

Uji Aktivitas *Repellent* Sediaan Gel Minyak Atsiri Herba Lemon Balm (*Melissa Officinalis L*) Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*

Repellent Activity of Lemon Balm Herb (Melissa Officinalis L) Essential Oil Gel Againsts Mosquito of Aedes aegypti Species

Rahmah Fatimah Nurfany¹, Purwati^{2*}

¹ Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta Utara, Indonesia

² Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jakarta Utara, Indonesia

Alamat E-mail Dari *purwati@uta45jakarta.ac.id

ABSTRAK

Nyamuk *Aedes aegypti* merupakan vektor utama penyebab penyakit DBD. Penggunaan *repellent* nyamuk berbahan aktif kimia sintetis berdampak buruk bagi kesehatan. *Repellent* yang berasal dari minyak atsiri mampu memproteksi kulit dari gigitan nyamuk dengan aman. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas *repellent* sediaan gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) dengan variasi konsentrasi FI (0,5 %), FII (1 %), FIII (2 %) pada nyamuk *Aedes aegypti*. Evaluasi fisik sediaan gel meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, pH, viskositas, daya sebar yang disimpan selama 8 minggu dan uji iritasi selama 24 jam. Pengujian aktivitas *repellent* nyamuk dilakukan dengan pengolesan gel uji terhadap masing-masing lengan 5 relawan dan dimasukkan ke dalam kandang berisi 50 ekor nyamuk betina secara bergantian. Banyaknya hinggapan nyamuk pada lengan relawan dihitung selama 4 jam, dimulai dari jam ke-0 sampai jam ke-4 dengan 5 kali pengulangan tiap jamnya dan setiap pengulangan dilakukan selama 5 menit. Uji analisa statistik *One Way ANOVA* menunjukkan ada perbedaan bermakna antar masing-masing formula gel perlakuan dengan taraf signifikansi ($p < 0,05$). Hal ini berarti bahwa masing-masing konsentrasi sediaan gel minyak atsiri herba lemon balm memiliki perbedaan aktivitas sebagai *repellent* nyamuk *Aedes aegypti*. Konsentrasi paling baik didapat pada F III (2 %) yang memiliki rata-rata keseluruhan daya proteksi sebesar 91,55 % selama 4 jam.

Kata kunci: *Aedes aegypti*, Gel, Minyak Atsiri, *Melissa officinalis L*, *Repellent*

ABSTRACT

Aedes aegypti is a species of mosquito that is the primary vector of DHF. The usage of synthetic chemical based insect *repellants* has been known to carry negative effects on human health. In contrast, the more natural essential oil based *repellants* can protect the skin from insect bites relatively safely. The study was done to ascertain the extent of lemon balm (*Melissa officinalis L*) herb's essential oil based gel *repellent* activity. The *repellent* was made with varying concentrations of 0,5%, 1% and 2%. A gel base without any active component was used as based synthetic *repellent* was used as a positive control. The *repellent* underwent physical evaluation for 8 weeks, including organoleptic, homogeneity, acidity, viscosity, and spreadability tests. An irritation test was also done for 24 hours. The *repellent* activity testing was done by spreading the gel formula to each arm of five subjects, which will then be inserted into a cage containing 50 samples of female mosquito. The number of times a mosquito lands on the arm is counted as the number of times an arm was "bitten" by the mosquito. The testing was done 4 hours. *One way ANOVA* statistical analysis

shows that each formula exhibit a significant difference between each other with a significance value of $p < 0,05$. This concluded that each concentration of lemon balm herb essential oil based *repellent* exhibit different levels of activity. The formula with a 2% concentration exhibits the highest activity with 91,55% protection against mosquito bites.

Keywords: *Aedes aegypti*, Essential Oil, Gel, *Melissa officinalis L*, *Repellent*

PENDAHULUAN

Peran vektor dalam penyebaran penyakit menjadi masalah serius untuk ditangani terutama nyamuk. Beberapa jenis nyamuk menyebabkan penyakit berbahaya, salah satunya penyakit demam berdarah (DBD) yang ditularkan melalui gigitan nyamuk *Aedes aegypti* sebagai vektor utama. Vektor ini menularkan virus *dengue* ke hospesnya dengan mereplikasi virus di dalam kelenjar limfe badan (1).

