

**MINYAK ATSIRI DAUN TENGGULUN (*Protium javanicum* Burm.F.)
SEBAGAI REPELAN NYAMUK DEMAM BERDARAH (*Aedes aegypti*)**

Gusti Ayu Primandari Utami, Sri Rahayu Santi, dan Ni Made Puspawati

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Udayana, Bukit Jimbara

ABSTRAK

Daun tenggulun (*Protium javanicum* Burm.F.) secara tradisional banyak dimanfaatkan sebagai obat dan insektisida. Uji aktivitas minyak atsiri daun tenggulun sebagai repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* pada konsentrasi 7,5%, 15%, 20%, dan 40% dalam pelarut etanol 96% telah dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efektifitasnya. Minyak atsiri diperoleh dengan metode destilasi uap, sedangkan uji aktivitas menggunakan nyamuk *Aedes aegypti* betina dewasa. Isolasi 12 kg daun tenggulun segar menghasilkan 13,7 mL atau persentase hasil sebesar 0,07% (b/b) berwarna kuning muda, massa jenis sebesar 0,8774 g/mL dan berbau asam menyengat. Kromatogram gas dari minyak atsiri yang diperoleh mengindikasikan terdapat 13 komponen senyawa dan berdasarkan spektrum massa setiap puncak diduga senyawa tersebut adalah α -pinen (16,85%), mirsen (1,53%), α -felandren (45,34%), p-simen (5,60%), limonen (15,70%), β -osimen (0,34%), bisiklogermakren (1,61%), β -elemen (2,27%), β -kariofilen (7,90%), α -humulen (0,88%), germakren (1,50%), spatulenol (0,23%), dan kariofilen oksida (0,24%). Hasil analisis *One Way ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada setiap konsentrasi minyak atsiri selama 6 jam pengujian dan uji Tukey HSD menunjukkan kemampuan repelan konsentrasi 40% sebanding dengan kontrol positif pada awal pengujian sampai pengujian jam kelima. Empat dari senyawa tersebut yaitu α -pinen, mirsen, limonen dan β -kariofilen diketahui memiliki aktivitas sebagai repelan terhadap nyamuk.

Kata kunci: Daun *Protium javanicum* Burm.F., minyak atsiri, repelan, *Aedes aegypti*

ABSTRACT

Tenggulun leaves (*Protium javanicum* Burm.F.) have been used traditionally as a medicine and insecticide. Activity test of essential oils from Tenggulun leaves as repellent against *Aedes aegypti* was done at concentrations of 7.5%, 15%, 20%, and 40% in 96% ethanol to determine its effectiveness. The essential oils were obtained by steam distillation methods, while the repellent activity test was conducted using *Aedes aegypti* adult females. Isolation of 12 kg fresh tenggulun leaves using steam distillation yielded 0.07% yellowish oils (13.7 mL) with the density of 0.8774 g/mL and sour sting smell. Gas chromatogram of the essential oils indicated that there were 13 compounds and identification of each compounds based on their mass spectra suggested that the compounds were α -pinene (16.85%), myrcene (1.53%), α -phellandrene (45.34%), p-cymene (5.60%), limonene (15.70%), β -ocimen (0.34%), bicyclogermacrene (1.61%), β -elemene (2.27%), β -caryophyllene (7.90%), α -humulene (0.88%), germacrene (1.50%), spathulenol (0.23%), caryophyllene oxide (0.24%). The repellent test result analyzed by *One Way ANOVA* indicated that at each concentration of the essential oils given showed significant differences during 6 hours treatment. Furthermore Tukey HSD test result showed that the essential oils at concentration of 40% revealed repellent activity which was comparable to positive control at the start of the test until the fifth hour of testing. Four of the compounds which are α -pinene, myrcene, limonene and β -caryophyllene have been known to have activity as repellent against mosquitoes.

