wax ester) atau estolida (estolides), dimana senyawa ini sukar larut dalam pelarut heksana (Corrigan, *et al.* 1978). Daun pinus radiata menurut Franich (*et al.* 1978) ter-

Tabel 4. Komposisi kimia fraksi asam lilin pinus radiata (%)

Table 4. Chemical composition of acidic fractions of radiata pine wax (%)

Jumlah atom C (Carbon number)	Daun primer (Primary needles)	Daun sekunder (Secondary needles)
n-Asam Lemak (Fatty Acids)		
12	tr *	0.8
14	tr	tr
16	0.3	—
18	tr	—
20	—	—
22	—	—
24	—	—
26	—	—
28	0.7	1.4
30	0.4	1.9
32	tr	tr
ω-Hidroksi Asam Lemak (Hydroxy Fatty Acids)		
12	—	0.9
14	—	0.9
16	—	3.1
Asam Diterpena (Diterpene Acids)		
Asam pimarat (<i>Pimaric acid</i>)	tr	4.0
Asam isopimarat (<i>Isopimaric acids</i>)	1.0	12.6
Dehidroabietat (<i>Dehydroabietic</i>)	14.1	57.1
Asam hidroksi diterpena (<i>Hydroxy diterpene acids</i>)	6.9	17.3

Sumber (Source) : Franisch, *et al.* 1978

Keterangan (Remark) : * tr < 0.1 %

utama mengandung fraksi asam dan fraksi netral. Kedua senyawa ini komponen utamanya adalah ester lilin atau estolida. Rendahnya rendemen lilin yang dihasilkan oleh pelarut heksana ini karena rendahnya kadar senyawa lilin ester yang dapat diekstrak oleh pelarut tersebut. Dilain pihak rendemen lilin yang diperoleh dari ekstraksi dengan pelarut kloroform banyak mengandung ester lilin karena senyawa ini larut dalam pelarut kloroform (Corrigan, *et al.* 1978). Oleh karena itu dapat dimengerti rendemen lilin hasil ekstraksi dengan pelarut kloroform lebih tinggi dibandingkan dengan rendemen lilin yang dihasilkan oleh pelarut heksana. Disamping itu Corrigan (*et al.* 1978) juga menyebutkan bahwa lilin yang diekstraksi dengan pelarut heksana mengandung non-estolida (non-estolide), terutama mengandung senyawa alkana. Senyawa ini yang mungkin menyebabkan lilin berwarna kuning.

Rendemen lilin kasar rata-rata yang diekstraksi dari daun pinus umur satu tahun atau kurang (daun primer), daun umur dua tahun atau lebih (daun sekunder) dan daun campuran umur keduanya dengan pelarut kloroform berturut-turut adalah 0,27 %, 0,40 % dan 0,38 % berdasarkan berat segar daun. Hasil ini sedikit lebih besar bila dibandingkan rendemen lilin yang dihasilkan oleh Franich (*et al.* 1978)

Tabel 5. Komposisi kimia alkil ester lilin daun primer dan sekunder
Table 5. Chemical composition of alkyl esters of the primary and secondary pine needle waxes.

Jumlah atom C (Carbon number)	Daun primer (Primary needles)		Daun sekunder (Secondary needles)	
	n-asam lemak (fatty acids), %	n-alkanol, %	n-asam lemak (fatty acids), %	n-alkanol, %
12	1.2	2.4	20.0	2.5
14	2.0	2.3	9.3	3.5
16	2.8	4.6	13.4	-
18	1.3	3.9	14.1	3.2
20	3.9	12.7	7.4	-
22	0.8	2.3	1.9	1.3
24	3.2	4.7	2.2	7.2
26	7.2	15.2	3.1	7.4
28	5.1	10.8	4.4	14.1
30	30.2	24.3	8.8	18.5
32	42.6	16.9	11.3	21.9
34	-	-	4.0	-

Sumber (Source): Franich *et al.* 1978.

yang berkisar antara 0,20 - 0,30 %. Perbedaan ini mungkin disebabkan oleh perbedaan kadar air dari bahan yang diekstraksi. Seperti yang telah disebutkan dimuka bahwa lilin kasar yang diperoleh dari daun pinus umur 2 tahun atau lebih secara statistik tidak berbeda dengan yang diperoleh dari daun pinus umur campuran. Berdasarkan hasil tersebut untuk ekstraksi lilin dengan menggunakan pelarut kloroform, umur daun pinus tidak menjadi pertimbangan, artinya daun pinus yang dijadikan sebagai bahan baku dapat diambil dari berbagai kelas umur daun mau pun umur pohon.

Lilin daun pinus primer mengandung 14 % fraksi asam dan 86 % fraksi netral (Franisch, *et al.* 1978). Fraksi asam mengandung normal asam 78 % dan asam diterpena 22 %, dimana komponen utamanya adalah asam dihidroabietat. Sejumlah kecil asam pimarat dan asam isopimarat bersama dengan campuran senyawa asam diena dan lainnya terdapat didalam fraksi asam tersebut. Sedangkan fraksi netral terdiri dari 25 % alkil ester yang mengandung normal asam lemak dan alkanol. Kandungan ester lilin atau estolida ini hanya 8 %, yang mengandung normal asam lemak, hidroksi asam lemak dan α,ω diol. Ada pun lilin yang diperoleh dari daun sekunder mengandung 14,5 % fraksi asam yang mempunyai kandungan komponen kimia sama dengan daun primer. Ada pun fraksi netral mengandung 85,5 % senyawa alkil ester, 7 % asam netral, 2 % free-nona cosano-10-ol, dan campuran heptakosana-diol dan heptakosana serta estolida 90 %, yang mengandung normal asam lemak, hidroksi asam lemak dan α,ω diol. Komposisi kimia fraksi asam dan alkil ester dari lilin yang diperoleh dari daun primer dan sekunder dapat dilihat pada Tabel 4 dan 5.