Berdasarkan data yang diperoleh dari Kemenkes RI bagian Direktorat Pengendalian Penyakit Tular Vektor dan Zoonosis (2) menyebutkan bahwa sampai akhir Januari tahun ini, 12 Kabupaten dan 3 Kota dari 11 Provinsi di Indonesia telah masuk kategori Kejadian Luar Biasa (KLB) penyakit DBD. Besarnya penyebaran KLB tersebut, membuat masyarakat berupaya untuk mencegah gigitan nyamuk *A. aegypti*, salah satunya dengan menggunakan penolak serangga (*insect repellent*) (1).

Repellent serangga adalah zat yang memiliki bau yang tidak disukai oleh serangga sehingga mampu mengusir

serangga yaitu nyamuk (3). *Repellent* dipilih karena harganya terjangkau dan mudah diaplikasikan pada permukaan kulit tubuh yang bersangkutan. Namun demikian, bahan aktif yang dipakai tidak selalu aman untuk diaplikasikan ke tubuh (4).

Berbagai macam bentuk sediaan *repellent*, seperti *spray*, *lotion*, obat nyamuk bakar (*coil*) dan elektrik yang beredar di pasaran sebagian besar mengandung bahan aktif kimia sintetis DEET (*N,N-diethyl-3-methylbenzamide*). Patel *et al.*, (5) mengemukakan bahwa penggunaan DEET dapat menyebabkan ruam, pembengkakan, iritasi bahkan kanker sehingga perlu adanya alternatif pencegahan menggunakan *repellent* alami yang berasal dari minyak atsiri herba lemon balm (6). Herba ini berkhasiat sebagai larvasida, ovisidal dan *repellent* nyamuk karena menghasilkan aroma lemon segar yang tidak disukai nyamuk (7). Minyak atsiri mampu menutupi bau yang dikeluarkan tubuh manusia sehingga reseptor penciuman nyamuk menjadi terganggu (8)(9).

Terdapat 24 komponen minyak atsiri yang terkandung dalam herba lemon balm (*Melissa officinalis L.*). Komponen utama penyusun minyak atsiri yang berguna sebagai *repellent* diantaranya yaitu *sitronelal* (22,46 %); *β -sitronelol* (14,69 %); *linalool* (1,22 %); *geraniol* (17,74 %); *geranial* (11,55 %) dan *geranil aasetat* (12,47 %). Aktivitas *repellent* terbesar terdapat pada senyawa *sitronelal* dengan konsentrasi 0,75 dan 1,50 mg/cm² yang memberikan perlindungan 100 % atau sampai 210 menit terhadap nyamuk *Anopheles stephensi L* (10).

Pengaplikasian langsung minyak atsiri pada kulit dinilai kurang efektif karena sifat dari minyak atsiri yang mudah menguap pada suhu kamar (11) sehingga perlu upaya pemformulasian menjadi sediaan gel *repellent* yang efektif menahan bau minyak atsiri tersebut. Sediaan gel dipilih karena kemampuan penyebarannya baik di kulit, pelepasan obat baik, penguapan lambat dari kulit sehingga timbul sensasi dingin dan mudah dicuci air serta tidak memiliki hambatan fungsi rambut secara fisiologis (12).

Berdasarkan latar belakang di atas, maka penelitian mengenai aktivitas *repellent* terhadap nyamuk *A. aegypti* dari gel minyak atsiri herba lemon balm menarik untuk dilakukan.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan yang diperlukan dalam penelitian adalah herba lemon balm (*Melissa officinalis L.*) yang telah memenuhi kriteria panen diperoleh dari Bumi Herbal-Dago, Bandung, Jawa Barat. Bahan pembanding yang digunakan ialah basis gel tanpa pemberian minyak atsiri herba lemon balm sebagai kontrol negatif dan lotion *repellent* sintesis mengandung DEET sebagai kontrol positif. Bahan-bahan formulasi yaitu, Karbopol 940, Trietanolamin, Propilen glikol, Etanol 96 %, dan Metil paraben. Telur nyamuk *A. aegypti* Strain Liverpool turunan /F 110 yang diperoleh dari Laboratorium Entomologi Kesehatan Bagian Parasitologi dan Entomologi, Departemen IPHK, Fakultas Kedokteran Hewan IPB dan dipelihara menjadi nyamuk dewasa dengan larutan gula 10 %. Pengujian dilakukan pada 5 orang relawan dewasa yang berusia 21-23 tahun.

