

PENELITIAN PENGEMBANGAN MINYAK ATSIRI SEBAGAI AROMATERAPI DAN POTENSINYA SEBAGAI PRODUK SEDIAAN FARMASI

Muchtaridi

Fakultas Farmasi, Universitas Padjadjaran, Jl. Bandung-Sumedang KM-21. Jatinangor
muchtaridi@unpad.ac.id

ABSTRACT

Aromatherapy is a branch of complementary or alternative therapy which is increasing in popularity, yet has scant scientific credibility. Aromatherapy should be defined as treatment using odours and practised as such. However, essential oils are usually used in conjunction with massage and often combined with counselling of some kind.

This research is expected to become research methods base in developing of aromatherapy in Indonesia. In this research network, it was found that oil of essential oils is able to be used by aromatherapy divided pursuant to the effect of to center nervous system become three that is softly (essential oil of kemangi, ki lemo, and lemongrass, cananga), medium (eucalyptus oil and laja gowah), and hardly (nutmeg seed oil). Analysis of active compound predicted was conducted with integration of SPE-GC/MS which was taken from animal blood after inhalation with essential oils. The active compounds estimated as aromatherapy is 1,8-cineole, linalool, methyl cinnamate, citronellol, citronellal, citral, safrol and myristicin. On the other hand, this research also formulated pharmaceutical product of aromatherapy in the form of roll-on deodorant (kemangi oil), cream squeeze (cananga oil and serai wangi), soap (oil mixture of kemangi, nutmeg seed, and lemongrass), and functional beverage (oil of kemangi seeds). The aim of this research network was to prove scientifically the existence of aromatherapy and possibility of development in the field of health.

Keywords : aromatherapy, essential oils, SPE-GC/MS

PENDAHULUAN

Minyak atsiri merupakan zat yang memberikan aroma pada tumbuhan. Minyak atsiri memiliki komponen volatil pada beberapa tumbuhan dengan karakteristik tertentu. Saat ini, minyak atsiri telah digunakan sebagai parfum, kosmetik, bahan tambahan makanan dan obat (Buchbauer, 1991).

Komponen aroma dari minyak atsiri cepat berinteraksi saat dihirup, senyawa tersebut berinteraksi dengan sistem syaraf pusat dan langsung merangsang pada sistem *olfactory*, kemudian sistem ini akan menstimulasi syaraf-syaraf pada otak dibawah kesetimbangan korteks serebral (Buckle, 1999). Senyawa-senyawa berbau harum atau *fragrance* dari minyak atsiri suatu bahan tumbuhan telah terbukti pula dapat mempengaruhi aktivitas lokomotor (Buchbauer, 1991).

Aktivitas lokomotor merupakan aktivitas gerak sebagai akibat adanya perubahan aktivitas listrik yang disebabkan oleh perubahan permeabilitas membran pascasinaptik dan oleh adanya pelepasan transmitter oleh neuron prasinaptik pada sistem syaraf pusat (Gilman, 1991).

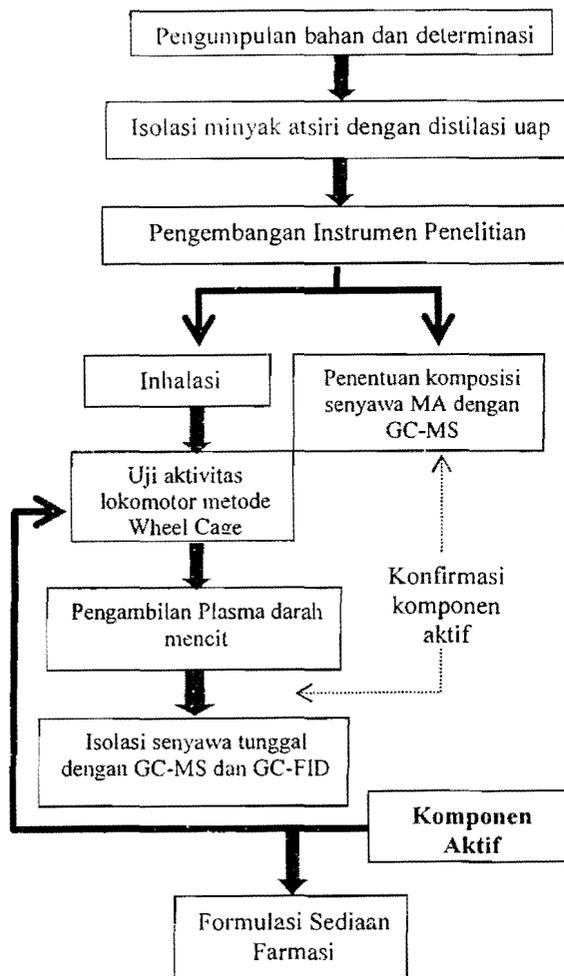
Penelitian minyak atsiri yang mempengaruhi aktivitas lokomotor diawali oleh Kovar *et al.* (1987) yang melaporkan bahwa senyawa 1,8-cineole yang diisolasi dari minyak atsiri bunga *rosemary* dapat

menurunkan aktivitas lokomotor tikus, setelah tikus tersebut diinduksi dengan senyawa stimulan kafein. Pengujian klinis efek sedatif dari minyak lavender dimulai oleh Buchbauer (1993) yang telah membuktikan bahwa wangi minyak atsiri bunga lavender dapat menurunkan aktivitas lokomotor pada manusia (Buchbauer, 1991). Penelitian aktivitas aromaterapi secara ilmiah masih sedikit di Indonesia.

Kajian etnofarmakologi secara empirik tentang tumbuhan aromaterapi menunjukkan bahwa Indonesia memiliki 49 jenis tumbuhan aromatik dari 22 jenis suku, 12 jenis di antaranya digunakan secara empirik sebagai aromaterapi dengan efek menenangkan dan menyegarkan tubuh (Sangat, 1996). Belum adanya laporan penemuan senyawa yang dapat menekan aktivitas lokomotor atau disebut juga hipnotik-sedatif yang berasal dari tumbuhan aromatik asal Indonesia merupakan alasan yang kuat untuk melakukan penelitian ini. Tumbuhan aromatik dalam rangkaian penelitian ini yang digunakan adalah Kemangi (*Ocimum basilicum* L.), kayu putih (*Melaleuca leucadendron* L.), biji pala (*Myristica fragrans* Hout), bunga kenanga (*Cananga odoratum*), rimpang laja gowah (*Alpinia malaccensis* Roxb.), kulit batang ki lemo (*Litsea cubeba* L) dan serai dapur (*Cymbopogon citratus*) (Sangat, 1996).

BAHAN DAN METODE

Adapun rangkaian penelitian dalam pengembangan minyak atsiri sebagai aromaterapi dapat dilihat dalam Gambar 1.