Estolida atau lilin ester mengandung n-asam lemak, ω -hidroksi asam lemak, n-alkanol dan α,ω -diol. Normal asam lemak terdiri dari 16,47 % senyawa asam linolenat (C₁₂), 0,93 % asam miristat (C₁₄), 0,08 % asam palmitat (C₁₆) dan 0,05 % asam stearat (C₁₈). Sedangkan Omega hidroksi asam lemak terdiri dari

25,77 % senyawa hidroksi asam linolenat (C₁₂), 13.83 % hidroksi asam miristat (C₁₄) dan hidroksi asam palmitat (C₁₆). Kedua jenis senyawa n-asam lemak dan ω -hidroksi asam lemak ini merupakan bahan baku dalam pembuatan hormon pertumbuhan tanaman.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Jenis pelarut dan umur daun pinus dan interaksi keduanya berpengaruh sangat nyata terhadap rendemen lilin yang dihasilkan. Dibandingkan dengan kombinasi perlakuan lainnya, kombinasi perlakuan pelarut kloroform dan daun pinus sekunder menghasilkan rendemen tertinggi. Rendemen lilin yang diperoleh dari daun sekunder ini secara statistik tidak berbeda nyata dibandingkan dengan rendemen lilin yang dihasilkan oleh daun pinus campuran primer dan sekunder.

Dari penelitian ini dapat diketahui bahwa daun pinus campuran merupakan bahan baku yang cukup baik untuk ekstraksi lilin. Sedangkan pelarut organik yang terbaik adalah chloroform, namun demikian ekstraksi dengan pelarut ini memerlukan penelitian lebih lanjut untuk menghilangkan klorofil yang terikut selama ekstraksi. Jenis pelarut ini perlu dicoba untuk mengekstraksi lilin dari daun *Pinus merkusii*. Untuk memperoleh senyawa n-asam lemak dan ω -hidroksi asam lemak dari lilin ini, yang dapat digunakan sebagai bahan baku dalam pembuatan hormon pertumbuhan tanaman, senyawa ini perlu dipisahkan dari lilin dengan menggunakan metode kromatografi cairan kinerja tinggi.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous, 1985. SAS/STAT User's Guide, Version 6, Fourth Edition. Volume I. SAS Institut, Inc., Cary, NC, USA.
- Corrigan, D., R.F., Timoney, and M.X., Donnelly, 1978. n-Alkanes and ω -Hydroxy Alkanoic Acids from the Needles of Twenty-eight *Picea* species. *Phytochemistry*, 17:907 - 910.
- Franich, R.A., L.G. Wells and J.R. Barnett, 1977. Variation with Tree Age of Needles Cuticle Topography and Stomatal Structure in *Pinus Radiata* D. Don. *Annual Botany*, 41: 621- 626.
- Franich, R.A., L.G. Wells and P.T. Holland, 1978. Epicuticular Wax of *Pinus Radiata* Needles. *Phytochemistry*, 17: 1617- 1623.
- Herbin, G.A. and P.A. Robin, 1968. Studies on Plant Cuticular Waxes-III. The leaf wax alkanes and ω -hydroxy acids of some members of the Cupressaceae and Pinaceae. *Phytochemistry*, 7: 1325-337.
- Herbin, G.A. and K. Sharma, 1969. Studies on Plant Cuticular Waxes-V. The wax coatings of pine needles: A taxonomic survey. *Phytochemistry*, 8: 151-160.

- Kolattukudy, 1975. Biochemistry of Cutin, Suberin and Waxes, The Lipids Barriers on Plants. In: Galliard T and E.I. Mercer: Recents Edvances in The Chemistry and Biochemistry of Plant Lipids. Academic press, New York.
- Linskens, H.F. and J.F. Jackson, 1991. Essential Oils and Waxes. Modern Methods of Plants Analysis. New Series volume 12. Spinger Verlag, Berlin.
- Misra, S., A.K. Datta, S.C.A. Choudhury and A. Ghosh, 1987. Hydro-carbons and Wax Eesters from Seven Species of Mangrove Leaves. *Phytochemistry*, 26: 3265-3268.
- Tulloch A.P. and R.O. Weenink, 1969. Composition of The Leaf Wax of Little Club Wheat. *Canadian Journal Chemistry*, 47: 3119-3126.
- Tulloch A.P. and L. Bergter, 1981..Epicuticular Wax of *Juniperus scopu-lorum*. *Phytochemistry*, 20: 2711-2716.
- Weast, R. C., 1992. CRC Handbook of Chemistry and Physics. 73rd edition. CRC Press, Cleveland, Ohio. USA.