Peralatan

Peralatan yang digunakan meliputi timbangan gram digital (*Nagata*®), seperangkat alat ketel uap-air, timbangan duduk jarum (*Nagata*®), piknometer 10 mL (*Pyrex*®), refraktometer (*Atago*

R5000®), Gas Cromatography-Mass Spectrometer (Agilent Technologies 7890®), timbangan gram analitik (Boeco Germany®), kompor listrik (Maspion®), alat-alat gelas (gelas ukur, beaker glass, gelas erlenmeyer (Pyrex®)), mortir, alu, sudip, batang pengaduk kaca, spatel, pipet tetes, botol plastik flip-flop 100 mL sebanyak 4 buah dan 12 buah botol vial, objek gelas (General Care®), pH meter (Hanna HI 8424 ®), viskometer Brookfield Syncho-Electric, oven (Mettler®), lemari pendingin (Panasonic®), kaca daya sebar, anak timbangan, kasa steril (Natakasa Masinal®), plester rol kain (Leukoplast®), 1 buah kandang nyamuk untuk pemeliharaan, 1 buah kandang nyamuk untuk pengujian dengan 2 lubang di depan berukuran 40-50 cm (p) x 40-50 cm (l) x 40-50 cm (t), aspirator, nampan plastik (Lion Mas®), gelas plastik bekas (Aqua®), botol plastik bekas, pipet plastik, sarung tangan (Sensi®), masker tali (Diapro®), stopwatch dan alat penghitung (counter) (SXH 5136®).

Persiapan simplisia

Determinasi herba lemon balm dilakukan di “Herbarium Bogorienses” Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi, LIPI-Cibinong, Bogor untuk memastikan kebenaran simplisia dari tanaman uji.

Ekstraksi, identifikasi dan penetapan sifat fisika-kimia minyak atsiri

Destilasi uap-air minyak atsiri dilakukan di Laboratorium Destilasi BALITTRO Bogor. Sebanyak 10 kg simplisia herba lemon balm ditimbang untuk menentukan bobot awal simplisia, kemudian simplisia dimasukkan kedalam ketel uap yang telah diisi air dengan kondisi permukaan air tidak berada jauh di bawah saringan. Lamanya proses destilasi selama 4 jam di atas kompor bersuhu 100°C dengan tekanan uap 1 atm.

Hasil yang diperoleh ditandai dengan terbentuknya lapisan antara air dan minyak atsiri. Banyaknya volume (mL) minyak yang dihasilkan dicatat dan ditampung dalam corong pemisah. Lapisan air yang masih bercampur minyak atsiri dilakukan *salting out* menggunakan larutan NaCl 10 % untuk mendapatkan minyak atsiri murni dan ditempatkan langsung dalam gelas ukur. Kemudian identifikasi dan ditetapkan sifat fisika-kimia minyak atsiri meliputi: nilai rendemen, organoleptis, indeks bias dan bobot jenis.

Formulasi sediaan gel minyak atsiri

Formulasi gel minyak atsiri herba lemon balm dibuat dengan menggunakan

rancangan formula dari Setyowati (13) yang telah dimodifikasi.

Tabel 1. Formulasi gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*)

Bahan	Konsentrasi standar	Konsentrasi (% b/b)					Kegunaan
		KP	KN	F1	F2	F3	
Minyak atsiri herba lemon balm	-	Lotion <i>Reppellent</i> Sintetis (DEET)	0	0,5	1	2	Zat aktif
Karbopol 940	0,5-2,0%		2g	2g	2g	2g	Basis gel
trietanolamin	2,0-4,0%		2 mL	2 mL	2 mL	2 mL	Pentabil basis
Propilen glikol	≈ 15%		15 g	15 g	15 g	15 g	humektan
Etanol 96%	-		1 mL	1 mL	1 mL	1 mL	pelarut
Metil paraben	0,02-0,3%		0,1 g	0,1 g	0,1 g	0,1 g	pengawet
Aquadest	-		ad 100	ad 100	ad 100	ad 100	pelarut

Keterangan: KP (kontrol positif), KN (kontrol negatif), F (formula)

Pembuatan basis gel dilakukan dengan menabur karbopol 940 di atas aquadest sambil digerus perlahan hingga mengembang, kemudian trietanolamin dimasukkan dan digerus sampai terbentuk massa gel yang kental dan transparan. Tahap berikutnya, metil paraben dilarutkan dengan etanol 96 % sampai homogen, lalu propilen glikol ditambahkan sambil diaduk hingga homogen kemudian dicampurkan dengan basis gel sambil digerus hingga homogen. Selanjutnya, minyak atsiri herba lemon balm ditambahkan ke dalamnya. Terakhir, aqua dest ditambahkan sampai bobot gel 100 gram dan diaduk hingga homogen.