Gambar 1. Diagram Metode Penelitian Aromaterapi

Lokasi dan Waktu Penelitian

Seluruh Metode penelitian yang dirangkum dalam artikel ini merupakan rangkaian penelitian sejak tahun 2001 hingga tahun 2005. Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Instrumen Penelitian BALITTRO Manoco (Lembang), Laboratorium Analisis Kimia Instrumen Universitas Pendidikan Indonesia (Bandung) dan Laboratorium Farmakologi, Jurusan Farmasi FMIPA UNPAD (Jatinangor).

Bahan-bahan

Bahan tanaman yang digunakan adalah daun Kemangi (*Ocimum formacitratum* L.), daun kayu

putih (*Melaleuca leucadendron* L.), biji pala (*Myristica fragrans* Houtt) dan kulit batang ki lemo (*Litsea cubeba* Lour) (bahan diambil dalam kurun waktu 2002-2003). Serai dapur (*Cymbopogon citratus* L.) dan Laja gowah (*Alpinia malaccensis* Roxb.) (2004). Daun kemangi diperoleh dari Pasar Cileunyi yang diambil pukul 05.00 dengan umur panen sekitar 3 bulan, sedangkan daerah asal budi dayanya berasal dari perbatasan Sumedang Utara-Subang. Determinasi dilakukan di Jurusan Biologi FMIPA UNPAD. Kemangi yang didapat merupakan spesies *Ocimum bacilicum* L atau *Ocimum formacitratum* L. Daun kayu putih diperoleh dari daerah Kuningan. Hasil determinasi di Jurusan Biologi FMIPA UNPAD didapatkan daun kayu putih berasal dari spesies *Meulaleuca leucadendron* L. Biji pala didapat dari Bogor. Hasil determinasi biji pala yang didapat merupakan spesies dari *Myristica fragrans* HOUTT. Kulit batang ki lemo didapat dari BPTP Lembang, spesiesnya adalah *Litsea cubeba* (Lour). Pers. Serai dapur dan laja gowah didapatkan di daerah Sumedang Utara. Bahan tanaman dikeringanginkan (terhindar dari sinar matahari) selama 6 jam mulai dari jam 8.00–13.00, hingga satu minggu (7 hari), kemudian dipotong kecil-kecil. Setelah dipotong kecil-kecil, bahan kering ditimbang 5 kg, kemudian didistilasi.

Bahan kimia yang digunakan adalah aqua demineral untuk distilasi, *methanol* p.a (Merck) sebagai eluen SPE, minyak lavender. Minyak lavender yang digunakan adalah minyak lavender murni dari jenis *Lavandula officinalis* L.(Martina Bertho, Jakarta). Bahan kimia lainnya yaitu standar alkana C₈-C₂₀ (Sigma), standar alkana C₂₁-C₄₀ (Sigma), dan 1,4-dichlorobenzene (Sigma) untuk analisis senyawa atsiri, sedangkan bahan kimia untuk pengembangan produk krim pijat : trietanolamin, propilenglikol (bratachem), gliserin, metil paraben, propil paraben, natrium tetraborat (bratachem), aluminium hidroksida, metil selulosa, PEG 400, natrium lauril sulfat, serilalkohol (bratachem), gliserilmonostearat (henkel), untuk sabun : EDTA, KOH pelet, *Virgin Coconut Oil*, TiO₂, soda kaustik, NaCl halus (Bratachem).

Hewan Percobaan : Hewan yang digunakan adalah mencit putih jantan galur ddY, dengan berat badan 25-30 gram. Hewan percobaan diperoleh dari Laboratorium Perkembangan Hewan, Jurusan Biologi, Universitas Padjadjaran Bandung. Hewan yang diambil berumur 2-3 bulan.

Alat-alat

Alat alat yang digunakan adalah : alat distilasi uap, *wheel cage* (Gambar 2), inhalator (Gambar 3.) pipa kapiler, tabung heparin (Boehringer Mannheim), mikropipet (clinipipet) 0,05-0,1 ml, sentrifugator (Hettich-EBA 8), kolom C-18 (SEP-

PAK WATERS), syringe SPE kaca 10 ml, dan GC-MS (Schimadzu-QP-5050A).

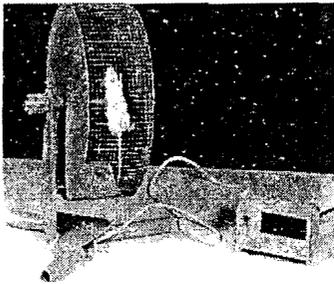
Metodologi Penelitian

Identifikasi Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang diteliti diambil bagian ranting, daun, biji, bunga (jika ada) dan kulit batang kemudian ditempel pada kertas koran. Selanjutnya spesimen ini diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Unpad.

Pengembangan Instrumen Penelitian

Alat inhalator yang dibuat dari *fiber glass*, berukuran 20x20x30 cm³, dilengkapi dengan kipas angin elektrik (Gambar inhalator dapat dilihat pada Gambar 3). Pengujian aktivitas lokomotor dirancang sesuai metode Posrsolt *et al.* (1978), seperti yang digambarkan pada Gambar 2.



Gambar 2. alat ukur lokomotor hewan percobaan (whell cage)

Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri

Isolasi Minyak Atsiri dengan Distilasi Uap

Bahan tumbuhan kering yang telah dipotong-potong ditimbang dan dibagi masing-masing sebanyak 5 kg, kemudian didistilasi selama 6 jam (7.00-13.00) dengan suhu berkisar 100-105 °C. Alat yang digunakan adalah distilator *stahl*, yang terdapat di Instalasi Penelitian Tanaman Obat Manoko, dengan kapasitas alat yang digunakan adalah 10 kg untuk berat kering.

Penentuan Komposisi Senyawa Minyak Atsiri

Sebanyak 1 µl Minyak atsiri yang didapatkan diinjeksikan ke injektor GC-MS dengan kondisi Minyak atsiri dianalisa dengan Kromatografi Gas-Spektometri Massa (GC-MS), di Lab. Kimia Instrumen, Jurusan Kimia, UPI Bandung dengan menggunakan kolom kapiler DB-5MS (dimensi 30m x 0,32mm), laju alir 1 ml/menit, injeksi split, gas pembawa Helium tekanan 80 kPa, suhu *injector* 250

°C, suhu *interface* 280 °C, program suhu 60°C ditahan 5 menit hingga 300°C ditahan 2 menit (laju kenaikan 10°C/ min). Kondisi MS : Energi ionisasi 1,5 kV, kisaran berat molekul 40-550 amu.

