

LAPORAN PENELITIAN



**AKTIVITAS BIOLARVASIDA NANOEMULSI MINYAK ATSIRI BALSAM
RASAMALA TERINDUKSI METIL JASMONAT**

Anne Carolina, S.Si., M.Si. (0024098104)

**INSTITUT PERTANIAN BOGOR
2024**

RINGKASAN

Liquidambar excelsa (Noronha) Oken, yang dikenal sebagai "rasamala", adalah spesies tanaman serbaguna, namun eksudat balsamnya masih kurang dimanfaatkan. Studi ini menyelidiki potensi balsam rasamala, yang diinduksi melalui metode mekanis-kimia dan disuling untuk menghasilkan minyak atsiri. Penelitian ini menganalisis komposisi kimianya dan mengevaluasi aktivitas larvasida terhadap *Aedes aegypti*. Induksi dengan 10% (v/v) metil jasmonat menghasilkan balsam rasamala sebanyak 19,18 gram. Hidro-distilasi balsam rasamala menghasilkan minyak atsiri dengan rendemen sebesar 5.33%. Emulsifikasi minyak atsiri dengan bantuan ultrasonikator dan Tween-20 serta gliserol menghasilkan nanoemulsi dengan sifat fisis dan organoleptis yang relatif stabil selama pengamatan 4 minggu. Komponen kimia yang terkandung di dalam minyak atsiri balsam rasamala terutama didominasi oleh Terpinen-4-ol (35.66%) dan Cinnamyl alcohol (9.39%) yang diduga berperan dalam aktivitas biologisnya. Nanoemulsifikasi mampu meningkatkan efikasi minyak atsiri sebagai larvasida *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} nanoemulsi lebih rendah dibandingkan minyak atsiri tanpa emulsifikasi.

BAB I PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG MASALAH

Demam Berdarah Dengue (DBD) masih menjadi salah satu isu kesehatan masyarakat di Indonesia. Kemenkes melalui Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit (Ditjen P2) mencatat hampir 53.131 kasus DBD di 213 Kabupaten/Kota di Indonesia dengan 404 kematian, per 26 Maret 2024 [1]. DBD merupakan penyakit demam akut yang dipicu oleh infeksi virus dengue anggota keluarga *Flavi viridae*, dimana manusia dapat terinfeksi DBD melalui gigitan nyamuk betina *Aedes albopictus* dan *Aedes aegypti*, pembawa virus dengue ini [2].

Sejauh ini, pengendalian nyamuk yang efektif masih sulit dilakukan [3] karena vaksin yang efektif melawan penyakit yang ditularkan oleh nyamuk belum tersedia, kecuali vaksin untuk melawan Japanese ensefalitis dan demam kuning [4]. Oleh karena itu, pencegahan penularan melalui vektor nyamuk tetap menjadi strategi paling umum untuk mengendalikan atau meminimalkan kejadian penyakit yang ditularkan nyamuk [5]. Sebagai contoh, organofosfat yang terkandung di dalam kebanyakan larvasida dianggap sangat efektif. Namun, beberapa penelitian melaporkan adanya resistensi [6] dan efek samping bagi lingkungan. Oleh karenanya, diperlukan alternatif larvasida yang dapat diperoleh dari spesies tanaman, salah satunya adalah minyak atsiri yang diperoleh dari beberapa bagian tumbuhan diantaranya daun, kulit batang, dan eksudatnya.

Rasamala (*Liquidambar excelsa* (Noronha) Oken) adalah pohon endemik di Indonesia yang seluruh bagiannya dapat dimanfaatkan; kayu, daun, akar, minyak atsiri, dan getahnya yang berupa balsam [7]. Balsam berwarna kuning ini belum dimanfaatkan secara optimum karena produktivitasnya masih rendah sehingga perlu teknik penyadapan yang tepat. Penelitian sebelumnya yang dilakukan Pengusul telah berhasil menginduksi balsam rasamala sehingga dapat menginduksi lebih cepat dan terakumulasi lebih banyak [8]. Berikutnya penelitian lanjutan yang dilakukan Pengusul melaporkan adanya kandungan senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas biologis seperti antibakteri dan larvasida. Oleh karenanya minyak

atsiri yang berasal dari eksudat balsam rasamala berpotensi untuk dikembangkan sebagai biolarvasida.

