

**AKTIVITAS REPELAN MINYAK ATSIRI KULIT BUAH JERUK
PONTIANAK (*Citrus nobilis* Lour.) TERHADAP NYAMUK *Aedes aegypti* L.
DENGAN METODE WHOPESES**

Qisti Rahmawati Husna, Mohamad Andrie, Sri Luliana
Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura

ABSTRAK

Repelan alami merupakan bahan yang aman digunakan untuk mencegah gigitan nyamuk sehingga dapat terhindar dari penularan penyakit seperti demam berdarah *dengue* (DBD). Penelitian ini dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas repelan dari minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. terhadap nyamuk *Ae. aegypti* L. Pengujian repelan dilakukan berdasarkan prosedur yang direkomendasikan oleh WHOPESES (*World Health Organization Pesticides Evaluation Scheme*). Minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. dibuat menjadi lima seri konsentrasi yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50% (v/v) yang diencerkan dengan etanol 70% dan diaplikasikan pada lengan bawah relawan. Nilai dosis efektif untuk daya proteksi sebesar 50% dan 99% (ED₅₀ dan ED₉₉) terhadap *Ae. aegypti* L. dihitung dengan analisis probit menggunakan aplikasi SPSS 18. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. memiliki aktivitas repelan terhadap *Ae. aegypti* L. dengan nilai ED₅₀ dan ED₉₉ masing-masing pada konsentrasi 16,55 dan 69,19% (v/v).

Kata kunci : repelan, minyak atsiri, kulit buah *C. nobilis* Lour., *Aedes aegypti* L., WHOPESES.

**REPELLENT ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL FROM PONTIANAK
ORANGE PEELS (*Citrus nobilis* Lour.) AGAINST *Aedes aegypti* L. USING
WHOPESES METHOD**

ABSTRACT

Natural repellent is a safe substance used to prevent mosquito bites to avoid the transmission of diseases such as dengue hemorrhagic fever (DHF). The aim of this study is to evaluate the repellent activity of essential oil from *C. nobilis* Lour. peels against *Ae. aegypti* L. Repellency tests were carried out following procedures recommended by WHOPESES (*World Health Organization Pesticides Evaluation Scheme*). Essential oil from *C. nobilis* Lour. peels was made with five serial concentrations, 10, 20, 30, 40 and 50% (v/v) which diluted in ethanol 70% and applied to the forearm of the volunteer. Effective dose for percent protection 50% and 99% (ED₅₀ and ED₉₉) against *Ae. aegypti* L. were calculated by probit statistic using SPSS 18. The result of this study showed that essential oil from *C. nobilis* Lour. peels has repellent activity against *Ae. aegypti* L. with values of ED₅₀ and ED₉₉ were 16.55 and 69.19% (v/v).

Keywords: repellent, essential oil, *C. nobilis* Lour. peels, *Aedes aegypti* L., WHOPESES.

PENDAHULUAN

Kalimantan Barat sebagian besar daerahnya merupakan dataran rendah dan daerah rawa sehingga menjadi tempat yang cocok untuk berkembangbiakan nyamuk.⁽¹⁾ Nyamuk merupakan vektor dari penyakit demam berdarah *dengue* (DBD) yang penularannya melalui nyamuk *Aedes aegypti* L.⁽¹⁾

Salah satu cara untuk mencegah penyebaran penyakit oleh nyamuk tersebut adalah dengan penggunaan repelan. Repelan yang banyak digunakan berbahan aktif *N,N*-diethyl-meta-toluamida (DEET). Namun, banyak laporan mengenai toksisitas DEET, mulai dari efek ringan, seperti urtikaria dan erupsi kulit, sampai pada reaksi berat, seperti *toxic encephalopathy*.⁽²⁾ Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian dan pengembangan repelan alami yang berasal dari tumbuhan.

Jeruk Pontianak merupakan jeruk khas dari Kalimantan Barat. Minyak atsiri dari kulit buah (*C. nobilis* Lour.) mengandung limonen (98,95%) dan mirsen (1,05%).⁽³⁾ Senyawa limonen diketahui memiliki aktivitas penghambat pertumbuhan larva, menghambat daya makan serangga (*antifeedant*), larvasida, antimikroba dan penolak serangga.⁽⁴⁾ Pengujian repelan dilakukan dengan metode WHOPES untuk mengetahui dosis efektif (ED₅₀ dan ED₉₉) minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. sebagai repelan terhadap nyamuk *Ae. aegypti* L.⁽⁵⁾

METODOLOGI PENELITIAN

Penelitian dilakukan di dua laboratorium berbeda. Proses penyulingan kulit buah *C. nobilis* Lour. dilakukan pada bulan Mei-Juni 2015 di Laboratorium Kimia, Fakultas MIPA, Universitas

Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat. Identifikasi minyak atsiri dan skrining fitokimia dilakukan pada bulan Juni-Agustus 2015 di Laboratorium Biologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat. Uji aktivitas repelan dilakukan pada bulan Juni-Juli 2015 di Laboratorium Entomologi Balai Litbang P2B2 (Pemberantasan Penyakit Bersumber Binatang) Tanah Bumbu, Kalimantan Selatan.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu alat destilasi uap, kandang pemeliharaan dari bahan besi 40x40x40 cm, kandang uji dari bahan plastik 25x25x25 cm, *stopwatch*, dan alat-alat gelas.