Keywords: *Protium javanicum* Burm.F. leaves, essential oils, repellent, *Aedes aegypti*

PENDAHULUAN

Demam berdarah dengue (DBD) yang ditularkan melalui nyamuk *Aedes aegypti* merupakan penyakit tropis yang dapat menyebabkan gangguan pada pembuluh darah kapiler dan pada sistem pembekuan darah. *Aedes aegypti* bersifat diurnal sehingga faktor resiko penyebarannya sangat efektif pada siang hari (Gandahusada, dkk., 2000).

Perlindungan terhadap gigitan nyamuk dapat dilakukan dengan cara menghindari habitatnya, menggunakan pakaian yang terlindung, dan mengolesi bagian tubuh dengan senyawa penolak nyamuk atau repelan. Penggunaan repelan secara langsung tidak membunuh nyamuk, namun menolak kehadirannya yang disebabkan oleh bau yang menyengat (Novizan, 2002). Repelan nyamuk yang banyak digunakan oleh masyarakat adalah *N,N*-diethyl-*m*-toluamida (DEET) suatu senyawa hasil sintesis yang belakangan diketahui memberikan efek samping iritasi kulit. Selain itu penggunaan senyawa hidrokarbon terhalogenasi memiliki sifat toksik dan waktu peruraiannya yang relatif lama (Flint and Robert Vanden Bosch, 1995). Untuk mengurangi resiko efek samping dari bahan sintetik tersebut perlu dicari sumber bahan aktif repelan alternatif yang berasal dari tumbuhan.

Tenggulun (*Protium javanicum* Burm. F.) dari famili *Burseraceae* merupakan salah satu tumbuhan yang secara tradisional telah dimanfaatkan sebagai insektisida. *Protium bahiaum* dan *Protium heptaphyllum* diketahui memiliki aktivitas insektisida sebagai penolak serangga, dan minyak atsiri dari species tumbuhan ini terbukti sebagai repelan nyamuk (Rudiger, dkk., 2007). Menurut Guenther (2006) minyak atsiri dari berbagai jenis tumbuhan sangat potensial sebagai repelan nyamuk. Berdasarkan pendekatan kemotaksonomi dan pernyataan Guenther tersebut maka penelitian ini dilakukan untuk mengisolasi minyak atsiri daun tenggulun serta menguji aktivitas dan efektifitasnya sebagai repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti*.

MATERI DAN METODE

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun tenggulun (*Protium javanicum* Burm.F.) yang diambil di seputaran wilayah Bukit Jimbaran pada bulan Maret 2013. Identifikasi tentang taksonomi tumbuhan dilakukan di LIPI-UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya “Eka Karya” Bali. Bioindikator yang digunakan adalah nyamuk *Aedes aegypti* betina dewasa yang diperoleh di laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Unud. Sementara objek pengujian yang dilakukan adalah empat orang relawan yang berusia sekitar 21 tahun, sehingga diharapkan objek pengujian relatif homogen. Bahan-bahan kimia yang digunakan antara lain, larutan NaCl 10%, natrium sulfat anhidrat, etanol 96%, dan lotion antinyamuk kemasan yang mengandung DEET sebagai kontrol positif.

Peralatan

Peralatan yang digunakan meliputi seperangkat alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium, pisau, neraca analitik, botol vial, piknometer 10 mL, seperangkat alat destilasi, seperangkat alat Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM), *stopwatch*, *counter*, aspirator dan sangkar nyamuk.

Cara Kerja

Isolasi minyak atsiri dengan destilasi uap

Sebanyak 12 kg daun tenggulun segar dilakukan proses destilasi uap hingga diperoleh campuran air dan minyak atsiri. Diamkan beberapa saat dan minyak yang terpisah ditampung. Lapisan air yang masih bercampur minyak atsiri dilakukan *salting out* menggunakan larutan NaCl 10% dan minyak atsiri yang dihasilkan dari pemisahan di lapisan air ini digabung dengan minyak atsiri diperoleh sebelumnya. Minyak atsiri yang diperoleh kemudian ditambahkan natrium sulfat anhidrat untuk menghilangkan sisa-sisa air yang masih tertinggal dalam minyak atsiri (Guenther, 2006). Selanjutnya minyak atsiri dianalisis menggunakan kromatografi gas-spektroskopi massa dan diuji aktivitas repelannya terhadap nyamuk *Aedes aegypti*.