Namun di sisi lain, aplikasi minyak atsiri memiliki kekurangan, yaitu sifat solubilitas, absorpsi, dan bioavailibitas yang rendah [9]. Oleh karenanya, diperlukan teknik untuk meningkatkan bioavailibilitasnya. Teknologi nanoemulsi minyak atsiri dapat menjadi alternatif mengatasi hal ini sehingga dapat berpotensi signifikan sebagai sarana pengiriman senyawa aktif untuk menambah pilihan terapi yang tersedia saat ini.

B. TUJUAN PENELITIAN

Tujuan dari penelitian ini adalah menganalisis efektivitas nanoemulsi minyak atiri balsam rasamala sebagai larvasida nyamuk *A. aegypti*. Urgensi penelitian ini adalah memberikan informasi mengenai nanoemulsi minyak atsiri balsam rasamala sehingga dapat dihasilkan larvasida *A. aegypti* yang efektif. Selain itu, informasi mengenai pemanfaatan minyak atsiri balsam rasamala diharapkan dapat memberikan arahan pemanfaatannya sehingga dapat meningkatkan nilai tambah balsam rasamala sebagai salah satu komoditas hutan bukan kayu. Lebih lanjut lagi, penelitian ini sejalan dengan Rancangan Induk Penelitian (RIP) IPB karena bidang penelitian ekologi merupakan salah satu bidang unggulan penelitian dalam RIP IPB 2012-2025 [10].

BAB II METODOLOGI

Alat dan Bahan

Bahan utama penelitian adalah balsam rasamala hasil induksi metil jasmonat 10%. Bahan kimia yang digunakan adalah metil jasmonat, Tween-20, dan larva nyamuk *Aedes aegypti*.

Peralatan yang digunakan diantaranya adalah neraca digital, alat destilasi, sonikator, oven, pisau, bor, gelas kimia, spatula, pH meter, alat GC- MS.

Metode

1. Induksi pelukaan-metil jasmonat pada cabang muda rasamala

Induksi balsam rasamala merujuk pada [8]. Bagian batang dan ranting muda dari pohon rasamala dipilih untuk dilakukan penyayatan/pengelupasan dan pengaplikasian metil jasmonat 10% (v/v) serta Tween-80 sebagai kontrol. Perlakuan induksi ini berlangsung selama 2-4 minggu. Balsam yang tereksudasi dikumpulkan segera, lalu disimpan untuk pengolahan berikutnya.

2. Hidrodestilasi balsam rasamala

Sebanyak 5 gram balsam rasamala ditempatkan dalam labu destilasi. Destilasi dilakukan selama 1 jam dengan pemanasan konstan. Minyak atsiri ditampung dan kemudian disimpan di dalam botol gelap kedap udara.

3. Penyiapan nanoemulsi minyak atsiri balsam

Nanoemulsi dibuat merujuk pada [27] dengan modifikasi, dengan komposisi seperti pada Tabel 1.

Komposisi (% v/v)	Minyak Balsam + Akuades	Akuades	Tween-20	Gliserol
DF1	20 + 20	57.5	2.5	0
DF2	20 + 20	55	5.0	0
DF3	20 + 10	17.5	2.5	50
DF4	20 + 10	15	5.0	50

Dispersi nanoemulsi Volume total 100 ml, terdiri dari:

- 20% (v/v) minyak balsam,
- Tween-20 konsentrasi 2,5%, 5% (v/v)
- Gliserol konsentrasi 0%, 50% (v/v)

20% (b/b) minyak balsam ditambahkan ke dalam Tween-20. Untuk memperoleh nanoemulsi, fase minyak didispersikan dalam larutan gliserol di dalam akuades di dalam waterbath diaduk pada kecepatan 200 rpm, 50 °C selama 5 menit. Setelah itu, Campuran tersebut diemulsikan oleh ultrasonic stirrer dengan Amplitudo sebesar 40% pada kecepatan 16.500 rpm selama 1 jam.

4. Karakterisasi dan evaluasi nanoemulsi minyak balsam

Evaluasi nanoemulsi dilakukan untuk mengetahui kestabilan dari sediaan yang telah dibuat. Evaluasi ini meliputi uji organoleptis, uji pH, uji viskositas, uji sentrifugasi, dan uji penentuan partikel nanoemulsi.

Uji Organoleptis

Dilakukan uji organoleptis merujuk pada [28] meliputi warna, bentuk, dan aroma sediaan nanoemulsi setiap minggu selama 4 minggu masa penyimpanan.