Setiap puncak yang muncul dalam kromatogram ion total diidentifikasi dengan melihat hasil spektrum massa. Spektrum massa yang terdapat dalam *library index* dikonfirmasi dengan *Linear Retention Index* (LRI). Nilai LRI dihitung berdasarkan waktu retensi standar alkana (C₈-C₄₀) yang disuntikan pada GC-MS dengan kolom dan kondisi yang sama dengan analat sampel. Perbandingan antara retensi analat dengan homolog alkana tersebut, akan memberikan nilai indeks (LRI_x) yang sama atau mirip dengan penelitian sebelumnya (data pustaka) yang juga membandingkan komponen yang diperiksa dengan homolog alakana dengan kolom yang hampir sama pula, meskipun kondisi suhu tidak sama. Perhitungan nilai LRI ditentukan dengan persamaan :

$$LRI_x = \left\{ \left(\frac{t_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) + 100 \right\} \times 100n$$

Dimana :

- LRI_x = indeks retensi linier komponen x (yang diperiksa)
- t_x = waktu retensi komponen x (menit)
- t_n = waktu retensi alkana standar, dengan n atom karbon yang muncul sebelum waktu komponen x
- t_{n+1} = waktu retensi alkana standar, dengan n+1 atom karbon yang muncul setelah waktu komponen x
- n = jumlah atom karbon alkana standar yang muncul sebelum komponen x

Setelah didapatkan LRI analat yang diperiksa, LRI tersebut dibandingkan terhadap pustaka dari Adams (1995), dengan kolom yang sama (DB5). Jika senyawa tersebut mempunyai kemiripan pola spektrum massa dan LRI yang mendekati dengan pustaka, maka senyawa tersebut dapat ditentukan apa komponennya.

Pengujian Aktivitas Aromaterapi

Aktivitas lokomotor merupakan aktivitas gerak sebagai akibat adanya perubahan aktivitas listrik yang disebabkan oleh perubahan permeabilitas membran sel pascasinaptik dan oleh adanya pelepasan transmitter oleh neuron prasinaptik pada sistem syaraf pusat (Gilman, 1981). Aktivitas lokomotor didasarkan pada jumlah gerak mencit untuk memutar sangkar (Gambar 2). Bila setelah pemberian suatu zat jumlah gerak hewan percobaan menurun

PAK WATERS), syringe SPE kaca 10 ml, dan GC-MS (Schimadzu-QP-5050A).

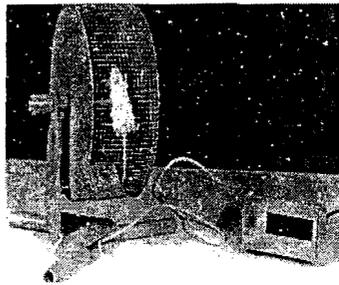
Metodologi Penelitian

Identifikasi Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang diteliti diambil bagian ranting, daun, biji, bunga (jika ada) dan kulit batang kemudian ditempel pada kertas koran. Selanjutnya spesimen ini diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Unpad.

Pengembangan Instrumen Penelitian

Alat inhalator yang dibuat dari *fiber glass*, berukuran 20x20x30 cm³, dilengkapi dengan kipas angin elektrik (Gambar inhalator dapat dilihat pada Gambar 3). Pengujian aktivitas lokomotor dirancang sesuai metode Posrsolt *et al.* (1978), seperti yang digambarkan pada Gambar 2.



Gambar 2. alat ukur lokomotor hewan percobaan (*whell cage*)

Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri

Isolasi Minyak Atsiri dengan Distilasi Uap

Bahan tumbuhan kering yang telah dipotong-potong ditimbang dan dibagi masing-masing sebanyak 5 kg, kemudian didistilasi selama 6 jam (7.00-13.00) dengan suhu berkisar 100-105 °C. Alat yang digunakan adalah distilator *stahl*, yang terdapat di Instalasi Penelitian Tanaman Obat Manoko, dengan kapasitas alat yang digunakan adalah 10 kg untuk berat kering.

Penentuan Komposisi Senyawa Minyak Atsiri

Sebanyak 1 µl Minyak atsiri yang didapatkan diinjeksikan ke injektor GC-MS dengan kondisi Minyak atsiri dianalisa dengan Kromatografi Gas-Spektometri Massa (GC-MS), di Lab. Kimia Instrumen, Jurusan Kimia, UPI Bandung dengan menggunakan kolom kapiler DB-5MS (dimensi 30m x 0,32mm), laju alir 1 ml/menit, injeksi split, gas pembawa Helium tekanan 80 kPa, suhu *injector* 250

°C, suhu *interface* 280 °C, program suhu 60°C ditahan 5 menit hingga 300°C ditahan 2 menit (laju kenaikan 10°C/ min). Kondisi MS : Energi ionisasi 1,5 kV, kisaran berat molekul 40-550 amu.

Setiap puncak yang muncul dalam kromatogram ion total diidentifikasi dengan melihat hasil spektrum massa. Spektrum massa yang terdapat dalam *library index* dikonfirmasi dengan *Linear Retention Index* (LRI). Nilai LRI dihitung berdasarkan waktu retensi standar alkana (C₈-C₄₀) yang disuntikan pada GC-MS dengan kolom dan kondisi yang sama dengan analat sampel. Perbandingan antara retensi analat dengan homolog alkana tersebut, akan memberikan nilai indeks (LRI_x) yang sama atau mirip dengan penelitian sebelumnya (data pustaka) yang juga membandingkan komponen yang diperiksa dengan homolog alakana dengan kolom yang hampir sama pula, meskipun kondisi suhu tidak sama. Perhitungan nilai LRI ditentukan dengan persamaan :

$$LRI_x = \left\{ \left(\frac{t_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) + 100 \right\} \times 100n$$

Dimana :

- LRI_x = indeks retensi linier komponen x (yang diperiksa)
- t_x = waktu retensi komponen x (menit)
- t_n = waktu retensi alkana standar, dengan n atom karbon yang muncul sebelum waktu komponen x
- t_{n+1} = waktu retensi alkana standar, dengan n+1 atom karbon yang muncul setelah waktu komponen x
- n = jumlah atom karbon alkana standar yang muncul sebelum komponen x

Setelah didapatkan LRI analat yang diperiksa, LRI tersebut dibandingkan terhadap pustaka dari Adams (1995), dengan kolom yang sama (DB5). Jika senyawa tersebut mempunyai kemiripan pola spektrum massa dan LRI yang mendekati dengan pustaka, maka senyawa tersebut dapat ditentukan apa komponennya.

