

**MINYAK ATSIRI DARI TANAMAN NILAM (*Pogostemon cablin* Benth.)  
MELALUI METODE FERMENTASI DAN HIDRODISTILASI SERTA UJI  
BIOAKTIVITASNYA**

Diana Pramifita Putri Halimah\*, Dra. Yulfi Zetra, MS<sup>1</sup>

Jurusan Kimia  
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Institut Teknologi Sepuluh Nopember

**ABSTRAK**

Minyak Nilam telah diisolasi dari daun (A), batang (B) dan campuran batang-daun (C) tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) yang termasuk dalam family Labiateae melalui proses hidrodestilasi. Komponen utama minyak atsiri ini adalah patchouli alkohol dengan rendemen 2,97% (minyak atsiri A), 0,15 % (minyak atsiri B) dan 2% (Minyak atsiri C). Minyak nilam bersifat toksik yang ditunjukkan dengan metode BSLT. Uji insektisida minyak atsiri dilakukan terhadap larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa minyak atsiri A, B dan C aktif sebagai insektisida alami dengan nilai LC<sub>50</sub> masing-masing sebesar 46,40 ppm, 31,04 ppm dan 47,59 ppm. Uji kualitatif antioksidan dengan DPPH menunjukkan minyak atsiri dari tanaman nilam berpotensi sebagai antioksidan.

**Kata kunci :** minyak atsiri, *Pogostemon cablin* Benth, insektisida alami, antioksidan

**1. Pendahuluan**

Indonesia merupakan salah satu negara penghasil minyak atsiri terbesar yang cukup penting diperdagangkan di dunia. Saat ini, di pasar dunia terdapat lebih 80 jenis minyak atsiri yang diperdagangkan. Indonesia sendiri memiliki 40 jenis minyak atsiri yang dapat diperdagangkan, namun hanya sekitar 14 jenis yang diekspor, seperti : minyak nilam, minyak pala, minyak sereh wangi, minyak kenanga, minyak akar wangi, minyak kayu putih, minyak cengkeh, minyak lada, minyak jahe (Direktorat Tanaman Semusim, 2002).

Minyak atsiri, yang sejak lama merupakan bahan baku atau penunjang dalam industri parfum, kosmetika, farmasi, sabun, makanan dan minuman berasal dari berbagai jenis dan bagian tanaman dalam kelompok budidaya perkebunan, hortikultura dan hasil hutan. Sebagian besar minyak atsiri di Indonesia dihasilkan oleh petani/perajin dengan menggunakan peralatan penyulingan yang masih sederhana.

Nilam (*Pogostemon cablin* Benth) merupakan salah satu jenis tanaman penghasil minyak atsiri. Di pasar perdagangan internasional, nilam diperdagangkan dalam bentuk minyak dan dikenal dengan nama *Patchouli oil* (Santoso, 1990). Dari berbagai jenis minyak atsiri yang ada di Indonesia, minyak nilam menjadi primadona dan Indonesia mampu mengekspor tidak kurang dari 1200 ton minyak nilam pertahun dengan nilai ekspor ± US \$ 25 juta (60% dari total ekspor minyak atsiri Indonesia; BPS, 2005). Keunggulan minyak nilam dari Indonesia sudah dikenal

diberbagai negara pengimport minyak nilam (Amerika, Perancis, Belanda, Jerman, Jepang, Singapura, Hongkong, Mesir, Saudi Arabia dan lain-lain). Agus dan Ludi (2004) menyatakan bahwa minyak nilam Indonesia aromanya sangat harum dan tahan lama sehingga disegani oleh negara pengimport minyak nilam.

Minyak nilam merupakan komoditi ekspor, karenanya memiliki prospek yang cukup cerah dan selalu dibutuhkan secara berkesinambungan dalam industri-industri parfum, wewangian, kosmetik, sabun, farmasi, *flavouring agent* dan lain-lain. Minyak nilam dalam industri digunakan sebagai fiksasi yang belum dapat digantikan oleh minyak lain sampai dengan saat ini. Minyak nilam terdiri dari komponen-komponen yang bertitik didih tinggi sehingga sangat baik dipakai sebagai zat pengikat dalam industri parfum dan dapat membentuk aroma yang harmonis. Zat pengikat adalah suatu persenyawaan yang mempunyai daya menguap lebih rendah atau titik uapnya lebih tinggi daripada zat pewangi sehingga kecepatan penguapan zat pewangi dapat dikurangi atau dihambat. Penambahan zat pengikat di dalam parfum dimaksudkan untuk mengikat aroma wangi dan mencegah penguapan zat pewangi yang terlalu cepat sehingga aroma wangi tidak cepat hilang atau lebih tahan lama (Ketaren, 1985).

Minyak nilam berasal dari tanaman nilam (*Pogostemon cablin*), berupa semak dan dapat tumbuh diberbagai jenis tanah (andosol, latosol, regosol, podsolik, dan grumusol) dengan tekstur lempung, liat berpasir dengan drainase yang baik dan pH tanah 5-7. Tanaman ini membutuhkan curah hujan atau ketersediaan air yang cukup dengan suhu 24-28 °C. Indonesia merupakan negara tropis yang mempunyai curah hujan dan

\* Corresponding author Phone : 08563063063  
e-mail: pra\_mifita07@yahoo.com

<sup>1</sup> Alamat sekarang : Jur Kimia, Fak. MIPA, Institut Teknologi  
10 Nopember, Surabaya.

kelembaban yang cukup tinggi, oleh karena itu tanaman nilam dapat tumbuh baik. Penyebaran nilam di Indonesia terdapat di beberapa daerah yaitu NAD, Sumatra Barat, Sumatra Utara, Bengkulu, Jawa Tengah dan Jawa Barat.