Uji pH

Penentuan pH sediaan dilakukan dengan menggunakan pH meter dengan cara yaitu, alat terlebih dahulu dikalibrasi menggunakan larutan bufer standar pH netral (pH 7,01) dan larutan bufer pH asam (pH 4.01) sampai alat menunjukkan nilai pH tersebut. Kemudian elektroda dicuci dengan akuades, lalu dikeringkan dengan tissue. Kemudian elektroda dicelupkan pada sampel, sampai alat menunjukkan nilai pH yang konstan. Angka yang ditunjukkan pH meter merupakan nilai sediaan [29].

Uji Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan menggunakan viscometer merujuk pada [30]. Sampel sebanyak 50 ml diletakkan dalam gelas beaker dan dipasang pada solvent trap yang tersedia. Dipilih spindle ukuran 62 dengan kecepatan putaran 50 rpm, kemudian alat dijalankan. Nilai viskositas dapat diketahui dengan mengamati hasil analisis yang ditampilkan pada layar brookfield.

Uji Sentrifugasi

Uji sentrifugasi nanoemulsi dilakukan dengan memasukkan tabung sentrifugasi berisi sampel ke dalam alat sentrifugator dengan kecepatan putaran 3800 rpm selama 30 menit. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui kestabilan sediaan

nanoemulsi dengan cara mengamati adanya pemisahan fase atau *creaming*, pengendapan, dan kekeruhan setelah disentrifugasi [21].

Uji Penentuan Partikel Nanoemulsi

Penentuan ukuran partikel nanoemulsi dilakukan dengan menggunakan *Particle Size Analyzer* (PSA) merujuk pada [31] yang meliputi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan zeta potensial. Diambil sampel sebanyak 1 ml ke dalam kuvet kemudian dimasukkan ke dalam *holder* kuvet untuk dilakukan penentuan partikel.

5. Analisis senyawa kimia dengan GC-MS

Untuk mengetahui komponen senyawa kimia yang terkandung di dalam minyak atsiri balsam rasamala dilakukan analisis dengan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS).

6. Pengujian bioaktivitas larvasida *Aedes aegypti*

Uji bioaktivitas larvasida nanoemulsi minyak balsam rasamala dimulai dengan menetasakan telur sehingga tumbuh menjadi instar I setelah 24 jam. Waktu yang dibutuhkan untuk larva berkembang dari instar I menjadi instar II yaitu selama 1-2 hari, instar II menjadi instar III selama 2-3 hari, dan instar III menjadi instar IV membutuhkan waktu selama 2-3 hari [32]. Selama pertumbuhannya larva diberi makan berupa pelet ikan dan dijaga agar makanan selalu sedikit, agar tidak terjadi pertumbuhan bakteri yang menyebabkan larva terbunuh. Larva yang dipilih dalam pengujian ini adalah larva instar III. Setelah mencapai instar III, larva dipindahkan ke dalam gelas uji berkapasitas 250 ml untuk dilakukan uji aktivitas larvasida.

Pengujian aktivitas ini berdasarkan WHO 2005, dengan menggunakan 25 larva pada setiap perlakuan. Perlakuan menggunakan 4 konsentrasi nanoemulsi 7,12.5, 25, 50 ppm (konsentrasi dinyatakan sebagai kandungan minyak atsiri balsam rasamala dalam akuades). Kelompok kontrol terdiri dari akuades dan Tween-20 dalam konsentrasi yang sama digunakan untuk menyiapkan nanoemulsi. Perlakuan dilakukan masing-masing lima kali pengulangan. Pengamatan kematian larva dilakukan pada 24 dan 48 jam sejak larva dimasukkan ke dalam larutan. Larva dinyatakan mati apabila tenggelam atau tidak bergerak saat disentuh dan/atau tidak mampu berenang ke permukaan air. Larva yang menjadi pupa selama pengujian

akan meniadakan pengujian. Pengujian dikatakan gagal dan harus diulang apabila lebih dari 10% larva pada kelompok kontrol berkembang menjadi pupa selama masa percobaan. Apabila angka kematian pada kelompok kontrol 5-20% maka perlakuan harus dikoreksi menggunakan persamaan Abbot:

$$\text{Mortalitas (\%)} = (X - YX) \times 100$$

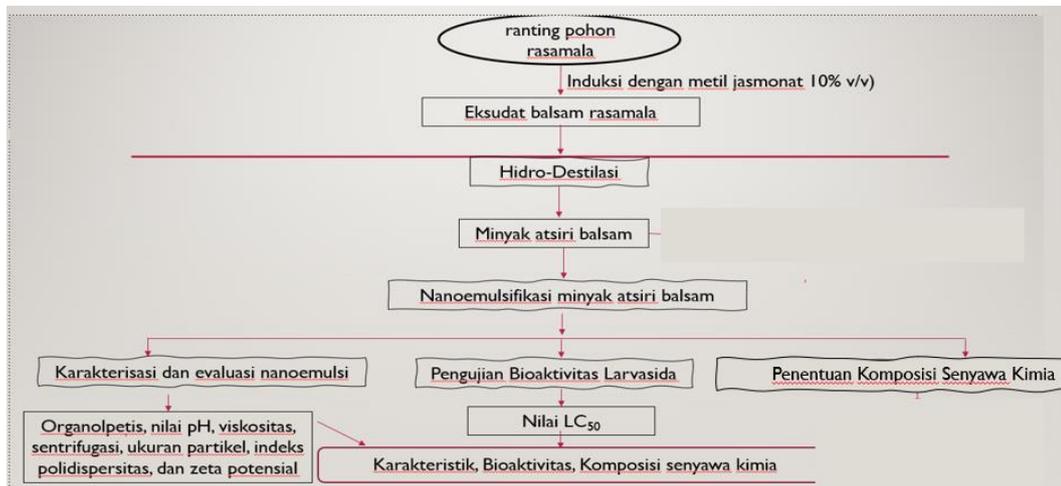
Keterangan:

X = Persentase larva yang hidup pada kelompok kontrol

Y = Persentase larva yang hidup pada kelompok perlakuan

Analisis data menggunakan ANOVA pada taraf uji 5% menggunakan software SPSS 22.0. Jika ANOVA pada kedua skala uji menunjukkan pengaruh yang nyata, maka akan dilakukan uji lanjut dengan uji Duncan.

Uji LC50 ditentukan dengan *probit analysis* yang mengacu pada [33]. Basis data yang digunakan adalah jumlah larva yang mati pada akhir pengamatan pada setiap konsentrasi larutan. LC50 menunjukan toksisitas ekstrak terhadap larva dan diklasifikasikan ke dalam beberapa kelas berdasarkan [34].



Gambar 1 Diagram alir penelitian

BAB III HASIL PENELITIAN

Induksi balsam rasamala menggunakan metil jasmonat 10% (w/w)

Induksi balsam rasamala menggunakan metil jasmonat 10% (w/w) dilakukan selama 14 hari pada periode Juni-September 2024 menghasilkan balsam sebanyak 13.8 gram.

Tabel 2. Eksudasi balsam rasamala oleh metil jasmonat 10% (ww)

Waktu induksi	Metil jasmonat 10% (w/w)	Balsam rasamala (gram)
4 Juni 2024	Replikasi 1	0.72
	Replikasi 2	0.85
	Replikasi 3	0.45
	Replikasi 4	1.03
	Replikasi 5	1.32
2 Juli 2024	Replikasi 1	0.81
	Replikasi 2	0.72
	Replikasi 3	0.52
	Replikasi 4	1.04
	Replikasi 5	1.72
6 Agustus 2024	Replikasi 1	0.78
	Replikasi 2	0.86
	Replikasi 3	0.66
	Replikasi 4	1.26
	Replikasi 5	1.37
3 September 2024	Replikasi 1	0.63
	Replikasi 2	1.41
	Replikasi 3	1.04
	Replikasi 4	1.22
	Replikasi 5	0.77
TOTAL		19.18



a



b



c

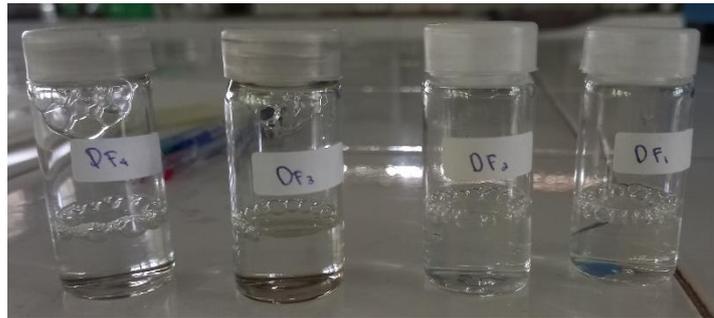
Gambar 2 Balsam terekudasi dari dahan rasamala pada Juli 2024 (a), eksudat balsam setelah penyimpanan Juni- September 2024 (b), minyak atsiri balsam rasamala yang diperoleh melalui hidro-distilasi pada September 2024 (c).