Pengujian Aktivitas Aromaterapi

Aktivitas lokomotor merupakan aktivitas gerak sebagai akibat adanya perubahan aktivitas listrik yang disebabkan oleh perubahan permeabilitas membran sel pascasinaptik dan oleh adanya pelepasan transmitter oleh neuron prasinaptik pada sistem syaraf pusat (Gilman, 1981). Aktivitas lokomotor didasarkan pada jumlah gerak mencit untuk memutar sangkar (Gambar 2). Bila setelah pemberian suatu zat jumlah gerak hewan percobaan menurun

PAK WATERS), *syringe* SPE kaca 10 ml, dan GC-MS (Schimadzu-QP-5050A).

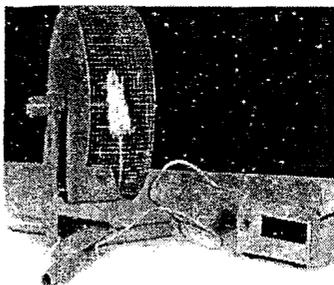
Metodologi Penelitian

Identifikasi Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang diteliti diambil bagian ranting, daun, biji, bunga (jika ada) dan kulit batang kemudian ditempel pada kertas koran. Selanjutnya spesimen ini diidentifikasi di Laboratorium Herbarium Jurusan Biologi FMIPA Unpad.

Pengembangan Instrumen Penelitian

Alat inhalator yang dibuat dari *fiber glass*, berukuran 20x20x30 cm³, dilengkapi dengan kipas angin elektrik (Gambar inhalator dapat dilihat pada Gambar 3). Pengujian aktivitas lokomotor dirancang sesuai metode Posrsolt *et al.* (1978), seperti yang digambarkan pada Gambar 2.



Gambar 2. alat ukur lokomotor hewan percobaan (*whell cage*)

Isolasi dan Identifikasi Komponen Minyak Atsiri

Isolasi Minyak Atsiri dengan Distilasi Uap

Bahan tumbuhan kering yang telah dipotong-potong ditimbang dan dibagi masing-masing sebanyak 5 kg, kemudian didistilasi selama 6 jam (7.00-13.00) dengan suhu berkisar 100-105 °C. Alat yang digunakan adalah distilator *stahl*, yang terdapat di Instalasi Penelitian Tanaman Obat Manoko, dengan kapasitas alat yang digunakan adalah 10 kg untuk berat kering.

Penentuan Komposisi Senyawa Minyak Atsiri

Sebanyak 1 µl Minyak atsiri yang didapatkan diinjeksikan ke injektor GC-MS dengan kondisi Minyak atsiri dianalisa dengan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (GC-MS), di Lab. Kimia Instrumen, Jurusan Kimia, UPI Bandung dengan menggunakan kolom kapiler DB-5MS (dimensi 30m x 0,32mm), laju alir 1 ml/menit, injeksi split, gas pembawa Helium tekanan 80 kPa, suhu *injector* 250

°C, suhu *interface* 280 °C, program suhu 60°C ditahan 5 menit hingga 300°C ditahan 2 menit (laju kenaikan 10°C/ min). Kondisi MS : Energi ionisasi 1,5 kV, kisaran berat molekul 40-550 amu.

Setiap puncak yang muncul dalam kromatogram ion total diidentifikasi dengan melihat hasil spektrum massa. Spektrum massa yang terdapat dalam *library index* dikonfirmasi dengan *Linear Retention Index* (LRI). Nilai LRI dihitung berdasarkan waktu retensi standar alkana (C₈-C₄₀) yang disuntikan pada GC-MS dengan kolom dan kondisi yang sama dengan analat sampel. Perbandingan antara retensi analat dengan homolog alkana tersebut, akan memberikan nilai indeks (LRI_x) yang sama atau mirip dengan penelitian sebelumnya (data pustaka) yang juga membandingkan komponen yang diperiksa dengan homolog alkana dengan kolom yang hampir sama pula, meskipun kondisi suhu tidak sama. Perhitungan nilai LRI ditentukan dengan persamaan :

$$LRI_x = \left\{ \left(\frac{t_x - t_n}{t_{n+1} - t_n} \right) + 100 \right\} \times 100n$$

Dimana :

LRI_x = indeks retensi linier komponen x (yang diperiksa)

t_x = waktu retensi komponen x (menit)

t_n = waktu retensi alkana standar, dengan n atom karbon yang muncul sebelum waktu komponen x

t_{n+1} = waktu retensi alkana standar, dengan n+1 atom karbon yang muncul setelah waktu komponen x

n = jumlah atom karbon alkana standar yang muncul sebelum komponen x

Setelah didapatkan LRI analat yang diperiksa, LRI tersebut dibandingkan terhadap pustaka dari Adams (1995), dengan kolom yang sama (DB5). Jika senyawa tersebut mempunyai kemiripan pola spektrum massa dan LRI yang mendekati dengan pustaka, maka senyawa tersebut dapat ditentukan apa komponennya.

Pengujian Aktivitas Aromaterapi

Aktivitas lokomotor merupakan aktivitas gerak sebagai akibat adanya perubahan aktivitas listrik yang disebabkan oleh perubahan permeabilitas membran sel pascasinaptik dan oleh adanya pelepasan transmitter oleh neuron prasinaptik pada sistem syaraf pusat (Gilman, 1981). Aktivitas lokomotor didasarkan pada jumlah gerak mencit untuk memutar sangkar (Gambar 2). Bila setelah pemberian suatu zat jumlah gerak hewan percobaan menurun

secara statistik dibandingkan dengan kontrol, zat itu dinyatakan memberikan efek depresi sistem syaraf pusat terhadap hewan tersebut.

Mencit ditimbang dan dikelompokkan secara acak menjadi 10 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor. Pengujian aktivitas lokomotor dilakukan berdasarkan metode *Wheel Cage* (Gambar 2). Setelah menginhulasi minyak atsiri selama 30 menit, mencit diletakkan pada alat roda putar. Jumlah putaran roda dicatat selama 90 menit, dengan interval waktu 15 menit, dimulai sejak 5 menit setelah mencit ditempatkan pada alat. Jumlah putaran kelompok uji dibandingkan dengan kelompok kontrol. Semua data yang diperoleh dihitung dan dianalisa menggunakan *software MINITAB 13.5* yaitu analisis *ANOVA* rancangan acak faktorial dengan uji lanjut *Tukey*, dengan faktor jenis minyak, dosis, dan waktu.

Analisis Kemungkinan Senyawa Aktif Aromaterapi

Pengumpulan darah

Pengumpulan plasma darah mencit didasarkan pada metode yang dilakukan Jirovetz *et al.* (1992) dan Kovar *et al.* (1987). Mencit yang digunakan untuk analisis senyawa atsiri dalam darah terpisah dengan mencit yang digunakan untuk pengujian aktivitas lokomotor. Mencit yang diambil darahnya untuk keperluan analisis ini dibagi 3 kelompok perlakuan. Masing-masing kelompok terdiri dari 3 mencit, yaitu kelompok perlakuan inhalasi ½ jam, 1 jam dan 2 jam.