Minyak nilam dapat dihasilkan atau diisolasi dengan beberapa teknik antara lain teknik destilasi, ekstraksi dan fermentasi. Rendemen minyak nilam dari daun kering yang diperoleh dengan menggunakan teknik destilasi sebanyak 0,73%, teknik ekstraksi sebanyak 3,56% sedangkan teknik fermentasi sebanyak 6,22% (Yuliana, 2003).

Proses destilasi yang dilakukan pada daun nilam dapat mengakibatkan kehilangan minyak atsiri karena terjadi penguapan. Beberapa proses dilakukan terlebih dahulu terhadap bahan baku untuk mendapatkan rendemen minyak yang lebih tinggi antara lain pengeringan, pengecilan ukuran, fermentasi, pelayuan dan pemotongan. Pengeringan daun nilam bertujuan untuk memperbaiki kualitas bahan baku dan kualitas minyak yang dihasilkan. Penyulingan daun segar akan menghasilkan rendemen yang rendah karena minyak yang berada di dalam daun tidak bisa keluar karena terhalang oleh kandungan air di dalam daun. Proses isolasi minyak nilam dengan pengeringan langsung belum sempurna karena minyak nilam masih terikat pada jaringan daun. Oleh karena itu, diperlukan suatu metode untuk menghancurkan jaringan daun nilam agar jumlah minyak nilam yang dapat di isolasi semakin optimal. Fermentasi merupakan salah satu metode untuk menghancurkan jaringan daun nilam. Prinsip fermentasi pada isolasi minyak nilam adalah dengan cara memecahkan dinding sel rambut kelenjar dari daun nilam dengan menggunakan enzim yang terdapat dalam mikroorganisme. Hancurnya dinding sel dan rambut kelenjar mengakibatkan minyak nilam terpisah dari daun dan dapat diisolasi lebih mudah.

Minyak hasil penyulingan masih mengandung persenyawaan kompleks yang terbentuk dalam tumbuhan karena pengaruh air atau uap panas. Kandungan yang terdapat dalam minyak nilam meliputi, *patchouli alkhohol*, *eugenol*, *benzaldehyde*, *cinamic aldehyde*, dan *cadinene*. Namun komponen yang paling menentukan mutu minyak nilam adalah *patchouli alkhohol* karena merupakan penciri utama (Santoso, 1990).

*Patchouli alcohol* merupakan sesquiterpene alcohol yang dapat diisolasi dari minyak nilam. Tidak larut dalam air, larut dalam alkohol, eter atau pelarut organik yang lain. Mempunyai titik didih  $280,37^{\circ}\text{C}$  dan kristal yang terbentuk mempunyai titik lebur  $56^{\circ}\text{C}$ .

Selama ini petani nilam hanya mampu menghasilkan minyak nilam dengan kandungan *patchouli alcohol* 26–28%, sedangkan pabrik penyulingan dengan peralatan suling bahan baja

anti karat mampu menghasilkan minyak nilam dengan kandungan *patchouli alcohol* 31–35% (Sarwono, 1998). Hasil minyak nilam ini diekspor dengan harga murah, padahal kandungan *patchouli alcohol* dalam minyak nilam dapat dimaksimalkan sampai 40–50% (Suyono, 2001).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka proses penyulingan minyak atsiri dari tanaman nilam ini menggunakan proses fermentasi untuk mendapatkan rendemen optimal dari minyak atsiri *Pogostemon cablin* Benth.

Minyak nilam selain sebagai bahan baku dalam industri parfum, diketahui juga mempunyai aktivitas biologi tertentu. Senyawa Patchoulol yang merupakan komponen yang paling banyak ditemukan dalam minyak nilam bersama dengan  $\alpha$ -patchoulene diketahui potensial sebagai aktivitas antifungal (Sonwa, 2001). Senyawa  $\alpha$ -bulnesene diketahui mempunyai aktivitas anti inflamasi terhadap PAF (Platelet Activating Factor) sebuah phospholipid mediator yang dihasilkan berbagai sel pada saat terkena penyakit alergi, inflamasi, asma, dan lain-lain (Chieh Tsai, 2005). Tanaman nilam telah banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Akar dari tanaman ini digunakan untuk pencahar, bagian daun sebagai deodoran, obat luka, bawahir, disentri, stomakikum, penyakit empedu, sielagogum, stemutatori, gangguan haid dan obat peluruh haid. Semua bagian dari tumbuhan ini juga dapat dimanfaatkan sebagai karminatif, obat sakit kepala, emetik, obat diare, dan insektisida (Kasahara dan Hemmi, 1995). Oleh sebab itu, pada penelitian ini juga akan ditentukan sifat bioaktivitas minyak nilam sebagai antioksidan, antitoksik dan antilarvasida. Untuk menguji bioaktivitas dari minyak nilam ini dilakukan dengan uji antioksidan menggunakan radikal bebas DPPH, uji anti larvasida menggunakan larva nyamuk *Aedes aegypti*, dan uji toksisitas dengan metode Brine-Shrimp Lethality Test (BSLT).