Hidro-destilasi minyak atsiri balsam rasamala

Minyak atsiri balsam sebanyak 1 ml diperoleh dengan cara hidro-destilasi eksudat balsam sebanyak 15 gram (rendemen 5.33%).

Organoleptis nanoemulsi minyak atsiri balsam

Minyak atsiri balsam disiapkan dalam 4 formulasi dan diamati sifat fisik, pH, dan kestabilan emulsi selama 4 minggu.



Gambar 3 Empat formula emulsi minyak atsiri balsam rasamala; DF1, DF2, DF3, DF4.

Tabel 3 Organoleptis formula nanoemulsi minyak atsiri balsam selama 4 minggu pengamatan

Formula / Waktu pengamatan	DF1	DF2	DF3	DF4
Minggu I				
Warna	Sangat bening, tidak berwarna			
Wujud	Cair	Cair	Cair	Cair
Aroma	Wangi khas +++	Wangi khas +++	Wangi khas ++	Wangi khas ++
Minggu II				
Warna	bening, tidak berwarna	bening, tidak berwarna	bening, tidak berwarna	bening, tidak berwarna
Wujud	Cair	Cair	Cair	Cair
Aroma	Wangi khas +++	Wangi khas +++	Wangi khas ++	Wangi khas ++
Minggu III				
Warna	Keruh	Keruh	Bening, tidak berwarna	Bening, tidak berwarna
Wujud	Cair	Cair	Cair, sedikit kental	Cair, sedikit kental

Formula / Waktu pengamatan	DF1	DF2	DF3	DF4
Aroma	Wangi khas +++	Wangi khas +++	Wangi khas ++	Wangi khas ++
Minggu IV				
Warna	Sangat keruh	Sangat keruh	Bening, tidak berwarna	Bening, tidak berwarna
Wujud	Cair	Cair	Cair, sedikit kental	Cair, sedikit kental
Aroma	Wangi khas +++	Wangi khas +++	Wangi khas ++	Wangi khas ++

Tabel 4 Kestabilan formulasi nanoemulsi minyak atsiri balsam selama 4 minggu pengamatan

Formula	pH	Viskositas	Kestabilan sentrifugasi			
			Pemisahan fasa	Pengendapan	Kekeruhan	Distribusi partikel
DF1	3.355	108	tidak	ya	bening	homogen
DF2	3.105	111	tidak	ya	bening	homogen
DF3	3.615	104	tidak	ya	bening	homogen
DF4	3.425	124	tidak	tidak	bening	homogen

Komposisi senyawa kimia minyak atsiri balsam rasamala

Tabel 5 Komponen senyawa kimia di dalam nanoemulsi minyak atsiri balsam rasamala

Waktu retensi (menit)	Senyawa	Kandungan (%)
4.288	2,5,8,11,14-Pentaoxahexadecan-16-ol	4.63
4.357	2,4,4,5,5-Pentamethyl-2-phenyl-1,3-dioxasilolane	4.36
4.437	8-Methyl-6-nonenamide	2.08
4.483	Carbonic acid, monoamide, N-propyl-, 2-methoxyethyl ester	2.29
4.517	1,3,4-Thiadiazole, 2,5-dimethyl-	2.29
4.643	Cycloheptadecanone	6.56
4.660	Bicyclo[3.1.0]hex-2-ene, 4-methylene-1-(1-methylethyl)- a.k.a Dehydrosabinene	1.22
4.683	Octaethylene glycol monododecyl ether	1.95
4.740	Tetraethylene glycol monomethyl ether	4.67
18.570	Beta-Ocimene	1.53
21.597	Benzaldehyde	1.43
22.925	5-Isopropyl-2-methyl bicyclo [3.1.0] hexan-2-ol a.k.a. cis-sabinene hydrate	2.06
23.663	Gamma-Terpinene	1.03
25.706	Terpinen-4-ol	35.66

Waktu retensi (menit)	Senyawa	Kandungan (%)
28.487	Isopinocarveol	0.18
30.890	Alpha-Terpineol	5.33
35.839	Benzyl alcohol	1.37
47.352	Cinnamaldehyde	1.29
47.678	3-Phenylpropanol	5.79
51.231	Cinnamyl alcohol	9.39

Aktivitas larvasida nanoemulsi balsam dilakukan terhadap keempat formulasi terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil pengujian terlihat pada Tabel 6.