Darah dari tiga mencit setelah inhalasi minyak atsiri diambil dari bagian ujung mata mencit menggunakan pipa kapiler sebanyak 300-400 µL. Darah ditampung dalam tabung heparin untuk mencegah koagulasi darah, penampungan darah dilakukan secepat mungkin di atas penangas es untuk mencegah menguapnya komponen volatil, kemudian sampel darah disentrifugasi dengan kecepatan 1800 rpm selama 10 menit. Setelah disentrifugasi, lapisan atas yang merupakan plasma darah dipisahkan dengan volume pipet 1 ml. Senyawa atsiri dari plasma darah yang diambil, kemudian diisolasi dari senyawa pengganggu menggunakan SPE (*Solid Phase Extraction*) dengan kolom C-18 (Jirovetz *et al.*, 1992).

Solid Phase Extraction (SPE)

Pelarut dan *cartridge* pada metode SPE dimodifikasi dari metode yang dilakukan Jirovetz *et al.* (1987). *Cartridge* yang digunakan adalah C-18 (Seppak-Waters) dengan ukuran 100 mg, kapasitas pemakaian hanya sekali pemakaian (*disposable*). Pada tahap ini, *methanol* sebanyak 500 µL dialirkan ke *cartridge* C-18, kemudian plasma yang diperoleh

diinjeksikan ke dalam *cartridge* C-18, *aqua bidistilata* sebanyak 400 µL dialirkan ke dalam kolom *cartridge* C-18, kemudian *cartridge* C-18 dielusi dengan 600 µL *methanol*. Filtrat fasa *methanol* ditampung, kemudian diinjeksikan ke dalam GC-MS sebanyak 5 µL.

Identifikasi GC-MS Senyawa Aktif dalam Darah Mencit

Identifikasi dilakukan dengan kromatografi gas kolom kapiler yang dihubungkan dengan spektrometer massa (GC-MS). GC-MS dan kolom sama dengan yang digunakan untuk analisis minyak atsiri dengan laju alir 1,8 ml/menit, injeksi splitless, *split ratio* 1:20, gas pembawa Helium tekanan 100 kPa, suhu *injector* 250 °C, suhu *interface* 280 °C, program suhu untuk sampel darah mencit yang menginhulasi kemangi dan kayu putih : 60°C ditahan 2 menit dinaikkan hingga 300°C (laju kenaikan 10°C/ min), sedangkan program suhu untuk darah mencit yang menginhulasi pala dan ki lemo : 60°C ditahan 5 menit dinaikkan hingga 330°C ditahan 1 menit (laju kenaikan 10°C/ min). Setiap puncak yang muncul dalam kromatogram ion total (TIC) memiliki waktu retensi yang berbeda-beda. Komponen yang teridentifikasi tidak cukup dengan hanya melakukan *matching* dengan data yang ada pada *library* spektra massa yang ada, untuk itu agar konfirmasi komponen dari spektra massa lebih akurat, maka ditentukan nilai *Linear Retention Index* (LRI) dari masing-masing puncak.

Penentuan Konsentrasi

Penentuan konsentrasi untuk tiap-tiap komponen yang teridentifikasi dilakukan dengan menggunakan standar internal (*1,4-dichlorobenzene*) yang ditambahkan sebelum bahan diisolasi. Perhitungan konsentrasi masing-masing komponen dilakukan dengan persamaan :

$$[A] = \left(\frac{\text{LuasareaX}}{\text{Luasarea SI}} \right) \times \left(\frac{1g}{100 ml} \right) \times 0,5ml \times mlplasma \times 10^6 \mu g/ml \text{darah}$$

Keterangan : A = konsentrasi (µg/ml darah);
X = komponen interes; SI = standar internal

Pengembangan Produk

Krim pijat : Asam stearat dipanaskan hingga meleleh (fasa lemak). pada wadah lain dipanaskan juga air, gliserin TEA pada suhu 70 °C (fasa air). Pada fasa air, ditambahkan natrium tetraborat, metil paraben, dan propil paraben. Fasa lemak dan air dicampur di atas waterbath suhu 40 °C, lalu masukkan minyak atsiri 2 % sedikit demi sedikit

hingga homogen (Risnawati *et al.*, 2004 dan Nia *et al.*, 2004).

Sabun : Panaskan terlebih dahulu 10 mL air dalam Erlenmeyer 50 mL dan pada saat mendidih, tambahkan 5 gram soda kaustik, sambil diaduk, sebanyak 50 mL minyak VCO dituangkan secara pelan-pelan dengan menggunakan api yang kecil, setelah terbentuk padatan, lalu tambahkan 25 mL aquades serta terus menerus diaduk sambil dipanaskan sehingga terbentuk seperti susu. Selanjutnya, 1 gram garam halus dimasukkan, diaduk kira-kira 20 menit dengan api dimatikan, kemudian dimasukkan sebanyak 1 gram campuran EDTA dan TiO₂, diaduk hingga merata. Diamkan selama 20 menit, lalu masukkan minyak atsiri tetes demi tetes sambil diaduk. Tuangkan dalam cetakan dan ditunggu selama 24 jam.

Roll-on : Minyak mineral setilalkohol dan gliseril monostearat dipanaskan di atas tangas air dalam cawan penguap (fasa lemak). Setelah mencair, semua fasa lemak dituangkan ke dalam mortar panas dan ditambahkan natrium lauril sulfat yang telah dilarutkan dalam air panas. Setelah dingin, campuran ditambah minyak atsiri 2 % sedikit demi sedikit hingga homogen.

Evaluasi produk meliputi homogenitas, warna, bau, pH, viskositas selama tiga bulan penyimpanan. Kemudian dilakukan uji hedonik (masing-masing menggunakan 15 panelis) (Emi *et al.*, 2004).

HASIL DAN PEMBAHASAN

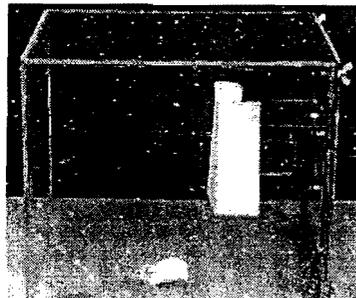
Pengembangan Instrumen Penelitian

Pengembangan instrumen dalam uji aktivitas lokomotor dilakukan berdasarkan publikasi penelitian sebelumnya (Kovar *et al.*, 1987 dan Buchbauer, 1993). Inhalator (Gambar 1) dirancang berdasarkan kebutuhan oksigen untuk hewan percobaan dengan berat 30 gram. Alat ini dilengkapi dengan kipas elektrik untuk membantu homogenitas aroma minyak atsiri. Homogenitas diuji dengan kertas whatman dikelilingi inhalator. Kotak inhalator terbuat dari fiber gelas berukuran 20x20x30 cm³. Kebutuhan oksigen untuk alat tersebut yang diperlukan untuk 3 jam adalah 67,5 ml. Jika mencit yang masuk dalam inhalator adalah 3 ekor maka volume oksigen yang dibutuhkan per mencit 202,5 ml. Volume inhalator minimal yang harus disediakan setelah dikalikan *safety factor* (10x) adalah 2025 cm³. Pada alat yang dirancang ini volume yang disediakan setelah dihitung adalah 11.975 cm³.