Analisis minyak atsiri dengan kromatografi gas-spektroskopi massa

Untuk mengetahui komponen senyawa dalam minyak atsiri daun tenggulun, maka dilakukan analisis dengan KG-SM. Sampel diinjeksikan pada alat KG-SM GCMS-QP2010S SHIMADZU, dengan kolom jenis DB-1 (diameter dalam 30 m x 0,25 mm). Temperatur kolom diatur pada suhu 70°C dengan tekanan 13,7 kPa. Temperatur injektor dan sumber ion (EI pada 70 eV) adalah 310 dan 250°C. Gas pembawa yang digunakan adalah Helium (He) dengan kecepatan alir 3 mL/menit dengan rasio kecepatan 73,0. Spektrum massa yang diperoleh dari minyak atsiri dibandingkan dengan spektrum massa dari senyawa pembanding yang diketahui dalam database WILEY229.LIB dan NIST62.LIB yang telah terprogram pada alat KG-SM.

Uji aktivitas repelan

Uji aktivitas repelan dilakukan di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana dengan menggunakan 6 kandang uji yang masing-masing berisi 30 ekor nyamuk *Aedes aegypti* betina dewasa hasil perbanyakan di laboratorium. Bahan uji yang digunakan terdiri atas lotion antinyamuk kemasan (kontrol positif), pelarut (kontrol negatif) dan 4 konsentrasi minyak tenggulun dengan konsentrasi 7,5; 15; 20; dan 40%. Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan lengan yang telah diolesi minyak dalam kurungan nyamuk selama 5 menit dalam tiap jamnya dari jam ke-0 sampai jam ke-6, perlakuan diulang sebanyak 3 kali. Selanjutnya jumlah nyamuk yang hinggap pada lengan dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Xue, 2006):

$$DP = \frac{(K - R)}{K} \times 100\%$$

Dimana:

- DP : Daya Proteksi
 K : Banyaknya hinggap pada tangan control
 R : Banyaknya hinggap pada tangan perlakuan

Sampel dianggap efektif sebagai repelan apabila memiliki daya proteksi di atas 90% dan

mampu memberikan daya proteksi minimal selama 6 jam (Komisi Pestisida Departemen Pertanian, 1995).

Data hasil penelitian selanjutnya dianalisis secara statistik dengan menggunakan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui apakah suatu *variable* normal atau tidak. Jika distribusi data normal dengan $p > 0,05$, maka analisis dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* yang kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc study* dengan uji Tukey HSD untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai pengaruh sama atau berbeda satu dengan yang lainnya (Pramesiti, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

