

**AKTIVITAS LARVASIDA MINYAK ATSIRI PADA DAUN SIRIH (*Piper betle* Linn)
TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti***

**I Made Oka Adi Parwata¹⁾, Sri Rahayu Santi¹⁾, I Made Sulaksana¹⁾,
dan Ida Ayu Alit Widiarthini²⁾**

¹⁾*Laboratorium Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbaran*
²⁾*bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana, Denpasar*

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang isolasi, uji aktivitas larvasida minyak atsiri pada daun sirih (*Piper betle* Linn), terhadap Larva Nyamuk *aedes aegypti*. Sebanyak 10,0 kg daun sirih segar didestilasi uap menghasilkan 13,5 mL minyak atsiri berwarna kuning muda, dengan berat jenis 0,7148 g/mL. Uji fitokimia menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih positif mengandung terpenoid dan senyawa fenol. Uji aktivitas larvasida terhadap larva nyamuk *aedes aegypti* menunjukkan hasil positif (toksik) dengan $LC_{50} = 309,03$ ppm. Hal ini diduga karena kandungan senyawa-senyawa fenol pada minyak atsiri daun sirih seperti eugenol dan kavicol.

Analisis GC-MS menunjukkan bahwa dalam minyak atsiri mengandung 15 puncak namun setelah di analisis ternyata mengandung 9 komponen senyawa, antara lain 4-metil(1-metiletil)-3-sikloheksen-1-ol, 1-metoksi-4(1-propenil) benzene, 4-(2-propenil)fenol/kavicol, 4-alilfenilasetat, Eugenol, Karyofilen, 3-alil-6-metoksifenilasetat, 4-alil-1,2-diasetoksibenzena dan dekahidro-4a-metil-1-metilen-7(1-metiletenil) naftalena.

Berdasarkan intensitas puncak kandungan minyak atsiri daun sirih didominasi oleh 4 komponen senyawa yaitu 4-allyl phenil acetate, 2 metoksi-4-(2 propenil) fenol/eugenol, 3-allyl-6-methoksi phenil asetat, 4-(2-prophenyl)-phenol / kavicol. Keempat senyawa ini diduga berperan aktif/sangat besar dalam aktivitasnya sebagai senyawa yang membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* karena merupakan senyawa fenol dan asetat.

Kata kunci : larvasida, minyak atsiri, daun *Piper betle* (Linn), larva *Aedes aegypti*, LC_{50}

ABSTRACT

Isolation and larvacide activity of essential oil from *Piper betle* Linn were studied. Approximately 13,5 mL of essential oil was obtained from 10,0 kg fresh leaves of *Piper betle* Linn. The oil is pale yellow with density of 0,7148 g/mL. Phytochemical test indicates that the content of the oil are terpenoid and phenol compounds with toxicity *Aedes aegypti* larvae of $LC_{50} = 309,03$ ppm. The essential oil was toxic towards *Aedes aegypti* larvae because it contains phenol compounds, i.e. Eugenol, cavichol.

GC-MS analysis reveals that there are 9 compound, i.e. 4-methyl(1-methylnethyl)-3-cyclohexen-1-ol, 1-methoxy-4(1-propenyl) benzene, 4-(2-propenyl)phenol/cavicol, 4-allylphenylacetate, Eugenol, Karyofilen, 3-allyl-6-methoxyphenylacetate, 4-allyl-1,2-diacetoxybenzene and decahydro-4a-methyl-1-methylene-7(1-methylethenyl) naphthalene.

Based on the peaks intensity the oil was dominated by 4 compounds i.e. 4-allyl phenyl acetate, 2 methoxy-4-(2 propenyl) phenol/eugenol, 3-allyl-6-methoxy phenyl acetate, 4-(2-prophenyl)-phenol / cavicol. These four compounds probably act as the active compounds to kill *Aedes aegypti* larvae, as they are acetate and phenol compounds.

Keywords : larvacide, essential oil, *Piper betle* Linn.leaf, *Aedes aegypti* larvae, LC_{50}

PENDAHULUAN

Pemeliharaan dan pengembangan pengobatan tradisional sebagai warisan budaya bangsa terus ditingkatkan dan didorong pengembangannya melalui penggalan, penelitian, pengujian dan pengembangan serta penemuan obat-obatan, termasuk budidaya tanaman obat tradisional yang secara medis dapat dipertanggungjawabkan (GBHN, 1993).