Evaluasi fisik sediaan gel

Pengujian stabilitas gel

Masing-masing formula disimpan pada suhu rendah (4°C), suhu ruang

(27°C) dan suhu tinggi (40°C) selama 8 minggu dimulai dari minggu ke-0, 2, 4, 6 dan 8 dan diamati tiap minggunya (14).

Parameter uji stabilitas gel

1). Pengamatan organoleptis

Dengan mengamati bau, warna, dan tekstur secara visual dari formula tiap minggunya (15).

2). Pengamatan homogenitas

Formula gel dioleskan pada objek gelas. Gel dikatakan homogen apabila tidak ada butiran-butiran kasar diatas kaca tersebut (16).

3). Pengukuran derajat keasaman (pH)

Diukur dengan pH meter. Formula gel dikatakan baik bagi kulit apabila pH sama dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5 (17).

4). Penentuan viskositas

Ditentukan dengan cara menempatkan

formula gel dalam alat *Viskometer Brookfield DV-E* dijalankan setelah diatur *spindle* 4 hingga terendam dan kecepatan 6 rpm (15). Viskositas gel berkisar antara 5.000-100.000 cps dan optimal 20.000 cps (18).

5). Pengukuran daya sebar

Formula gel diletakkan di atas kaca berukuran 20 x 20 cm sebanyak 1 gram. Selanjutnya, kaca ditutupi dengan kaca yang lain dan diletakkan pemberat diatasnya dengan bobot 150 gram lalu diameter diukur setelah 1 menit. Daya sebar sediaan semipadat yang baik untuk penggunaan topikal berkisar pada diameter 5-7 cm (16).

6). Pengamatan iritasi

Masing-masing formula sebanyak 1 gram dioleskan pada lengan bawah bagian dalam dengan ukuran 2 x 2 cm, ditutup dengan perban dan di plester didiamkan selama 24 jam, diamati gejala iritasi yang timbul seperti kemerahan dan gatal-gatal pada kulit. Pengamatan iritasi ini dilakukan terhadap tiga orang relawan untuk tiga formula (19).

Uji aktivitas repellent sediaan gel minyak atsiri

Uji aktivitas *repellent* dilakukan di Laboratorium Penelitian Universitas 17 Agustus 1945 dalam ruangan persegi

dengan pintu dan ventilasi kaca tertutup rapat, bersuhu kamar (27°C), dan cahaya tidak terlalu terang disesuaikan dengan habitat nyamuk *Aedes aegypti*. Masing-masing lengan relawan yang telah dioleskan gel uji dimasukkan secara bergantian ke dalam kandang uji berisi 50 ekor nyamuk *Aedes aegypti* betina yang sebelumnya dipuaskan selama sehari. Pengamatan terhadap banyaknya nyamuk yang hinggap pada lengan kontrol negatif (kiri) dan lengan perlakuan (kanan) dilakukan selama 4 jam, dimulai dari jam ke-0 sampai jam ke-4. Setiap jam diulang sebanyak 5 kali dan setiap pengulangan dilakukan selama 5 menit. Banyaknya nyamuk yang hinggap selama pengujian dihitung. Jarak dari masing-masing ulangan adalah 5 menit. Daya proteksi *repellent* (daya tolak) yang diuji ditentukan berdasarkan daya proteksi yang dihitung dengan rumus:

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

Keterangan :

K : banyaknya hinggap pada lengan kontrol

R : banyaknya hinggap pada lengan perlakuan

Dikatakan efektif, apabila daya proteksi mencapai 90 % hingga jam ke-6 yang berlaku untuk *repellent* sintetis (20).

Analisa data statistik

Data dianalisis dengan uji deskriptif dan uji statistik. Untuk data yang diperoleh dari pengamatan organoleptis dan homogenitas dianalisis dengan uji deskriptif sedangkan pengukuran pH, penentuan viskositas dan pengukuran daya sebar serta aktivitas *repellent* formula gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dianalisis uji statistik parametrik *One Way ANOVA* menggunakan piranti lunak SPSS (*Statistical Package for the Social Science*) 16.0.

Syarat *ANOVA* diharuskan data terdistribusi normal dan homogen antar kelompok perlakuan dengan taraf kepercayaan 95 % atau menunjukkan perbedaan signifikan ($p > 0,05$).

Uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk* dan uji homogenitas dengan metode *Levene Test*. Bila data terdistribusi normal dan homogen dilanjutkan dengan uji statistik parametrik *One-Way ANOVA* untuk mengetahui perbedaan signifikansi antar kelompok dan uji *Post Hoc Test* dengan metode *LSD (Least Significant Different)* untuk mengetahui kelompok yang memiliki perbedaan bermakna.

Bila data tidak terdistribusi normal dan varians tidak homogen, dilakukan uji

statistik non-parametrik *Kruskal Wallis*, lalu uji post hoc dengan *Mann-Whitney Test*, dengan taraf kepercayaan 95% (21).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi

Berdasarkan surat keterangan hasil determinasi dengan No. surat 1722/IPH.1.01/If.07/VII/2017 yang bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian dinyatakan benar adalah herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) dari keluarga *Lamiaceae*.

Ekstraksi, identifikasi dan penetapan sifat fisika-kimia minyak atsiri

Dari hasil proses destilasi uap-air 10 kg simplisia herba lemon balm, minyak atsiri yang dihasilkan sebesar 10 mL atau persentase hasil sama dengan 0,1 % (v/b).

Tabel 2. Identifikasi dan penetapan sifat fisika-kimia minyak atsiri herba lemon balm

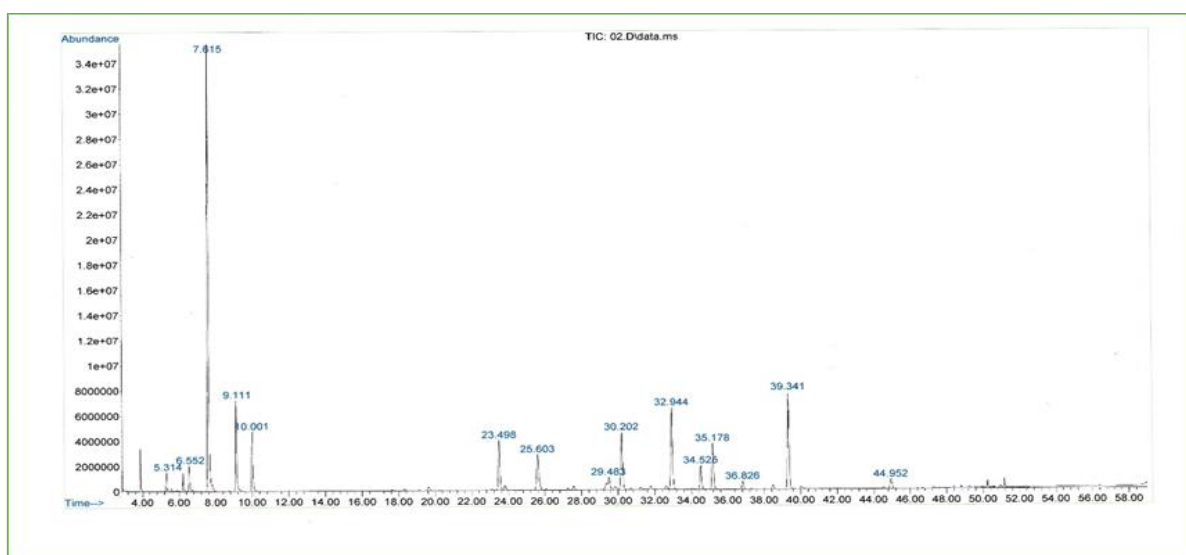
Identifikasi dan penetapan sifat fisika kimia	Kriteria spesifik	hasil
Organoleptis:		
Bau	karactersik	khas
bentuk	cairan	cair
warna	Kuning-coklat orage	kuning
rendemen	0,02-0,3%	0,1%
Indeks bias	1,3493	1,37
Bobot jenis	0,8500-0,9500	0,8593

Dari tabel 2 diketahui, bahwa minyak atsiri herba lemon balm berbentuk

cair, berwarna kuning dan berbau khas lemon. Nilai rendemen yang diperoleh sebesar 0,1 % v/b yang memenuhi kadar standar minyak atsiri herba lemon balm antara 0,02 % – 0,3 % (22). Indeks bias yang terbaca adalah 1,37 pada posisi skala 1 yang sesuai dengan nilai indeks bias

yang tercantum dalam artikel jurnal Abdellatif, et al., (23) yaitu 1,3493 dengan acuan ISO 280:1976. Penetapan bobot jenis minyak atsiri herba lemon balm didapatkan hasil 0,8593, dimana kriteria bobot jenis dari minyak atsiri herba lemon balm adalah 0,8500-0,9500 (24).