Isolasi dan Identifikasi Minyak Atsiri

Komposisi minyak atsiri kemangi yang diperoleh dengan rendemen 0,07 % didominasi oleh sitral

(19,12 %) diikuti linalool (8,17 %), α -bergamotena (7,27 %), α -mirsena (4,61 %), (E)-kariofilena (4,12 %), α -terpineol (2,85 %), dan nerol (2,83 %) Minyak atsiri biji pala memiliki rendemen 6,85 %. Komponen minyak atsiri terbanyak dalam biji pala adalah 4-terpineol (13,92 %), miristisin (13,57 %), safrol (4,28 %), 1,8-Sineole (26,59 %) dan Sitronelol (21,69 %) adalah komponen atsiri dari minyak kulit batang ki lemo (rendemen 1 %). 1,8-Cineole mendominasi komposisi minyak atsiri daun kayu putih yaitu sekitar 22,45 %. Rimpang laja gowah (rendemen 1 %) memiliki kandungan metil sinamat terbanyak (54 %) (Muchtaridi *et al.* 2006).



Gambar 3. Gambar inhalator

Aktivitas Locomotor

Senyawa-senyawa berbau harum (*fragrance*) dari minyak atsiri suatu bahan tumbuhan telah terbukti pula dapat mempengaruhi aktivitas lokomotor (Buchbauer, 1991). Rangkaian penelitian ini telah mencoba 7 tanaman aromatik asal Indonesia (daun kemangi, daun kayu putih, biji pala, kulit batang ki lemo, herba serai dapur, rimpang laja gowah, dan bunga kenanga). Hasilnya secara singkat dapat dilihat pada Tabel 1.

Pada Tabel 1, terlihat bahwa aktivitas terkuat dalam menurunkan aktivitas lokomotor dimiliki oleh minyak biji pala, bahkan pemberian dosis 0,5 ml pada menit ke 60 mencit mengalami sedatif, oleh karena itu minyak biji pala digolongkan sebagai minyak *hardly* (keras) dalam aromaterapi. Sedangkan minyak rimpang laja gowah, daun kayu putih, dan kulit batang ki lemo merupakan minyak yang digolongkan medium. Minyak inilah yang dapat dikategorikan minyak pijat, karena memiliki senyawa 1,8-sineol yang bersifat stimulan (Kovar *et al.*, 1987), sedangkan minyak kemangi dan kenanga dikategorikan sebagai minyak lembut (*softly*), karena % penurunannya yang mirip dengan lavender, sehingga kedua minyak ini dapat digunakan dalam SPA. Pada Gambar 4, terlihat bahwa penurunan jumlah rata-rata lokomotor mencit terbesar ditunjukkan pada mencit yang diinhalasi minyak biji pala,

sedangkan pemberian minyak bunga kenanga memberikan penurunan lokomotor mencit terkecil.

Tabel 1. Rata-rata putaran roda mencit setiap kelompok perlakuan selama 75 menit.

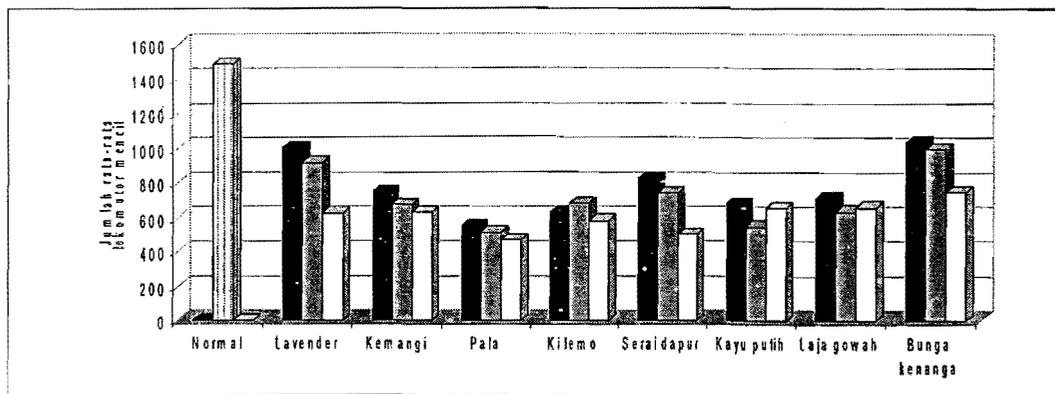
Rata-rata Jumlah Putaran Roda			% Penurunan
Jenis Minyak	Dosis	Rata-rata Jumlah (menit)	
Kontrol Normal	0	1487,0	0
Minyak Lavender (Kontrol)	0,1	1004,2	31,14*
	0,3	914,2	38,52*
	0,5	626,6	57,86*
Daun Kemangi	0,1	749,0	49,63*
	0,3	675,6	54,57*
	0,5	629,8	57,64*
Biji Pala	0,1	553,0	62,81*
	0,3	515,4	65,33*
	0,5	466,6	68,62*
Kulit batang ki lemo	0,1	632,8	57,44*
	0,3	681,0	54,20*
	0,5	583,6	60,75*
Herba Serai Dapur	0,1	828,6	55,72*
	0,3	741,2	49,85*
	0,5	504,3	33,91*
Daun Kayu putih	0,1	678,0	54,40*
	0,3	549,4	63,05*
	0,5	652,8	56,09*
Rimpang Laja Gowah	0,1	710,49	52,22*
	0,3	634,95	57,30*
	0,5	659,48	55,65*
Bunga Kenanga	0,1	1034,21	30,45*
	0,3	994,80	33,10*
	0,5	746,47	49,80*

Analisis Senyawa Aromaterapi

Pada rangkaian Penelitian ini, Recovery pada analisis miristisin dalam plasma darah mencit setelah inhalasi minyak biji pala dengan menggunakan C₁₈ (Sep Pak Waters) mencapai 90 %, dibandingkan dengan tanpa perlakuan SPE, selain itu senyawa-senyawa volatil lain lebih banyak terdeteksi seperti terlihat pada Gambar 5.