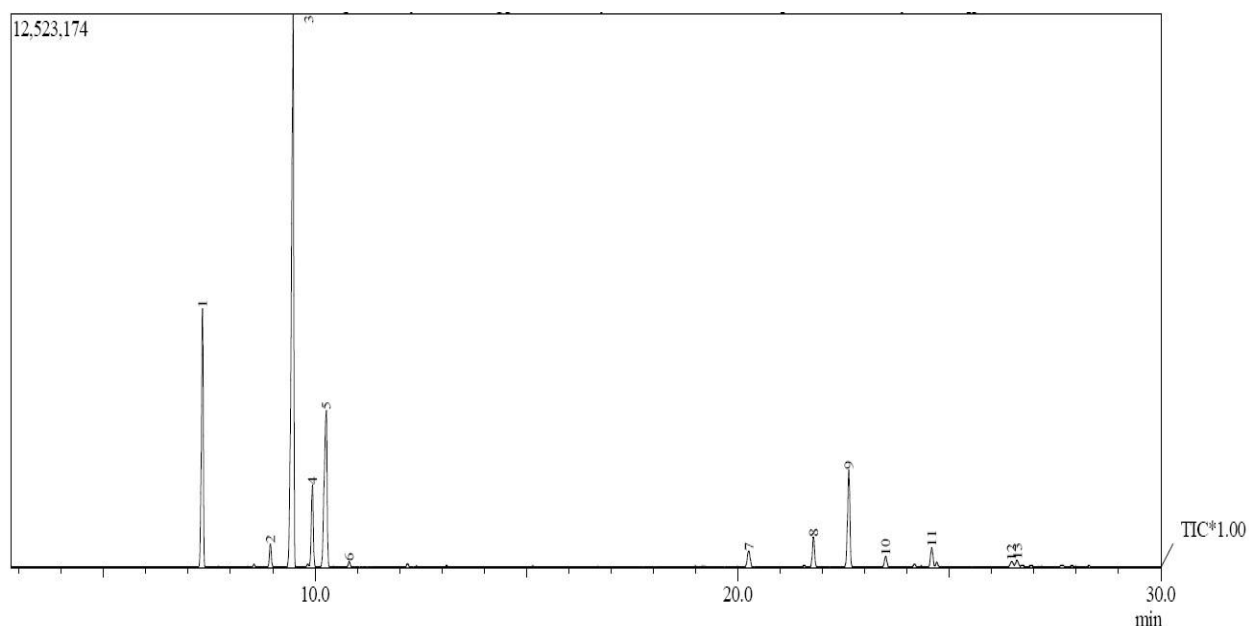
Isolasi minyak atsiri dengan destilasi uap

Minyak atsiri yang dihasilkan dari proses destilasi uap 12 kg daun tenggulun sebanyak 13,7 mL atau persentase hasil sebesar 0,07% (b/b), berwarna kuning muda, berbau asam menyengat, dan memiliki massa jenis sebesar 0,8774 g/mL.

Analisis minyak atsiri dengan kromatografi gas-spektroskopi massa

Hasil pemisahan tiap komponen minyak atsiri daun tenggulun dengan menggunakan KGSM ditunjukkan pada Gambar 1. Kromatogram menunjukkan adanya 13 puncak dengan waktu retensi (t_R) dan kelimpahan (%) berturut-turut sebagai berikut: puncak 1 t_R 7,339 menit (16,85%), puncak 2 t_R 8,944 menit (1,53%), puncak 3 t_R 9,482 menit (45,34%), puncak 4 t_R 9,939 menit (5,60%), puncak 5 t_R 10,265 menit (15,70%), puncak 6 t_R 10,809 menit (0,34%), puncak 7 t_R 20,258 menit (1,61%), puncak 8 t_R 21,788 menit (2,27%), puncak 9 t_R 22,623 menit (7,90%), puncak 10 t_R 23,495 menit (0,88%), puncak 11 t_R 24,583 menit (1,50%), puncak 12 t_R 26,467 menit (0,23%), puncak 13 t_R 26,604 menit (0,24%).

Spektrum massa setiap puncak berdasarkan pendekatan database WILEY229.LIB dan NIST62.LIB yang sudah terintegrasi dalam KGSM, maka dapat diduga senyawa-senyawa penyusun minyak atsiri daun tenggulun seperti dicantumkan dalam Tabel 1.



Gambar 1. Kromatogram Minyak Atsiri Daun Tenggulun

Tabel 1. Dugaan Senyawa-Senyawa Penyusun Minyak Atsiri Daun Tenggulun berdasarkan Database WILEY229.LIB dan NIST62.LIB