Berdasarkan amanah GBHN tahun 1993 bidang kesehatan tersebut di atas maka secara umum dapat diformulasikan 5 masalah obat tradisional yaitu : etnomedisin, agroindustri tanaman obat, iptek kefarmasian dan kedokteran serta industri obat, teknologi kimia dan proses, pembinaan dan pengawasan produksi atau pemasaran bahan dan produk obat tradisional. (Heyne, 1987; Noor, *et al.*, 1997).

Pengembangan potensi sumber bahan (tumbuhan/tanaman) obat tradisional untuk mendapatkan zat-zat kimia atau bahan baku obat baru (teknologi kimia dan proses) dapat dilakukan melalui eksplorasi keanekaragaman hayati hutan yang dimiliki Indonesia maupun budidaya tanaman obat (agroindustri tanaman obat). Tanaman sebagai bahan baku untuk obat mempunyai ciri-ciri yang khusus dan kompleks. Hal ini disebabkan karena tumbuhan obat memiliki kandungan komponen aktif yang banyak jenisnya, dan berbeda kadarnya. Hal ini dipengaruhi oleh faktor iklim dan lingkungan. Setiap tanaman berinteraksi dengan organisme lain dan dalam proses evolusi telah terjadi adaptasi untuk mempertahankan keberadaan masing-masing spesies. Dalam interaksi ini tiap spesies dilengkapi dengan kemampuan untuk melakukan metabolisme sekunder dengan menggunakan metabolit primer sebagai prekursor. Dengan demikian, keanekaragaman hayati merupakan keanekaragaman plasma nutfah dan genetika serta berfungsi sebagai pustaka kimia alam yang sangat besar artinya bila didayagunakan secara maksimal, baik melalui proses isolasi (ekstraksi) maupun skrining bioaktivitasnya. Salah satu tanaman obat yang perlu dikembangkan adalah Tanaman Sirih (*Piper betle* Linn) (Heyne, 1987; Noor, *et al.*, 1997; Hardjono Sastrohamidjojo, 2004).

Sirih (*Piper betle* Linn) merupakan tanaman yang dikenal luas oleh masyarakat Indonesia, daerah Asia Selatan, dan Tenggara. Secara tradisional di Indonesia selain untuk upacara keagamaan, sirih juga digunakan sehari-hari untuk memelihara higienitas oral dengan mengunyah daunnya, mengatasi bau badan dan mulut, sariawan, mimisan, gatal-gatal, koreng, untuk mengobati keputihan dan insektisida alami (Heyne, 1987; Noor, *et al.*, 1997; Hardjono Sastrohamidjojo, 2004; Sastroamidjojo, 1988; Dharmananda, 2004).

Derivate fenol (eugenol dan chavicol) yang terkandung dalam daun sirih berkhasiat antiseptik dan khususnya Kavikol diketahui mempunyai daya pembunuh bakteri lima kali fenol (Heyne, 1987; Hardjono Sastrohamidjojo, 2004; Dharmananda, 2004).

Penggunaannya dalam pengobatan gigi diasumsikan selain sebagai antibakteri, juga sebagai analgesik dan anti oksidan, sedangkan sebagai obat untuk keputihan diasumsikan sebagai obat anti jamur (Heyne, 1987; Dharmananda, 2004; Lei, *et al.*, 2003).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Harsel (1948), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sirih (*Piper betle* Linn) pada konsentrasi 100 ppm dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti*. Aktivitas ini diduga karena kandungan senyawa fenol dan derivatnya yang mencapai 30% pada ekstrak etanol maupun minyak atsiri daun sirih. (Heyne, 1987; Moeljanto, 2003). Hal ini dibuktikan pada senyawa-senyawa fenol dalam minyak atsiri yang diisolasi dari tanaman sereh wangi, daun kayu manis, daun selasih dan bunga lavender aktif sebagai anti larvasida terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Adapun penelitian ini ditujukan untuk membuktikan adanya efek larvasida minyak atsiri daun *Piper betle* Linn secara invitro terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*. Jika efek ini positif selanjutnya dapat ditelusuri kadar efektif minyak atsiri sebagai anti larvasida dalam sediaan dan dikembangkan lebih lanjut bentuk sediaan obat untuk mengatasi Demam Berdarah.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan bahan yang digunakan pada penelitian ini antara lain : daun sirih, NaCl, CaCl₂, DMSO, Metanol p.a, FeCl₃, dan Pereaksi Leiberman Burchard.

Peralatan

Peralatan yang digunakan pada penelitian ini yakni : seperangkat alat destilasi uap, gelas ukur, labu ukur, pipet tetes, dan mikro pipet.