## 2. Metodologi

### 2.1 Preparasi dan Distilasi Sampel

Tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) segar dibungkus dengan kantong pembungkus dan dibiarkan selama 24 jam (proses fermentasi) kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari hingga kering. Sampel dipisahkan antara batang dan daunnya, kemudian dipotong kecil-kecil.

Sampel dibagi menjadi tiga variasi yaitu daun (A), batang (B, campuran batang:daun=1:1 (C). 75gram dari masing-masing sampel dimasukkan ke dalam labu distilasi, kemudian ditambahkan aquades sampai bahan terendam dan didistilasi selama  $\pm 8$  jam hingga diperoleh distilat campuran minyak dan air.

$\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat ditambahkan pada distilat minyak untuk memisahkan air dari minyaknya lalu disaring. Minyak nilam yang diperoleh dihitung jumlah rendemennya.

## 2.2 Metode Identifikasi Senyawa

### 2.2.1 Kromatografi Lapis Tipis

Masing-masing minyak atsiri ditotolkan pada plat KLT SiO<sub>2</sub> F<sub>254</sub> sebagai fasa diam kemudian dielus dengan n-heksan:etil asetat (8:1) sebagai fase gerak. Noda yang dihasilkan diamati menggunakan lampu ultraviolet (UV) pada λ<sub>254</sub> nm dan digunakan iodine untuk penampak noda.

### 2.2.2 Kromatografi Gas-Spektrokopi Massa (KG-MS)

Minyak atsiri yang diperoleh diidentifikasi komponen-komponennya menggunakan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM). Peralatan KG-SM yang digunakan adalah HP G1800A dengan kolom jenis DB-5 (diameter dalam 30 m x 0.25 mm, ketebalan 0.25 μm). Temperatur kolom diatur pada suhu 40°C selama 1 menit dan meningkat 4°C/menit hingga suhu 260°C selama 4 menit. Temperatur injektor dan sumber ion (EI pada 70 eV) 250 dan 260°C. Gas pembawa yang digunakan adalah Helium (He) dengan kecepatan alir 1ml/menit dengan rasio kecepatan 1:50. *Range scan* SM adalah m/z 45-425.

### 2.2.3 Uji Toksisitas dengan menggunakan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)

Metode ini mengacu pada penelitian Meyer dan Ferrigni dalam jurnal *Planta Medica*, volume 45 (1982), hal 31-34.

Uji ini meliputi tiga tahap perlakuan, yaitu:

- **Tahap 1 : Penyediaan Media Pembiakan**

Media air laut yang digunakan untuk penetasan telur udang diambil dari laut Kenjeran sebanyak 300 ml kemudian disaring 300 ml dengan menggunakan kertas saring whatman 41.

- **Tahap 2 : Pembiakan Larva Udang *Artemia salina* L.**

Telur *Artemia salina* Leach yang telah dibuahi dimasukkan sebanyak 1 gram ke dalam bejana yang berisi 300 ml air laut. Setelah 24 jam telur akan menetas dan selanjutnya dibiarkan dewasa selama 24-48 jam sebelum digunakan sebagai hewan uji.

- **Tahap 3 : Prosedur uji Menggunakan Udang *Artemia salina* L.**

Air laut sebanyak 150 μL yang mengandung larva udang *Artemia salina* 10-12 ekor dipipet, kemudian dimasukkan ke dalam kotak uji bioaktivitas (*microware*). Minyak atsiri diambil sebanyak 0,0125 mL dan dilarutkan dengan larutan dimetil sulfoksida (DMSO) 0,0375 mL. Larutan sampel tersebut ditambahkan air laut hingga volumenya menjadi 25 mL sehingga diperoleh cuplikan dengan konsentrasi 500 ppm (larutan stok). Larutan sampel kemudian diencerkan sampai konsentrasinya menjadi 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125 dan 3,906 ppm. Larutan kontrol dibuat dengan prosedur sama, tetapi tanpa menggunakan sampel. Masing-masing larutan diambil 150 μL dimasukkan ke dalam kotak uji yang berisi larva nyamuk sebanyak 10 ekor. Untuk setiap

konsentrasi masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan. Kontrol dilakukan tanpa penambahan sampel. Larutan didiamkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan yang masih hidup dari tiap tabung. Angka mati dihitung dengan menjumlahkan larva yang mati dalam setiap konsentrasi (3 lubang). Angka hidup dihitung dengan menjumlahkan larva yang hidup dalam setiap konsentrasi (3 lubang). Akumulasi angka hidup dan mati dari setiap konsentrasi dihitung. Persentase larva nyamuk yang mati dihitung dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Jumlah udang mati terakumulasi}}{\text{Jumlah udang total}} \times 100 \%$$

Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Toksisitas dan aktivitas dilaporkan sebagai LC<sub>50</sub>, yang menunjukkan konsentrasi dalam ppm yang menyebabkan 50% kematian larva selama 24 jam. Nilai LC<sub>50</sub> diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier  $y = a + bx$ . Suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila nilai LC<sub>50</sub> < 1000 ppm untuk ekstrak dan < 30 ppm untuk suatu senyawa murni.