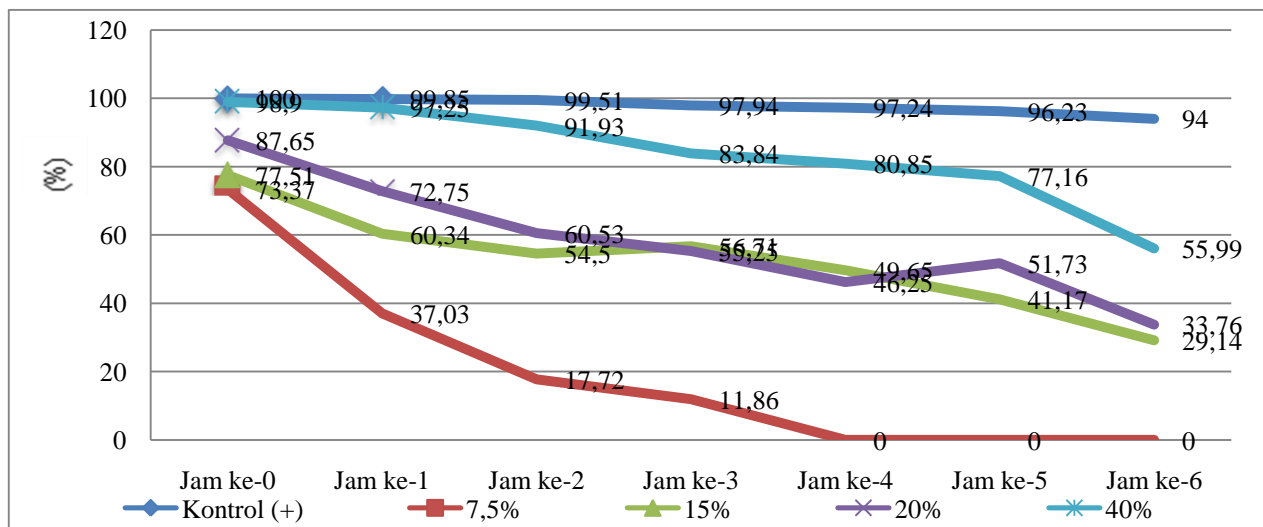
No.	Puncak Senyawa	Waktu Retensi	% Area	M ⁺	Senyawa Dugaan	Golongan Senyawa
1	Puncak 1	7,339	16,85	136	α -pinen	Monoterpen
2	Puncak 2	8,944	1,53	136	Mirsen	Monoterpen
3	Puncak 3	9,482	45,34	136	α -felandren	Monoterpen
4	Puncak 4	9,939	5,60	134	p-simen	Monoterpen
5	Puncak 5	10,265	15,70	136	Limone	Monoterpen
6	Puncak 6	10,809	0,34	136	β -osimen	Monoterpen
7	Puncak 7	20,258	1,61	204	Bisiklogermakren	Seskuiterpen
8	Puncak 8	21,788	2,27	204	β -elemen	Seskuiterpen
9	Puncak 9	22,623	7,90	204	β -kariofilen	Seskuiterpen
10	Puncak 10	23,495	0,88	204	α -humulen	Seskuiterpen
11	Puncak 11	24,583	1,50	204	Germakren	Seskuiterpen
12	Puncak 12	26,467	0,23	220	Spatulenol	Seskuiterpen
13	Puncak 13	26,604	0,24	220	kariofilen oksida	Seskuiterpen

Berdasarkan dugaan senyawa yang terdapat dalam daun tenggulun yaitu: α -pinen, mirsen, limonen, dan β -kariofilen diketahui mempunyai aktivitas sebagai penolak nyamuk (Vongsombath, dkk., 2012). Senyawa α -pinen dan limonen merupakan senyawa organik dari golongan terpen yang bersifat aromaterapi dan

dapat melegakan membran mukus dalam saluran pernafasan. Senyawa ini juga menyebabkan minyak terasa hangat dan wangi, namun aroma wanginya tidak disukai oleh serangga termasuk nyamuk (Kardinan A., 2005).

Tabel 2. Rata-Rata Potensi Repelan Minyak Atsiri Daun Tenggulun

Jam ke-	Kontrol (+) (%)	Konsentrasi Minyak Daun Tenggulun (%)			
		7,5%	15%	20%	40%
0	100	73,77	77,51	87,65	98,90
1	99,85	37,03	60,34	72,75	97,25
2	99,51	17,72	54,50	60,53	91,93
3	97,94	11,86	56,71	55,25	83,84
4	97,24	4,65	49,65	46,25	80,85
5	96,23	3,05	41,17	51,73	77,16
6	94,00	0,57	29,14	33,76	55,99