Cara Kerja

Isolasi Minyak Atsiri dengan Metoda Destilasi Uap

Sepuluh kilogram daun sirih yang sudah dipotong kecil-kecil, dimasukkan ke dalam alat destilasi uap. Destilat yang diperoleh merupakan campuran antara air dan minyak, selanjutnya minyak atsiri dipisahkan dengan menambahkan NaCl agar minyak atsiri yang teremulsi terpisah dengan air yang dibuktikan dengan terbentuknya dua lapisan yaitu fase air dan fase minyak. Fase minyak yang diperoleh dipisahkan selanjutnya ditampung dan ditambahkan CaCl₂ untuk menyerap air yang masih tersisa atau ikut dalam fase minyak selama lebih kurang 24 jam. Selanjutnya fase minyak dipisahkan dengan CaCl₂ dengan cara dekantasi. Minyak atsiri yang diperoleh selanjutnya dipergunakan untuk uji fitokimia, uji aktivitas larvasida dan analisis komponen-komponennya dengan GC-MS (Paolo, 1992; Silverstein, *et al*, 1981).

Uji aktivitas Larvasida

Minyak atsiri diuji toksisitasnya terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Umur larva yang digunakan berumur 48 jam dan sampel di uji pada konsentrasi 0 ppm, 10 ppm, 100 ppm dan 1000 ppm, selanjutnya ditentukan LC₅₀ (konsentrasi yang menyebabkan kematian 50% larva nyamuk). Bila hasil penelitian menunjukkan harga LC₅₀ lebih kecil dari 1000 ppm, maka sampel atau zat yang di uji bersifat toksik.

Tahapan uji toksisitas yang dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Telur nyamuk *Aedes aegypti* dibiakkan dalam media yang berisi air,
2. Telur dari nyamuk *Aedes aegypti* terus disimpan pada tempat yang lembab sampai telur menetas menjadi larva dan siap digunakan dalam pengujian,
3. Sepuluh vial (botol kecil) disiapkan untuk proses pengujian, dimana untuk masing-masing konsentrasi dibutuhkan 9 botol (pengulangan 3 kali) dan 1 (kontrol). Minyak atsiri ditimbang 0,1 gram, kemudian dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a. Dari larutan ini dipipet masing-masing sebanyak 1000 µL, 100 µL, 10 µL. Masing-masing dimasukkan kedalam botol kecil dan pelarutnya diuapkan selama 24 jam. Selanjutnya ke dalam masing-masing botol dimasukkan 2 mL air, 100 µL DMSO, 10 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* dan ditambahkan air sampai volumenya 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 10, 100, dan 1000 ppm,
4. Untuk kontrol, ke dalam botol kecil dimasukkan 100 µL methanol p.a. kemudian diuapkan selama 24 jam, selanjutnya dimasukkan 100 µL DMSO, 10 ekor larva nyamuk *Aedes aegypti* dan air sampai volumenya menjadi 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi 0 ppm,
5. Pengamatan terhadap kematian larva nyamuk dilakukan setelah 24 jam,
6. Analisis data dilakukan untuk mencari konsentrasi kematian (LC₅₀).

Uji Fitokimia Minyak Atsiri

Minyak Atsiri diuji fitokimia terhadap golongan senyawa fenolat dan terpenoidnya. Uji golongan senyawa fenolat diuji dengan FeCl₃ 1%, uji positif bila terjadi perubahan warna dari kuning menjadi biru tua. Uji golongan senyawa terpenoid diuji dengan Pereaksi Leibermann – Burcard, uji positif bila terjadi perubahan warna dari kuning menjadi merah / ungu (Paolo, 1992).

Analisis/Identifikasi Minyak Atsiri dengan GC-MS

Minyak Atsiri yang diperoleh di analisis komponen-komponen yang dikandungnya dengan GC-MS yang mana dalam hal ini akan diperoleh spectra GC yang merupakan total ion

kromatogram atau puncak-puncak kromatogram dari komponen senyawa yang ada dalam minyak atsiri sedangkan spectra MS akan diperoleh Mr atau Massa Molekul Relatif dari komponen-komponen senyawa dalam minyak atsiri serta fragmentasi ion-ionnya (Silverstein, *et al.*, 1981).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Minyak Atsiri yang diperoleh positif mengandung senyawa fenolat dan terpenoid. Hal

ini ditunjukkan dengan uji positif untuk FeCl_3 yaitu terjadinya perubahan dari kuning menjadi biru tua dan dengan Pereaksi L-B terjadi perubahan dari kuning menjadi merah muda. Uji larvasida positif menunjukkan bahwa minyak atsiri positif toksik atau bersifat toksik terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, karena diperoleh LC_{50} lebih kecil dari 1000 ppm yaitu sebesar 309,03 ppm dengan perolehan data seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas Larvasida Minyak Atsiri Daun Sirih