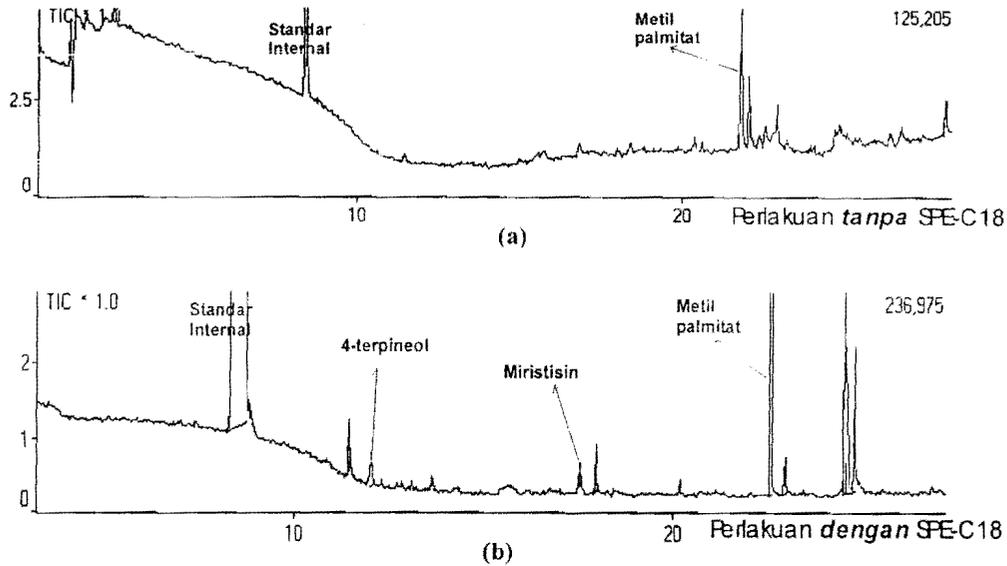
Pada Gambar 5 terlihat bahwa dengan penggunaan SPE, senyawa-senyawa pengotor menjadi berkurang, bahkan kadar standar internal 1,4-diklorobenzen lebih besar (b) dan senyawa miristisin muncul pada menit ke-17 (Muchtaridi, 2003). Hasil analisis lengkap pada plasma darah mencit setelah inhalasi minyak biji pala diperlihatkan pada Tabel 2.

Senyawa yang terdeteksi dalam darah mencit setelah inhalasi minyak atsiri daun kemangi pada penelitian ini adalah linalool dan linalil asetat, sedangkan 1,8-sineol, α-terpineol dan 4-terpineol merupakan senyawa yang dominan ditemukan dalam plasma darah mencit setelah inhalasi minyak atsiri daun kayu putih. Miristisin, 4-terpineol, dan ester berantai panjang (metil palmitat, metil miristat, metil oleat, dan metil stearat) adalah senyawa yang secara dominan terdapat dalam plasma darah mencit setelah inhalasi minyak biji pala, dan sitronelol dan sitronelal secara dominan terdapat pada plasma darah mencit yang menginhali minyak atsiri kulit batang ki lemo. Metil sinamat merupakan komponen tunggal yang terdeteksi dalam darah mencit setelah diinhali dengan minyak rimpang laja gowah, sedangkan α-terpineol dan 4-terpineol merupakan senyawa yang terdeteksi dalam darah mencit setelah inhali minyak herba serai dapur (Muchtaridi et al, 2004 dan 2005).



Keterangan :
 [Bar with vertical lines] = Kontrol Normal
 [Black bar] = Inhalasi Dosis 0,1 ml;
 [Grey bar] = Inhalasi Dosis 0,3 ml
 [White bar] = Inhalasi Dosis 0,5 ml

Gambar 4. Grafik Jumlah Rata-Rata Locomotor Mencit Setelah Inhalasi Berbagai Minyak Atsiri Dibandingkan Kontrol Normal Selama 75 Menit



Gambar 5. Kromatogram ion total senyawa miristisin dalam plasma darah mencit setelah inhalasi minyak biji pala. Gambar (a) analisis tanpa preparasi dengan SPE-C18 (b) analisis dengan preparasi SPE C18 (Muchtaridi, 2003).

Tabel 2. Salah satu contoh hasil analisis dari komponen atsiri yang teridentifikasi setelah inhalasi dengan minyak biji pala

Senyawa	Waktu inhalasi						LRI Ref ^a
	½ jam (R ^d = 84 %)		1 jam (R ^d = 90 %)		2 jam (R ^d = 86 %)		
	LRI Eksp ^b	Kons. µg/mL	LRI Eksp ^b	Kons. µg/mL	LRI Eksp ^b	Kons. µg/mL	
4-Terpineol	1181	1.5	1181	2.9	1183	6.3	1177
Safrol	nd	nd	nd	Nd	1292	1.3	1285
Miristicin	1521	3.8	1521	5.2	1523	7.1	1520
Metil miristat	1718	1.6	1719	1.4	1720	1.2	1726
Metil palmitat	1919	67.8	1920	72.2	1922	58.7	1927
Asam palmitat	1952	2.8	nd	Nd	nd	nd	1961 ^c
Metil oktadeka-10-olat	2094	23.3	2096	24.7	2097	18.9	-
Metil oleat	2100	12.1	2102	13.8	2105	10.7	-
Metil stearat	2129	13.1	2132	13.2	2134	10.8	2128

Keterangan :

nd = tak terdeteksi,

a = LRI referensi Adams (1995) dengan DB5 kolom,

b = LRI eksperimen dengan DB5-MS kolom,

c = LRI referensi King et al. (1993) dengan HP5 kolom,

d = Recovery (n=2) dihitung berdasarkan perbandingan antara 1,4-diklorobenzena (dilarutkan dalam metanol) dalam plasma darah dan 1,4-diklorobenzena dalam methanol

Salah satu kelemahan pada penelitian ini, kadar senyawa atsiri pada permukaan ruang inhalator belum dapat ditentukan seperti yang telah dilakukan oleh penelitian sebelumnya. Pada analisis senyawa aktif aromaterapi pada minyak atsiri *Rosemary* setelah diberikan secara oral dan inhalasi pada mencit yang dilakukan Kovar *et al.* (1987), menghasilkan senyawa *1,8-cineole*, sedangkan senyawa atsiri yang ada di permukaan inhalator

diisolasi dengan menggunakan *headspace*. Penelitian Kovar *et al.* (1987) dikembangkan oleh Buchbauer (1991) dan Jirovetz *et al.* (1991 dan 1992). Jirovetz dan Buchbauer (1991) memodifikasi metode Kovar *et al.* (1987) dengan melakukan preparasi terlebih dahulu terhadap plasma darah. Plasma darah dipreparasi dengan SPE menggunakan kolom C-18 dengan eluen *methanol*, supaya komponen-komponen pengganggu dapat direduksi

dari sampel, sehingga kadar senyawa atsiri yang didapatkan lebih banyak dibandingkan dengan metode sebelumnya. Pada penelitian