Gambar 2. Grafik rata-rata potensi repelan

Uji aktivitas repelan

Penelitian dilanjutkan dengan melakukan uji potensi minyak atsiri daun tenggulun sebagai repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dengan 4 konsentrasi berbeda, yaitu konsentrasi 7,5%; 15%; 20%; dan 40% serta menggunakan lotion antinyamuk kemasan sebagai pembanding/kontrol positif. Dengan menggunakan nyamuk *Aedes aegypti* betina dewasa terhadap 6 orang relawan diperoleh jumlah rata-rata potensi repelan seperti ditunjukkan pada Tabel 2 dan Gambar 2.

Tabel 2 dan Gambar 2 menunjukkan bahwa minyak atsiri daun tenggulun memiliki aktivitas sebagai repelan, tapi terjadi penurunan daya proteksi selama 6 jam pengujian.

Hasil Analisis Data

Data daya proteksi repelan minyak atsiri pada semua kelompok uji selanjutnya diuji secara statistik yang diawali dengan menggunakan uji Kolmogorov-Smirnov untuk mengetahui distribusi data, dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA* serta uji Tukey HSD untuk mengetahui kelompok mana yang mempunyai pengaruh sama atau berbeda dengan yang lainnya. Hasil uji normalitas dengan Kolmogorov-Smirnov menunjukkan hasil $P > 0,05$ untuk semua konsentrasi yang berarti data terdistribusi normal dan dapat dilanjutkan dengan uji *One Way ANOVA*. Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan nilai $p < 0,05$ dari awal pengujian hingga pengujian jam keenam, sehingga H_0 ditolak

dan H_1 diterima yang artinya bahwa terdapat perbedaan bermakna antara daya proteksi pada jam ke-0 sampai jam ke-6 pada kelompok perlakuan. Hasil uji Tukey HSD pada pengujian jam ke-0 sampai jam ke-5 minyak atsiri konsentrasi 40% memiliki daya proteksi yang sebanding dengan kontrol positif. Hasil uji Tukey HSD pada jam keenam menunjukkan perbedaan daya proteksi yang signifikan setiap konsentrasi dibandingkan dengan kontrol positif. Penurunan kemampuan repelan minyak atsiri daun tenggulun kemungkinan disebabkan oleh penguapan karena manusia secara fisiologis mengeluarkan keringat yang dapat bercampur dengan repelan yang dioleskan sehingga merubah struktur repelan tersebut (Komisi Pesticida Departemen Pertanian, 1995). Berdasarkan hasil analisis data daya proteksi, maka dapat diketahui bahwa minyak atsiri daun tenggulun pada konsentrasi 40% efektif sebagai repelan serta berpotensi untuk dikembangkan sebagai repelan karena memberikan daya proteksi yang sebanding dengan kontrol positif.

Aktivitas minyak atsiri daun tenggulun sebagai repelan kemungkinan disebabkan karena adanya kandungan senyawa α -Pinen, Mirsen, Limonen, dan β -Kariofilen yang telah diketahui dapat menolak nyamuk (Vongsombath, dkk., 2012). “*Mode of action*” minyak atsiri daun tenggulun sebagai repelan karena minyak atsiri ini mengandung senyawa α -Pinen, Mirsen, Limonen, dan β -Kariofilen yang memiliki aroma yang khas dan mudah menguap. Senyawa ini akan ditangkap oleh antena nyamuk yang mengandung satu atau beberapa bipolar syaraf reseptor penciuman untuk mendeteksi bahan kimia dan untuk impuls syaraf. Syaraf ini menghantarkan impuls kimia dengan membawa informasi penciuman dari perifer ke lobus antena, yang merupakan tempat penghentian pertama dalam otak, kemudian masuk ke dalam sensillum melewati pori kutikula, dan aroma yang dihasilkan minyak atsiri melewati cairan *lymph* menuju dendrit kemudian berikatan dengan OBPs (protein ekstraseluler) dan melewati cairan *lymph*. Selain sebagai pembawa, OBPs juga bekerja melarutkan minyak atsiri dan bertindak dalam seleksi informasi penciuman. Ketika minyak atsiri yang berikatan dengan OBPs sampai di membran dendrit, maka aroma yang dihasilkan berikatan dengan reseptor transmembran untuk ditransfer ke permukaan membran intraseluler. Impuls elektrik

tersebut disampaikan ke pusat otak yang lebih tinggi dan berintegrasi untuk menimbulkan respon tingkah laku yang tepat, yaitu nyamuk akan menghindari aroma tersebut (Vogt, R.G., 2008 dalam Austin R., 2011).