Bahan-bahan yang digunakan yaitu kulit buah *C. nobilis* Lour. segar diperoleh dari perkebunan jeruk Pontianak di Desa Mekar Sekuntum, Kecamatan Tebas, Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat, kertas saring Whatman No. 1, pakan hewan, larutan dekstrosa 10%, dan etanol 70%.

Penyulingan Minyak Atsiri

Kulit buah *C. nobilis* Lour. segar sebanyak 4,75 kg disuling menggunakan metode destilasi uap. Rendemen minyak atsiri yang dihasilkan sebesar 1,08% (b/b).

Identifikasi Minyak Atsiri

Uji pendahuluan meliputi uji organoleptik dan identifikasi umum. Uji organoleptik minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. berupa cairan jernih berwarna kekuningan dan memiliki bau yang segar serta aroma jeruk yang tetap terjaga. Identifikasi umum dilakukan dengan uji tetes pada permukaan air dan uji tetes pada kertas saring. Uji tetes di permukaan air menghasilkan minyak atsiri yang menyebar dan permukaan air tidak

keruh yang menunjukkan positif minyak atsiri. Uji tetes pada kertas saring menunjukkan positif minyak atsiri dimana tidak terdapat noda transparan pada kertas saring.⁽⁶⁾

Penetapan bobot jenis menghasilkan nilai sebesar 0,84 g/mL. Penetapan indeks bias menghasilkan nilai sebesar 1,47.

Skrining Fitokimia

Uji tabung menunjukkan hasil positif terpenoid dengan perubahan warna menjadi merah kehitaman.⁽⁷⁾

Uji KLT menunjukkan hasil positif terpenoid dengan penampakan bercak ungu kehitaman.⁽⁸⁾

Persiapan Larutan Uji

Larutan uji minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. dibuat lima seri konsentrasi, yaitu 10, 20, 30, 40 dan 50% diencerkan dengan etanol 70% dalam 10 mL.⁽⁵⁾

Pengujian Repelan

Pengujian aktivitas repelan dilakukan berdasarkan metode dari WHOPES (2009), minyak atsiri diaplikasikan pada lengan bawah relawan (pergelangan tangan hingga siku). Area kulit relawan dibersihkan, dibilas dengan air dan dikeringkan dengan handuk. Bagian telapak tangan ditutupi oleh sarung tangan. Dilakukan uji kesiapan nyamuk dengan menggunakan lengan kiri relawan sebagai kontrol negatif. Lengan kiri dioleskan dengan etanol 70%, dimasukkan ke dalam kandang pengujian yang berisi 50 ekor nyamuk *Ae. aegypti* L. dan diamati serta dicatat jumlah nyamuk yang hinggap dalam periode waktu 30 detik. Selama periode waktu tersebut, jika nyamuk yang hinggap >10 ekor maka pengujian dapat dilanjutkan pada kelompok uji. Setelah 30 detik lengan tersebut dikeluarkan dengan hati-hati dari kandang pengujian. Kemudian lengan yang sama diolesi

minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. dengan dosis paling rendah yaitu 10%. Lengan tersebut dimasukkan ke dalam kandang pengujian untuk diamati selama 30 detik. Selama pengujian, lengan uji diusahakan untuk tidak bergerak. Prosedur ini diulang pada lengan yang sama untuk minyak atsiri konsentrasi 20, 30, 40 dan 50%. Diakhir pengujian, dioleskan etanol 70% pada lengan kanan relawan kemudian dimasukkan ke dalam kandang pengujian yang sama untuk memastikan bahwa jumlah nyamuk yang hinggap pada lengan tersebut ≥ 10 ekor dalam periode waktu 30 detik. Uji dilakukan minimal dengan 3 kali pengulangan dilakukan pada hari yang berbeda. Nyamuk yang digunakan pada setiap ulangan berbeda dari sampel nyamuk yang digunakan pada pengujian sebelumnya.⁽⁵⁾

Analisis Data

Dihitung persentase daya proteksi :

$$PDP (\%) = \frac{\Sigma C - \Sigma T}{\Sigma C} \times 100\%$$

Ket :

PDP : Persentase Daya Proteksi

C : jumlah nyamuk yang hinggap pada lengan kontrol negatif

T : jumlah nyamuk yang hinggap pada lengan kelompok uji

Data dianalisis secara statistik menggunakan aplikasi SPSS 18 yaitu analisa regresi probit untuk menentukan ED₅₀ dan ED₉₉.