Fraksi	Pengulangan	Larva yang mati			
		0 ppm	10 ppm	100 ppm	1000 ppm
Minyak Atsiri	1	0	3	7	10
	2	0	3	6	9
	3	0	2	7	10
$\text{LC}_{50} = 309,03 \text{ ppm}$					

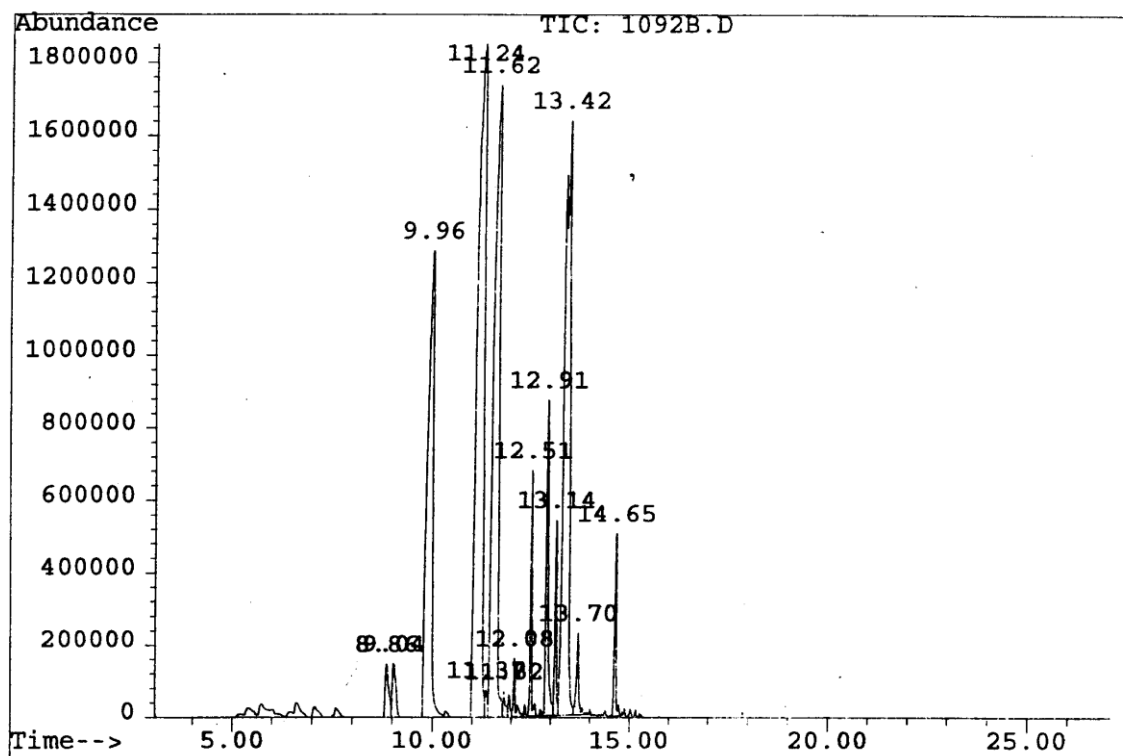
Analisis Komponen Senyawa dalam Minyak Atsiri dengan Metode GC-MS

Hasil analisis GS-MS menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih, *Piper betle*

(Linn) mengandung 15 komponen yang didominasi 4 komponen dengan intensitas (luas area) seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 1.

Tabel 2. Hasil Analisis Komponen Senyawa dalam Minyak Atsiri dengan Metode GC-MS

No.	Waktu retensi (t_R)	Intesitas/Luas Area	Mr	Senyawa
1.	11,24	11,24	176	4-Allyl phenil Acetate
2.	11,62	11,62	164	2-metoksi- 4-(2-prophenil) fenol/Eugenol
3.	13,42	13,42	206	3- Allyl-6-methoxy phenil acetate
4.	9,96	9,96	134	4-(2- prophenyl)-phenol/ kavikol



Gambar 1. Kromatogram Gas Minyak Atsiri *Piper betle* Linn

Kromatogram pada Gambar 1 memperlihatkan adanya 4 puncak dominan yaitu 2 puncak yang hampir sama tinggi dengan waktu retensi (t_R) masing-masing 11,24; 11,62; 13,42 dan 9,96 menit. Intensitas (luas area) masing-masing puncak secara berturut-turut 27,99%; 21,20%; 20,08% dan 15,47%.