### 2.2.4 Uji Insektisida menggunakan Larva Instar III Nyamuk *Aedes aegypti*

Metode ini mengacu pada penelitian Meyer dan Ferrigni dalam jurnal *Planta Medica*, volume 45 (1982), hal 31-34, dimana hewan uji diganti dengan menggunakan larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*. Larva yang digunakan adalah instar III yang didapatkan dari TDC-UNAIR. Minyak atsiri diambil sebanyak 0,05 mL dan dilarutkan dengan larutan dimetil sulfoksida (DMSO) 0,14 mL. Larutan sampel tersebut ditambahkan aquades hingga volumenya menjadi 25 mL (2000 ppm). Larutan sampel kemudian diencerkan sampai konsentrasinya menjadi 1000; 500; 250; 125; 62,5 dan 31,25 ppm. Larutan kontrol dibuat dengan prosedur sama, tetapi tanpa menggunakan sampel. Masing-masing larutan diambil 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi larva nyamuk sebanyak 10 ekor. Untuk setiap konsentrasi masing-masing dilakukan 3 kali pengulangan. Kontrol dilakukan tanpa penambahan sampel. Larutan didiamkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang mati dan yang masih hidup dari tiap tabung. Angka mati dihitung dengan menjumlahkan larva yang mati dalam setiap konsentrasi (3 lubang). Angka hidup dihitung dengan menjumlahkan larva yang hidup dalam setiap konsentrasi (3 lubang). Akumulasi angka hidup dan mati dari setiap konsentrasi dihitung. Persentase larva nyamuk yang mati dihitung dengan perhitungan sebagai berikut:

$$\% \text{ kematian} = \frac{\text{Jumlah larva mati terakumulasi}}{\text{Jumlah larva total}} \times 100 \%$$

Grafik dibuat dengan log konsentrasi sebagai sumbu x terhadap mortalitas sebagai sumbu y. Toksisitas dan aktivitas dilaporkan sebagai  $LC_{50}$ , yang menunjukkan konsentrasi dalam ppm yang menyebabkan 50% kematian larva selama 24 jam. Nilai  $LC_{50}$  diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier  $y = a + bx$ . Suatu senyawa dikatakan aktif sebagai insektisida apabila nilai  $LC_{50} <$  setengah konsentrasi tertinggi senyawa uji atau  $LC_{50} < 62,5$  ppm.

### 2.2.5 Uji Antioksidan

Senyawa uji masing-masing diambil sebanyak 1 ml kemudian dilarutkan dalam petroleum eter 2 ml. Larutan uji tersebut ditotolkan pada plat KLT kemudian dielus dengan eluen n-heksan : Etil Asetat (8,5:1,5) dan disemprot larutan DPPH 0,2% dalam metanol. Hal ini dilakukan untuk menguji keaktifan senyawa tersebut. Senyawa aktif dilarutkan dalam metanol dan dibuat dalam beragam konsentrasi. Variasi konsentrasi adalah 20; 40; 60; 80; dan 100 ppm. Senyawa aktif tersebut masing-masing diambil 0,3 ml dan ditambahkan larutan DPPH 0,004% dalam metanol 2,7 ml kemudian didiamkan selama 30 menit. Absorbansi senyawa diukur pada panjang gelombang ( $\lambda$ ) 517 nm. Persentase inhibisi dan  $IC_{50}$  dihitung. Hasil yang diperoleh dibandingkan dengan standar quersetin. Persentase inhibisi dihitung dengan persamaan sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ senyawa uji}}{A \text{ blanko}} \times 100 \%$$

Grafik dibuat dengan konsentrasi sampel (ppm) sebagai sumbu x terhadap % inhibisi sebagai sumbu y. Aktivitas dilaporkan sebagai  $IC_{50}$  yang menunjukkan konsentrasi dalam ppm yang menyebabkan 50% penghambatan radikal dalam waktu 30 menit. Nilai  $IC_{50}$  diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier  $y = a + bx$ .

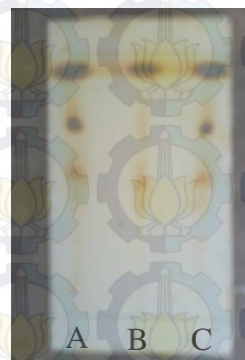
### 3. Hasil dan Diskusi

Hasil distilasi minyak nilam sampel A, B, dan C didapatkan nilai rendemen sebesar 2,97%, 0,15%, dan 2,00%. Nilai ini cukup tinggi dibandingkan dengan proses pengeringan langsung tanpa fermentasi dengan rendemen sebesar 0,73% karena proses fermentasi yang dilakukan terhadap tanaman nilam sebelum dikeringkan dapat memecah jaringan di dalam tanaman tersebut sehingga minyak yang diperoleh bisa optimal. Proses pengeringan yang sebenarnya bertujuan untuk menghilangkan kadar air dan mempermudah keluarnya minyak bisa menjadi tidak optimal jika suhu yang digunakan terlalu panas. Suhu optimal untuk pengeringan adalah  $40^{\circ}C$  [7]. Rendemen minyak yang diperoleh juga menunjukkan bahwa minyak daun lebih banyak dibandingkan dengan minyak dari batang tanaman nilam.