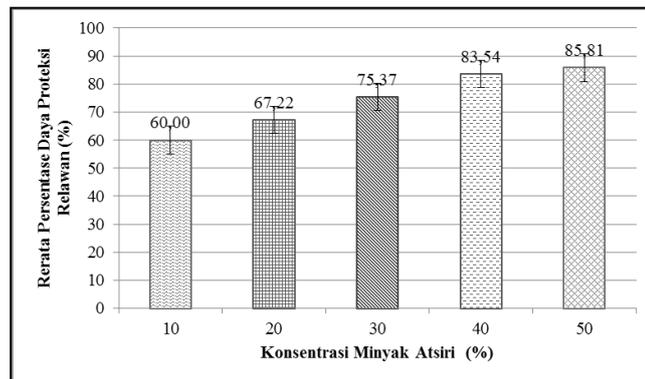
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini pada awalnya dilakukan untuk mengevaluasi aktivitas repelan dari minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. terhadap nyamuk *Ae. aegypti* L. dan nyamuk *Cx. quinquefasciatus* S. Namun setelah dilakukan berbagai orientasi diketahui bahwa nyamuk *Cx.*

quinquefasciatus S. sangat sensitif dan mudah mengalami stres jika berada dalam kondisi yang tidak sesuai habitatnya, sehingga memerlukan waktu orientasi yang lebih lama dan teknik yang khusus agar pengujian dapat dilakukan. Penelitian sebelumnya juga menyatakan bahwa nyamuk *Cx. quinquefasciatus* S. memiliki sensitivitas yang lebih tinggi terhadap minyak esensial jika dibandingkan dengan spesies nyamuk lainnya.⁽⁹⁾ Atas pertimbangan-pertimbangan tersebut, penelitian aktivitas repelan terhadap nyamuk *Cx. quinquefasciatus* S. tidak dapat dilanjutkan.

Data jumlah nyamuk yang hinggap pada lengan relawan dihitung persentase daya proteksinya,

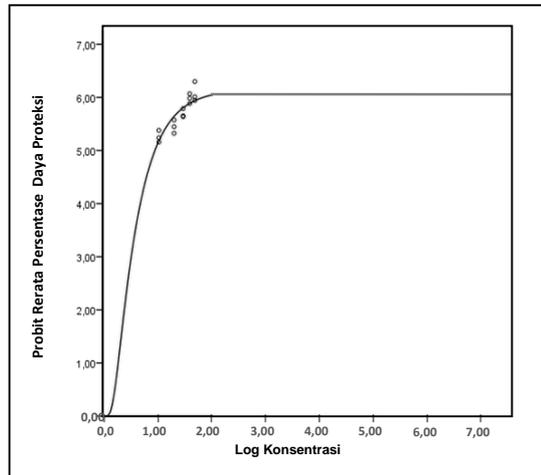
selanjutnya dianalisis dengan one-way ANOVA untuk mengetahui signifikansi antar kelompok uji. Hasil yang didapat menunjukkan nilai $p=0,00$ ($p<0,05$) yang artinya terdapat perbedaan bermakna daya proteksi minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. antar kelompok uji. Selanjutnya dilakukan uji *Post Hoc* untuk mengetahui perbedaan signifikansi konsentrasi antar kelompok uji. Hasil analisis statistik, diketahui terdapat perbedaan persen daya proteksi yang bermakna antar konsentrasi berikut: kontrol negatif dengan semua konsentrasi uji 10, 20, 30, 40 dan 50% (v/v). Hal ini membuktikan bahwa minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. memiliki aktivitas sebagai repelan.



Grafik 1. Grafik hubungan konsentrasi minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. terhadap persentase daya proteksi. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. akan memberikan persen daya proteksi terhadap nyamuk *Ae. aegypti* L. yang semakin besar pula.

Analisa statistik dilanjutkan dengan menggunakan regresi probit untuk mengetahui estimasi besar konsentrasi minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. yang memiliki daya proteksi terhadap nyamuk *Ae. aegypti* L. sebesar 50 dan 99% (ED_{50} dan ED_{99}). Hasil analisis regresi probit,

minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. memiliki daya proteksi terhadap nyamuk *Ae. aegypti* L. sebesar 50% (ED_{50}) pada konsentrasi 16,55%, sedangkan daya proteksi terhadap nyamuk *Ae. aegypti* L. sebesar 99% (ED_{99}) pada konsentrasi 69,19%.