Sesuai dengan teori komponen senyawa yang diduga dominan dapat membunuh larva nyamuk *Aedes aegypti* adalah Eugenol dan kavicol dimana derivate fenol (eugenol dan chavicol) yang terkandung dalam daun sirih berkhasiat antiseptik dan antilarvasida Kavicol diketahui mempunyai daya pembunuh bakteri / larva lima kali fenol (Jenie, *et al.*, 2001; Bhattacharya, S., *et al.*, 2005), sedangkan yang lainnya yang lainnya bersifat sinergis/mendukung daya bunuh terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. (Jenie, BSL; Andarwulan, N; Puspitasari-Nienaber, NL; Nuraida L, 2001; Bhattacharya S, *et al.*, 2005; Urquiaga, I; Leighton, F, 2000).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

1. Minyak atsiri daun sirih positif mengandung senyawa terpenoid dan senyawa fenol/derivatnya.
2. Minyak atsiri daun sirih dapat dinyatakan toksik karena $LC_{50} = 309,03$ ppm.
3. Hasil analisis GS-MS menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih, *Piper betle* (Linn) mengandung 15 komponen yang didominasi 4 komponen yaitu : 4-Allyl phenil acetat ($t_R = 11,24$); Eugenol (2-metoksi-4-(2-prophenil) fenol) ($t_R = 11,62$); 3- Allyl-6-methoxy phenil acetat ($t_R = 13,42$); dan 4-(2- prophenyl)-phenol atau kavicol ($t_R = 9,96$).

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang pemisahan masing-masing komponen minyak atsiri dengan destilasi fraksi sehingga

lebih jelas diketahui komponen mana yang mempunyai aktifitas yang paling tinggi dan apakah masing-masing komponen tersebut bersifat sinergis dalam menghambat pertumbuhan bakteri/jamur atau sebaliknya bersifat antagonis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Melalui Karya Tulis ini disampaikan ucapan terima kasih kepada Ketua Jurusan Kimia dan Dekan FMIPA atas segala sarana dan prasarana yang dipergunakan dalam penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Bhattacharya S, *et al.*, 2005, Radioprotective Property of the Ethanolic Extract of Piper betle Leaf, *J. Radiat. Res.*, 46 : 165-171
- Dharmananda S., 2004, New Additions To The Chinese Materia Medica I. Kava: Piper methysticum, Available: <http://www.itmonline.org/arts/kava.htm>, 17 Mei 2004
- Hardjono Sastroamidjojo, 2004, *Kimia Minyak Atsiri*, Cetakan ke-1, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta
- Heyne K, 1987. *Tumbuhan Obat berguna Indonesia* Jilid II, Cetakan ke-1, Badan Litbang Kehutanan, Yayasan Sarana Wana Jaya, Jakarta, h. 622-627
- Jenie, BSL., Andarwulan, N., Puspitasari-Nienaber, NL., Nuraida L., 2001, Antimicrobial Activity of Piper betle Linn extract towards foodborne pathogens and food spoilage microorganism, IFT Annual Meeting-New Orleans, Louisiana, http://ift.confex.com/ift/2001/techprogram/paper_9068.htm, 16 Pebruari 2007
- Lei D., Chan C. P., and Wang T. M., 2003, Antioxidative and Antiplatelet Effects of Aqueous Inflorescence Piper betle Extract, *J. Agric Food Chem*, 51 (7) : 2083-2088
- Paolo M., 1992, *Biosintesis Produk Alami*, a.b. Koensoemardiyah, IKIP Semarang Press, Semarang
- Sastroamidjojo S., 1988. *Obat Asli Indonesia*, P.T. Dian Rakyat, Jakarta, h. 498-501
- Silverstein, Bassler, and Morrill, 1981, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, John Willey and Sons, New York
- Turner, R. A., 1965, *Screening Method in Pharmacology* Vol I, Academic Press, New York and London, h. 100-117
- Urquiaga, I. and Leighton, F., 2000, Plat Polyphenol Antioxidant and Oxidative Stress, *Biol. Res.v.33n.2* Santiago 2000, http://www.scielo.cl/scielo.php?pid=S071697602000000200004&script=sci_arttext
- Noor C. Z., Wahjo D., dan Mulja H. S., 1997, *Proses Bahan Tanaman Menjadi Obat di Indonesia*, Surabaya