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Campuran 13 senyawa dalam minyak atsiri memiliki aktivitas sebagai repelan nyamuk *Aedes aegypti*. Minyak atsiri daun tenggulun pada konsentrasi 40% efektif sebagai repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* yang sebanding dengan DEET 15% sebagai kontrol positif selama 5 jam. 4 dari 13 komponen senyawa dalam campuran tersebut yaitu α -pinen, mirsen, limonen dan β -kariofilen diduga berkontribusi utama sebagai repelan.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk meningkatkan daya proteksi minyak atsiri daun tenggulun dengan cara meningkatkan konsentrasi minyak atsiri yang digunakan sehingga dapat memberikan daya proteksi sesuai dengan persyaratan yang dikeluarkan oleh komisi pestisida atau memformulasikan minyak atsiri dalam bentuk lotion untuk menghambat menguapnya minyak atsiri atau sebagai obat nyamuk elektrik sehingga memberikan daya proteksi yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih kepada Bapak Ir. I Ketut Sumiarta, M.Agr. dan dr. Putu Ayu Asri Damayanti serta kepada semua pihak yang telah membantu demi kelancaran penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Apiwat, T., Steve D., Scott, R.R., Usavadee, T, and Yenchit, T., 2001, Repellency of Volatile Oils from Plants Against Three Mosquitoes Vectors. *Journal of Vector Ecology*, 26 (1) : 76-82.

- Austin R., 2011, Uji Potensi Ekstrak Bunga Kenanga (*Cananga odorate*) Sebagai Repellent Terhadap Nyamuk *Culex sp.*, *Skripsi*, Universitas Brawijaya, Malang
- Flint, M. L. and R. Van den Bosch., 1995, *Pengendalian Hama Terpadu*, a.b Kartini I. dan Jhon P., Kanisius, Yogyakarta
- Gandahusada, S., Herry D.I., dan Wita P., 2000, *Parasitologi Kedokteran*, Balai Penerbit FKUI, Jakarta
- Guenther, E., 2006, *Minyak Atsiri*, a.b. Ketaren, S., Universitas Indonesia Press, Jakarta
- Kardinan, A., 2005, *Tanaman Penghasil Minyak Atsiri Komoditas Wangi Penuh Potensi*, Agro Media Pustaka, Jakarta
- Komisi Pestisida Departemen Pertanian, 1995, *Metode Standar Pengujian Efikasi Pestisida*, Departemen Pertanian, Jakarta, h. 4, 9-95
- Novizan, 2002, *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*, Agro Media Pustaka, Jakarta
- Pramesti, G., 2007, *Aplikasi SPSS 15,0 Dalam Model Linier Statistika*, Elex Media Komputindo, Jakarta
- Rudiger, A. L., Siani, A. C., and Vega, J. V. F., 2007, The Chemistry and Pharmacology of the South America genus *Protium* Burm. F. (*Burseraceae*), *J. Pharmacognosy Review*, 1 (1) : 93-104
- Vongsombath, C., dkk., 2012, Mosquito (Diptera: Culicidae) Repellency Field Tests of Essential Oils from Plants Traditionally used in Laos, *Journal of Medical Entomology*, 49 (6) : 1398-1404
- Xue, R.D., Barnard, D.R., and Ali, A., 2006, Laboratory Evaluation of 21 Insect Repellents as Larvasides and Oviposition Deterrents of *Aedes*, *The American Mosquito Control Association*, 22 (1) : 126-130