### 3.1 Analisa Kromatografi Lapis Tipis

Minyak atsiri merupakan campuran senyawa organik yang tersusun atas 25 atau lebih senyawa yang berlainan. Sebagian diantara tersusun atas karbon dan hidrogen atau karbon, hidrogen, dan oksigen. Perbedaan ini akan menyebabkan campuran senyawa dalam minyak atsiri mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda. Minyak atsiri *Pogostemon cablin* Benth yang berwarna kuning diuji dengan kromatografi lapis tipis.

Pengujian ini bertujuan untuk mengelompokkan senyawa dalam minyak atsiri *Pogostemon cablin* Benth berdasarkan tingkat kepolarannya.



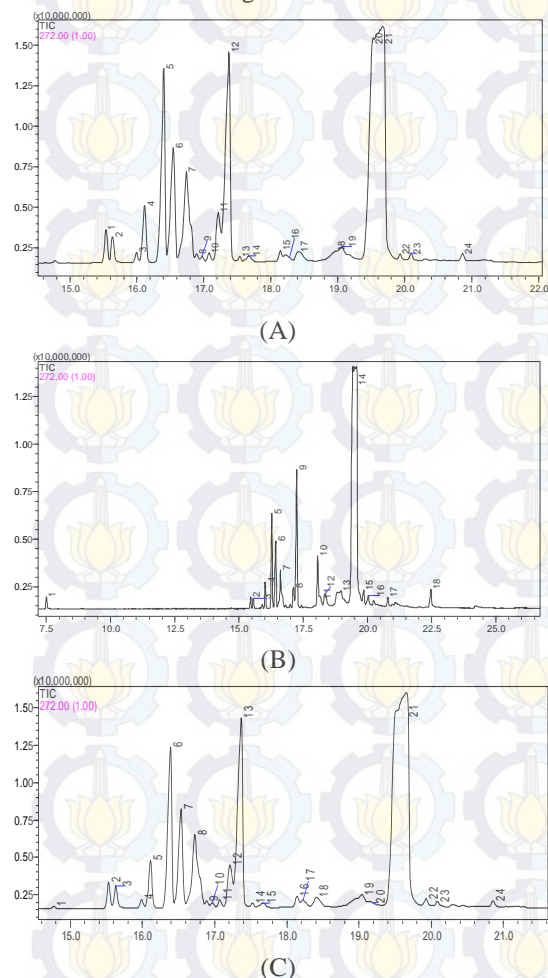
Gambar 3.1 KLT minyak atsiri A, B dan C

Adanya tiga noda yang tampak jelas dapat disimpulkan bahwa dalam minyak atsiri sampel A, B, dan C terdapat 3 kelompok senyawa yang mempunyai tingkat kepolaran yang berbeda. Berdasarkan teori "like dissolve like", dengan fasa diam yang bersifat polar dan fasa gerak yang cenderung non polar, maka noda paling atas adalah kelompok senyawa-senyawa non polar sedangkan noda paling bawah adalah kelompok senyawa-senyawa polar yang ada dalam minyak atsiri tanaman ini. Hasil KLT ini didukung oleh data KG-SM yang menunjukkan bahwa kandungan kimia minyak atsiri ini terdiri dari komponen yang mempunyai polaritas yang berbeda.

### 3.2 Analisa Komponen Minyak Atsiri dengan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM)

Analisa KG-SM dilakukan untuk mengetahui komponen senyawa penyusun minyak atsiri *Pogostemon cablin* Benth. Kromatogram hasil analisis KG-SM menunjukkan bahwa komposisi kimia minyak atsiri ini terdiri dari beberapa senyawa dengan kadar yang berbeda pada sampel A, B dan C. Senyawa minyak nilam antara lain  $\beta$ -pinene,  $\delta$ -elemene,  $\beta$ -patchoulene, sychellene, caryophyllene,  $\alpha$ -patchoulene,  $\alpha$ -guaine,  $\beta$ -selinene, asam palmitat dan komponen terbesarnya adalah Patchouli alkohol. Hal ini ditunjukkan dari puncak-puncak kromatogram yang terbentuk. Urutan senyawa dilihat dari waktu retensinya. Senyawa yang mempunyai waktu

retensi paling kecil adalah senyawa yang paling ringan dan mudah menguap sehingga terbawa pertama kali oleh fasa gerak yang berupa gas argon dalam kolom Kromatografi Gas.



Gambar 3.2 kromatogram minyak atsiri (A) daun, (B) batang dan (C) campuran

Komponen utama minyak atsiri dari tanaman nilam adalah *patchouli alcohol* yang menentukan mutu minyak nilam. Kadar *patchouli alcohol* dari sampel A sebesar 46,52%, sampel B sebesar 62,452% dan sampel C sebesar 46,92%. *Patchouli alcohol* dari sampel B atau dari batang memiliki kadar paling tinggi, namun rendemen dari minyaknya sangat rendah. Dari hasil analisa ini terlihat bahwa *patchouli alcohol* mempunyai persentase terbesar pada batang, tapi sangat sedikit pada daun.