Grafik 2. Grafik sigmoid hubungan antara log konsentrasi dan probit rerata persentase daya proteksi. Grafik sigmoid menunjukkan identitas dosis efektif minyak atsiri sebagai repelan terhadap nyamuk *Ae. aegypti* L. yaitu ED₅₀ dan ED₉₉.

Tanaman *C. nobilis* Lour. memiliki kandungan minyak atsiri pada bagian kulit buah yang berpotensi sebagai penolak serangga.⁽¹⁰⁾ Berdasarkan penelitian sebelumnya, identifikasi GC-MS menunjukkan bahwa minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. mengandung senyawa limonen (98,95%) dan γ -mirsen (1,05%).⁽¹¹⁾ Senyawa limonen merupakan senyawa yang terbukti memiliki aktivitas sebagai repelan.⁽¹²⁾ Cara minyak atsiri kulit buah *C. nobilis* Lour. bekerja sebagai repelan adalah minyak atsiri yang dioleskan merata di tangan relawan akan meresap ke pori-pori kulit, karena panas tubuh, minyak atsiri akan menguap ke udara. Bau minyak atsiri yang menguap ini akan terdeteksi oleh reseptor kimia (*chemoreceptor*) yang terdapat pada antena nyamuk dan diteruskan ke impuls saraf. Bau dari minyak atsiri tidak disukai nyamuk. Hal itulah yang kemudian diterjemahkan ke dalam otak nyamuk sehingga nyamuk akan mengekspresikan untuk menghindari dari sumber bau. Nyamuk memilih menghindari dan membatalkan arah dari lengan relawan, mencari sumber

makanan di tempat lain. Sehingga relawan akan terhindar dari gigitan nyamuk vektor.⁽¹³⁾

Kesimpulan

Minyak atsiri dari kulit buah *C. nobilis* Lour. menunjukkan aktivitas repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* L. dengan nilai ED₅₀ dan ED₉₉ masing-masing pada konsentrasi 16,55 dan 69,19%.

Daftar Pustaka

1. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan RI. Laporan hasil riset kesehatan dasar (RISKESDAS) provinsi Kalimantan Barat tahun 2007. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2009:24, 78.
2. Tawatsin, A., Asavadachanukorn, P., Thavara, U., Wongsingkongman, P., Bansidhi, J. Boonruad, T., Chavalittumrong, P., Soonthornchareonnon, N., Komalamisra, N., dan Mulla, M.S. Repellency of essential oils extracted from plants in thailand against four mosquito vectors

- (Diptera: Culicidae) and oviposition deterrent effects against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). Thailand: *Southeast Asian J Trop Med Public Health*; 2006; 37(5):916.
3. Lestari, A., dan Arreneuz, S. Uji bioaktivitas minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour) terhadap rayap tanah (*Coptotermes curvignathus* sp). Pontianak: *J. Kimia Khatulistiwa*; 2014; 3(2):38 – 43.
 4. Robinson T. Kandungan organik tumbuhan tinggi. Terjemahan oleh Kosasih Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB;1995:139-149.
 5. WHO. Guidelines for efficacy testing of mosquito repellents for human skin. Geneva: World Health Organization; 2009:1-30.
 6. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope Indonesia. Edisi III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1979: 21,143.
 7. Kristanti, AN., Aminah, NS., Tanjung, M., Kurniadi, B. Buku ajar fitokimia. Surabaya: Airlangga University Press; 2008:23, 47.
 8. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Farmakope herbal Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 2008:113-115.
 9. Phukerd, U., M Soonwera dan O. Wongnet. Repellent activity of essential oils from rutaceae plants against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say). Thailand: *Journal of Agricultural Technology*; 2013; 9(6):1585-1594.
 10. Fradin, M.S. Mosquitoes and Mosquito Repellents: A Clinician's Guide. *Ann Intern Med*. 1998; 128:931-940.
 11. Lestari, A., dan Arreneuz, S. Uji bioaktivitas minyak atsiri kulit buah jeruk Pontianak (*Citrus nobilis* Lour) terhadap rayap tanah (*Coptotermes curvignathus* sp). Pontianak: *J. Kimia Khatulistiwa*; 2014; 3(2):38-43.
 12. Nerio, L.S., Olivero-Verbel, J., and Stashenko, E. Repellent Activity of Essential Oils: A Review. *Bioresour Technol*, 2010; 101:372–378.
 13. Shinta. Potensi minyak atsiri daun nilam (*Pogostemon cablin* B.), daun babadotan (*Ageratum conyzoides* L), bunga kenanga (*Cananga odorata* hook F & Thoms) dan daun rosemary (*Rosmarinus officinalis* L) sebagai repelan terhadap nyamuk *Aedes aegypti* L. Jakarta: *Media Litbang Kesehatan*; 2012; 22(2):61 – 69.