Sampel	LC50 (ppm)
DF1	10.433
DF2	12.602
DF3	16.034
DF4	25.619
Minyak atsiri balsam	66.971

Berdasarkan hasil pengujian diperoleh bahwa nanoemulsi DF1 paling toksik dibandingkan formulasi nanoemulsi lain. Sementara itu, minyak atsiri balsam menunjukkan aktivitas paling kurang toksik terhadap larva nyamuk *A. aegypti*. Hal ini mengindikasikan bahwa nanoemulsifikasi berhasil meningkatkan efektivitas minyak atsiri sebagai larvasida.

BAB IV KESIMPULAN

A. Kesimpulan

Induksi balsam rasamala menghasilkan minyak atsiri balsam rasamala dengan rendemen sebesar 5.33% dengan metode hidro-distilasi. Emulsi minyak atsiri menghasilkan sifat fisis dan organoleptis yang relatif stabil selama pengamatan 4 minggu. Komponen kimia yang terkandung di dalam minyak atsiri balsam rasamala terutama didominasi oleh Terpinen-4-ol (35.66%) dan Cinnamyl alcohol (9.39%) yang diduga berperan dalam aktivitas biologisnya⁴. Nanoemulsifikasi mampu meningkatkan efikasi minyak atsiri sebagai larvasida *Aedes aegypti* dengan nilai LC_{50} nanoemulsi lebih rendah dibandingkan minyak atsiri tanpa emulsifikasi.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Kemenkes Direktorat Jenderal Pencegahan dan Pengendalian Penyakit (Ditjen P2P). Tersedia online: <https://p2p.kemkes.go.id/waspada-kenaikan-kasus-dbd-belum-mencapai-puncak/> (diakses 19 April 2024).
- [2] Iwamura T, Guzman-Holst A, Murray KA. Accelerating invasion potential of disease vector *Aedes aegypti* under climate change. *Nat Commun.* 2020; 11:1–10.
- [3] de Oliveira MAS, Coutinho H, de Lacerda Neto LJ, de Oliveira LCC, da Cunha FAB. Repellent activity of essential oils against Culicids: a review. *Sustain Chem Pharm.* 2020; 18:100328. doi: 10.1016/j.scp.2020.100328.
- [4] Centers for Disease Control and Prevention CDC. Tersedia online: <https://www.cdc.gov/yellowfever/vaccine/> (diakses 19 April 2024).
- [5] Jones RT, Ant TH, Cameron MM, Logan JG. Novel control strategies for mosquito-borne diseases. *Philos Trans R Soc B.* 2021; 376:20190802. doi: 10.1098/rstb.2019.0802.
- [6] Moyes CL, Vontas J, Martins AJ, Ng LC, Koou SY, Dusfour I, Raghavendra K, Pinto J, Corbel V, David JP, Weetman D. Contemporary status of insecticide resistance in the major *Aedes* vectors of arboviruses infecting humans. *PLoS Negl Trop Dis.* 2017; 11: e0005625. doi:10.1371/journal.pntd.0005625.
- [7] Sakai KI, Rumbino A, Iyama S, Gadrinab LU. Studies on interference among trees in a plantation of *Altingia excelsa*. *Biotropia.* 1987; 1(1): 26-40.
- [8] Carolina A, Sari RK, Nawawi DS, Bahtiar ET, Kusumoto D. Mechanical-chemical induction of balsam from *Liquidambar excelsa* trees. *Silva Fennica.* 2024; 58(2): 23050. doi: 10.14214/sf.23050
- [9] Shah S, Chougule MB, Kotha AK, Kashikar R, Godugu C, Raghuvanshi RS, Singh SB, Srivastava S, Nanomedicine based approaches for combating viral infections, *J Control Release.* 2021; 338: 80–104. doi: 10.1016/j.jconrel.2021.08.011.

[10] Institut Pertanian Bogor. Rencana induk penelitian Institut Pertanian Bogor tahun 2016-2025. Bogor: IPB 2016.136 p.