### 3.3 Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)

Senyawa bioaktif hampir selalu toksik pada dosis tinggi, oleh karena itu daya bunuh *in vivo* dari senyawa terhadap hewan uji dapat digunakan untuk menganalisa bioaktivitas dari suatu ekstrak tumbuhan. Salah satu organisme yang sesuai untuk hewan uji adalah *brine shrimp* (udang laut). Untuk mengetahui toksisitas minyak atsiri *Pogestemon cablin* dari daun (A), batang (B)

dan campuran (C) dalam penelitian ini digunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

Uji BSLT dilakukan terhadap minyak atsiri daun (A), batang (B) dan campuran (C) dari tanaman *Pogestemon cablin* Benth dari Tempursari, Malang, Jawa Timur dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* L. Uji bioaktivitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) mengacu pada penelitian Meyer dan Ferrigini dalam jurnal *Plant Medica*, volume 45 (1982), hal 31-34. Pengujian dilakukan untuk mengetahui kemampuan sampel untuk mematikan larva udang (toksik) dengan menggunakan variasi konsentrasi, yaitu 125 ppm; 62,5 ppm; 31,25 ppm; 15,625 ppm; 7,8125 ppm dan 3,906 ppm. Pengamatan terhadap jumlah kematian larva dilakukan setelah 24 jam. Dari pengujian dan perhitungan yang dilakukan diperoleh nilai  $LC_{50}$  dari masing-masing minyak adalah A sebesar 22,09 ppm, B sebesar 19,16 ppm, dan C sebesar 22,10 ppm.

Menurut Meyer dan Ferrigini (1982) suatu senyawa dikatakan aktif pada uji toksisitas menggunakan metode BSLT dengan konsentrasi maksimal 1000 ppm, jika memiliki harga  $LC_{50} \leq 500$  ppm dan dikatakan tidak aktif jika memiliki harga  $LC_{50} > 500$  ppm. Pada pengujian yang dilakukan pada sampel A, B dan C konsentrasi maksimal yang digunakan sebesar 125 ppm, oleh karena itu ketiga minyak atsiri tersebut dikatakan toksik jika mempunyai nilai  $LC_{50} \leq 62,5$  ppm atau setengah dari konsentrasi maksimal yang digunakan dan tidak toksik jika harga  $LC_{50} > 62,5$  ppm.

### 3.4 Uji Insektisida Menggunakan Larva Instar III Nyamuk *Aedes aegypti*

Uji insektisida dilakukan terhadap Larva Instar III nyamuk *Aedes aegypti*. Sampel yang digunakan adalah sampel A, B, dan C yang dibuat dalam variasi konsentrasi. Variasi konsentrasi dimulai dari 1000, 500, 250, 125, 62,5 dan 31,25 ppm. Pengamatan dimulai setelah sampel dan larva dibiarkan kontak selama 24 jam.

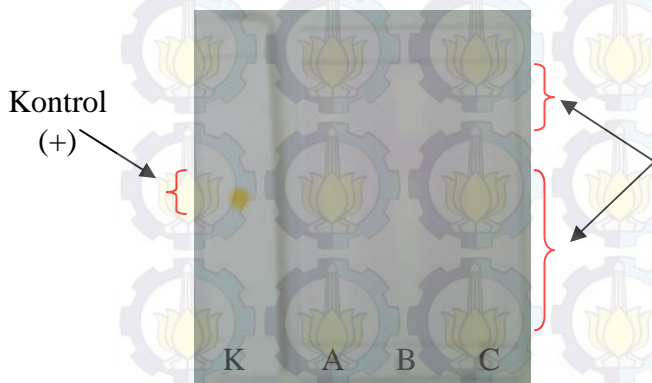
Hasil pengamatan aktivitas minyak atsiri terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti* dilihat dari berapa banyak larva yang hidup dan yang mati setelah pemaparan selama 24 jam. Nilai  $LC_{50}$  Dari pengujian dan perhitungan yang dilakukan diperoleh nilai  $LC_{50}$  dari masing-masing minyak adalah A sebesar 49,99 ppm, B sebesar 27,84 ppm, dan C sebesar 48,80 ppm.

Suatu senyawa dikatakan aktif jika mempunyai harga  $LC_{50} \leq 500$  ppm dan tidak aktif jika  $LC_{50} > 500$  ppm [8]. Hasil uji insektisida terhadap larva instar III nyamuk *Aedes aegypti* menunjukkan bahwa minyak atsiri sampel A, B dan C aktif sebagai insektisida. Aktifitas minyak atsiri ini kemungkinan diberikan oleh senyawa *patchouli alcohol* yang merupakan komponen terbesar dalam sampel minyak nilam

dari batang. Hasil ini sesuai dengan penelitian Henderson (2003) yang menyatakan bahwa senyawa *patchouli alkohol* dalam minyak nilam aktif sebagai penghambat pertumbuhan rayap *Coptotermes shiraki*.