Pengembangan Produk Sediaan Farmasi Aromaterapi

Pada rangkaian penelitian ini, dikembangkan produk sediaan farmasi pada minyak-minyak yang diketahui memiliki aktivitas aromaterapi. Sabun aromaterapi telah dibuat dengan mencampurkan 2 % minyak kemangi, 1 % minyak biji pala, 2 % minyak bunga kenanga dan 2 % minyak serai dapur). Minyak kemangi 2 % telah diformulasi menjadi sediaan *roll-on* untuk deodorant badan dengan stabilitas cukup baik selama 6 bulan (Emi Harefa *et al.*, 2004.), sedangkan minyak kenanga dan minyak serai wangi 2 % menjadi krim pijat yang baik setelah melalui uji hedonik (Ane R, 2005; Nia, 2005). Mnuman sari biji kemangi 20 % telah dibuat untuk kesegaran pemakainya (Yanti *et al.*, 2006).

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Metode penelitian aromaterapi yang telah dikembangkan meliputi pemilihan bahan berupa skrining fitokimia, isolasi minyak atsiri, inhalasi, uji aktivitas lokomotor, analisis perkiraan senyawa aktif dan pengembangan produknya diharapkan menjadi dasar dalam penelitian ilmiah aromaterapi sebagai peningkatan nilai jual dari produk minyak atsiri.

Saran

Kadar senyawa atsiri pada permukaan ruang inhalator sebaiknya ditentukan dengan merancang ulang inhalator yang dapat dipasang *headspace*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, R.P. 1995. *Identification of Essential Oil Components by Gas Chromatography/ Mass Spectroscopy*. Allured Pub. Co. Carol Stream, USA.
- Ane, R. Mughtaridi, D. Gozali. 2005. Formulasi Krim Pijat dari Minyak Atsiri Sereh Wangi. [Skripsi]. Garut : Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Garut.
- Buchbauer, G., W. Jager, H. Dietrich, , Ch. Plank, , and E. Karamat. 1991. Aromatherapy: Evidence for Sedative Effects of Essential Oil of Lavender after Inhalation. *Journal of Biosciences*; 46c, 1067-1072.
- Buchbauer, G., W. Jager, L. Jirovetz, J. Ilmberger, and H. Dietrich. 1993. Therapeutic Properties of Essential Oil and fragrances. *American Chemical Society (ACS) Symposium Series*; 525, 160-165.
- Buchbauer, G. 1993. Biological Effects of fragrances and Essential Oils. *Journal Perfumer and flavorist*; 18, 19-24.
- Buckle, J. 1999. Use of Aromatherapy as Complementary Treatment for Chronic Pain. *J. Alternative Therapies*; 5, 42-51.
- Diego MA, N.A. Jones, T. Field, M. Hernandez-Reif, S. Schanberg, C. Kuhn, V. Medam, R. Galamaga, M. Galamagal.. 1998. Aromatherapy Positively Affects Mood, Eeg Patterns of Alrtness and math Computation. *Intern J. Neuroscience*; 96, 217-224.
- Emi H., L. Roma., Edward, Mughtaridi, S. Soeryati. 2004. Formulasi *Roll-on Deodorant Stick* Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum formacitratus*). *Laporan Program Kreatifitas Mahasiswa (PKM) 2003-2004*. Jakarta : Direktorat Pendidikan Tinggi
- Gilman, A.G., T.W. Rall, A.S. Nies, Taylor. 1991. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*, 8th ed, New York : McGraw-Hill.
- Jirovetz, L., G. Buchbauer, W. Jager, A. Woidich, A. Nikiforov. 1992. Analysis of Fragrance Coumpound in Blood Samples of Mice by Gas Chromatography, Mass Spectrometry, GC/ FTIR, and GC/AES ater inhalation of Sandalwood Oil. *J. Bio. Chrrrom*; 6, 133-134.
- Jirovetz, L., G. Buchbauer, W. Jager, A. Woidich, A. Nikiforov. 1991. Investigation of Animal Blood samples after Fragrance Drug Inhalation by Gas Chromatography/Mass Spectrometry with Chemical Ionization and selected Ion Monitoring. *Biol. Mass Spect.*; 20, 801-803. (Short Communication)
- King, M.F., B.L. Hamilton, M.A. Mathewas, D.C. Ruhe, and R.A. Field. 1993. Isolation and Identification of Volatiles and Condesnsable Material in Raw Beef with Spercritical Carbon dioxide Extraction. *J. Agric. Food Chem.* 41: 1974-1981.
- Mughtaridi, A. Subarnas., A. Apriyantono., S. Budijanto. 2004. Analysis of Volatile Active Compounds of Essential Oils of Nutmeg seeds Possessing Inhibitory Properties on Mice Locomotor Activity. *Journal Natura Acta et mathematica*, 3 (3): 20-28

- Muchtaridi, A. Apriyantono, A. Subarnas, S. Budijanto. 2003. Analysis of volatile active compounds of essential oils of some aromatical plants possessing inhibitory properties on mice locomotor activity. *Proceeding in International Symposium on Biomedicine*, Bogor : Biopharmaca Centre IPB, 18-19 September 2003. p. 31
- Muchtaridi, A. Subarnas., H. Suhandi. 2006. Identifikasi dan Karakterisasi Senyawa Petanda Aromaterapi dari Beberapa Minyak Atsiri Rempah-Rempah Indonesia. *Laporan LITSAR*, 027/SPPP/PP/DP3M/IV/2005, 11 April 2006.
- Nia, Muchtaridi, D. Gozali. 2005. Formulasi Krim Pijat dari Minyak Atsiri Bunga Kenanga (*Cananga Odoratum*). [Skripsi]. Garut : Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Garut.
- Posrsolt, R.D., G. Anton, N. Blavet, M. Jalfree. 1978. Behavioral Despair in Rats: A New Model Sensitive to Antidepressant Treatments, *European Journal Pharmacology*, 47, 379.
- Sangat, H., Roematyo. 1996. Aromatherapy Plants: A Ethnopharmacology Study. *Proceeding Simposium Nasional I Tumbuhan Aromatik APINMAP*; 22-23 Oktober 1996.
- Yanti, F., Muchtaridi, Riska. 2006. Formulasi Minuman Fungsional Dari Biji Kemangi (*Ocimum basilicum* L.). [Skripsi]. Garut : Jurusan Farmasi FMIPA, Universitas Garut.