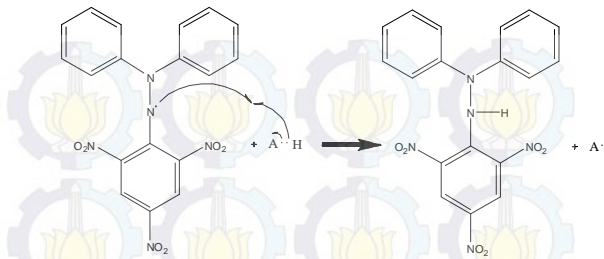
### 3.5 Uji Antioksidan

Senyawa antioksidan merupakan inhibitor penghambat oksidasi. Cara kerja senyawa antioksidan adalah bereaksi dengan radikal bebas reaktif membentuk radikal bebas tak reaktif yang relatif stabil. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari pembentukan radikal bebas. Antiradikal bebas (antioksidan) merupakan aktivitas suatu senyawa yang dalam kadar rendah dapat mencegah terjadinya oksidasi dari substrat yang mudah teroksidasi. Minyak atsiri yang terdiri dari senyawa terpenoid berpotensi sebagai antioksidan. Uji aktivitas antioksidan dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa ekstrak dalam menghambat terjadinya reaksi oksidasi. Senyawa A, B C dan kurkumin (K) sebagai pembanding ditotolkan ke plat KLT dan di elusi dengan n-heksan: etil asetat (8,5:1,5), kemudian larutan DPPH 0,04% yang berwarna ungu disemprotkan pada plat.



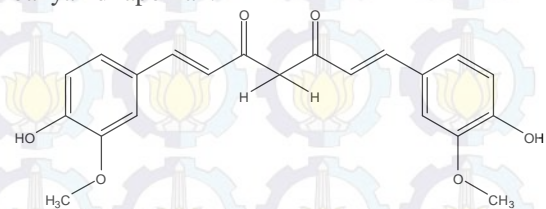
Gambar 3.3 Kualitatif Antioksidan minyak atsiri daun nilam (A), Batang nilam (B), campuran (C) dan kurkumin (K)

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil dengan delokalisasi elektron yang berlebih. Delokalisasi ini meningkatkan warna violet dan absorbansi dalam etanol pada 517 nm. Ketika DPPH bersama dengan senyawa lain yang siap mendonorkan atom hidrogen, maka akan terbentuk DPPH nonradikal (2,2-difenil-1-pikrilhidrazin) yang ditandai dengan hilangnya warna violet berubah menjadi kuning pucat dari pikril yang masih ada.



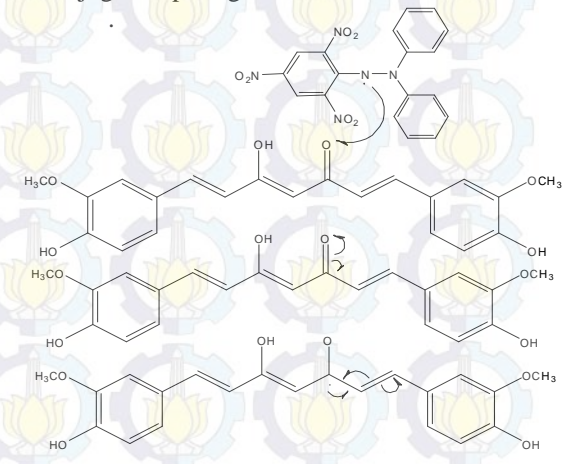
Gambar 3.4 reaksi DPPH dengan antioksidan

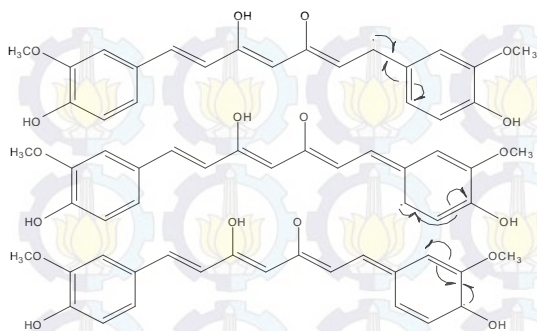
Komponen senyawa dalam minyak atsiri nilam yang sebagian besar terdiri dari senyawa siklik tak jenuh memungkinkan sebagai pendonor proton ke DPPH sehingga terbentuk DPPH nonradikal. Dari gambar 4.15 terlihat bahwa senyawa (A), (B) dan (C) berwarna kuning, berarti DPPH nonradikal terbentuk sehingga warna violet berubah menjadi kuning. Sulit untuk mengetahui senyawa spesifik dalam minyak atsiri nilam ini yang aktif sebagai antioksidan karena dalam uji kualitatif terlihat bahwa semua kolompok senyawa baik itu kelompok senyawa polar, semi atau non polar menunjukkan hasil positif antioksidan (gambar 4.15). Senyawa Kurkumin yang digunakan sebagai kontrol positif antioksidan, menunjukkan perubahan warna kuning yang lebih cerah. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari minyak atsiri kurkumin lebih tinggi dibandingkan dengan *pogostemon cablin* sebagaimana yang telah banyak dilaporkan.



Gambar 3.5 Struktur kurkumin

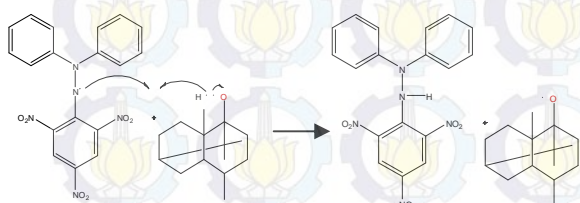
Kurkumin menangkap radikal bebas dari DPPH dan distabilkan oleh ikatan rangkap terkonjugasi seperti gambar 3.6





Gambar 3.6 Mekanisme Reaksi Antioksidan Kurkumin

Senyawa terpenoid yang ada dalam minyak atsiri *Pogostemon cablin* ini merupakan senyawa monoterpen dan sesquiterpen. Seperti yang pernah dilaporkan oleh Ruberto dan Barata (1999) mengenai aktivitas antioksidan terhadap komponen minyak atsiri bahwa aktivitas antioksidan dipengaruhi oleh struktur senyawanya. Golongan senyawa monoterpen hidrokarbon memiliki aktivitas yang tinggi karena dipengaruhi oleh metilen aktif seperti  $\alpha$ -pinene dan  $\beta$ -pinene. Sesquiterpen hidrokarbon seperti trans-caryophyllen dan  $\alpha$ -humulene mempunyai aktivitas rendah sedangkan sesquiterpen teroksigenasi seperti linalol justru berpotensi sebagai pro-oksidan yang membentuk radikal baru yang lebih kuat. Meskipun minyak atsiri *Pogostemon cablin* mengandung monoterpen yang aktif sebagai antioksidan, namun patchouli alkohol yang termasuk dalam sesquiterpen teroksigenasi merupakan pro-oksidan, sehingga aktifitas antioksidan dari minyak atsiri ini sangat rendah. Gambar 3.7 menunjukkan proses penangkapan radikal bebas oleh senyawa patchouli alkohol dalam minyak nilam.



Gambar 3.7 Reaksi DPPH dengan patchouli alkohol

#### 4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan bahwa Minyak Atsiri dari daun (A), batang (B) dan campuran batang-daun (C) tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) memiliki rendemen yaitu 2,97% untuk minyak atsiri A, 0,15 % untuk minyak atsiri B dan 2% untuk Minyak atsiri C. Komponen utama dari ketiga sampel adalah patchouli alchohol dengan kelimpahan tertinggi pada batang (B) yaitu sebesar 62,45% dibanding

dengan minyak atsiri daun (46,52%) dan campuran (46,92%).

Minyak atsiri batang (B) mempunyai toksisitas lebih besar dengan nilai  $LC_{50}$  19,16 ppm dibandingkan dengan minyak atsiri daun (A) dan campuran (C) dengan nilai  $LC_{50}$  secara berturut-turut 22,09 ppm dan 22,10 ppm. Uji insektisida minyak atsiri dilakukan terhadap larva instar III nyamuk *Aedes aegypti*. Hasil pengujian menunjukkan bahwa minyak atsiri A, B dan C aktif sebagai insektisida alami dengan nilai  $LC_{50}$  masing-masing sebesar 46,40 ppm, 31,04 ppm dan 47,59 ppm. Uji kualitatif antioksidan dengan DPPH menunjukkan minyak atsiri dari tanaman nilam berpotensi sebagai antioksidan.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih ini disampaikan kepada Allah SWT atas semua rahmatNya, Bunda, dan Purba atas semua doa dan semangat yang tiada henti, Bu Dra. Yulfi Zetra, MS dan Pak Agus untuk bimbingan dan semangat yang tiada henti, teman-teman C-25, dan semua pihak yang telah membantu dalam penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Santoso, H. B., 1990, *Nilam Bahan Industri Wewangian*, Kanisius, Yogyakarta
- Biro PusatStatistik, 2005, *Statistik Perdagangan Luar Negeri 2004*, BPS, Jakarta
- Agus, K. dan Ludi, M., 2004, *Nilam Tanaman Beraroma Wangi Untuk Industri Parfum dan Kosmetika*, Agromedia Pustaka, Tangerang
- Ketaren, S., 1985. *Pengantar teknologi minyak atsiri*. Balai Pustaka. Jakarta
- Sonwa, M.M., 2001, *Isolation and structure elucidation of essential oil constituents: comparative study of the oils of Cyperus alopecuroides, Cyperus papyrus and Cyperus rotundus*. Hamburg:2000. Dissertation for the fulfillment of the requirements for the degree of doctor from Mbamougong Cameroon
- Tsai, Ying, 2005,  *$\alpha$ -Bulnesene, a PAF Inhibitor isolated from the Essential oil of Pogostemon cablin*, *Fitoterapia*, 78,7 – 11
- Salim, Takiyah, 2007, *Pengaruh Suhu Pengeringan Daun Nilam Terhadap Rendemen Penyulingan dan Kualitas Minyak yang Dihasilkan*, Balai Besar Pengembangan Teknologi Tepat Guna-LIPI, Bandung
- Meyer, Laughlin & Ferrigini, 1982, *Brine Shrimp: Convenient General Bioassay for Active Constituent*, *Planta Medica*, 45, 31 – 34
- Henderson, Gregg, 2003, *Toxicity and Repellency of Patchouli Alcohol Against Formosan Subterranean Termites Coptotermes Shiraki (Isoptera : Rhinotermitidae)*, Departement of Entomology, Louisiana Agricultural Experiment Station, Louisiana