Analisa komponen minyak atsiri dengan GC-MS



Gambar 1. Kromatogram minyak atsiri herba lemon balm

Dari tabel 3, terdeteksi 14 komponen senyawa yang dominan tersusun dari golongan terpen, kandungan tertinggi diperoleh dari senyawa *D-limonen* (36,32%), *α-sitral* (9,49%), *geraniol* (9,13 %) lalu diikuti *γ-terpinen* (7,35%), *z-sitral* (6,38 %), *linalool L* (5,84%), *trans-karyopilen* (4,98%), *β-sitronelol* (4,86%), *p-simen* (4,41%), *β-mirsen* (2,74%), *geranil isobutirat*

(2,55%), *sitronelol asetat* (2,26%), *β-pinen* (1,30%) dan *karyopilen oksid* (1,24%). Bau wangi dari minyak atsiri herba lemon balm disebabkan karena kandungan senyawa terpen yang tergolong monoterpen teroksidasi sedangkan senyawa terpen golongan monoterpen hidrokarbon hanya berpengaruh kecil terhadap nilai bau wangi walaupun jumlahnya lebih besar

pada tanaman (25).

Tabel 3. Hasil analisa komponen minyak atsiri herba lemon balm dengan GC-MS

No.	Puncak Senyawa	Waktu Retensi (tR)	Berat Molekul	Kandungan (%)	Senyawa	Golongan Senyawa
1.	Puncak 1	5.315	97	1,30	β -pinen	Monoterpen hidrokarbon
2.	Puncak 2	6.554	97	2,74	β -mirsen	Monoterpen hidrokarbon
3.	Puncak 3	7.615	99	36,32	D-limonen	Monoterpen hidrokarbon
4.	Puncak 4	9.111	97	7,35	γ -terpinen	Monoterpen hidrokarbon
5.	Puncak 5	10.001	97	4,41	p-simen	Monoterpen hidrokarbon
6.	Puncak 6	23.497	97	5,84	Linalool L	Monoterpen teroksidasi
7.	Puncak 7	25.061	99	4,98	Trans-karyopilen	Sesquiterpen hidrokarbon
8.	Puncak 8	29.482	91	2,26	Sitronelol asetat	Ester
9.	Puncak 9	30.201	97	6,38	Z-sitral	Monoterpen teroksidasi
10.	Puncak 10	32.944	96	9,49	α -sitral	Monoterpen teroksidasi
11.	Puncak 11	34.525	91	2,55	Geranil isobutirat	Ester
12.	Puncak 12	35.178	98	4,86	β -sitronelol	Monoterpen teroksidasi
13.	Puncak 13	39.340	94	9,31	Geraniol	Monoterpen teroksidasi
14.	Puncak 14	44.954	93	1,24	Karyopilen oksid	Sesquiterpen hidrokarbon

Evaluasi fisik sediaan gel

Pengamatan organoleptis

Pada pengamatan organoleptis selama 8 minggu yang disimpan dalam suhu berbeda, diketahui bahwa lamanya penyimpanan dan naiknya suhu berpengaruh dengan bau dan warna dari setiap formula gel uji sedangkan tekstur dan rasa tidak terjadi perubahan. Semakin lama sediaan disimpan dalam suhu tinggi, maka penguapan pada minyak juga semakin cepat dan mengakibatkan terserapnya oksigen di udara (oksidasi)

karena panas sehingga bau khas minyak atsiri berubah, warna sediaan menjadi lebih gelap, keruh dan menjadi lebih kental (25). Adanya pengawet dalam formula gel membuat gel bebas dari pencemaran mikroba, jamur dan kapang.

Pengamatan homogenitas

Hasil pengamatan homogenitas terhadap gel minyak atsiri herba lemon balm yang disimpan selama 8 minggu dalam suhu berbeda, menunjukkan bahwa semua formula gel tercampur merata dan

tidak terasa tekstur kasar saat dioleskan ke kulit. Bila suatu gel homogen, maka minyak atsiri yang berfungsi sebagai zat

aktif terdistribusi baik dalam gel sehingga aktivitas *repellent* tercapai.

Pengukuran derajat keasaman (pH)

Tabel 4. Hasil pengukuran derajat keasaman (pH) gel minyak atsiri herba lemon balm

Formula	Suhu Penyimpanan	pengukuran pH (Minggu Ke-)				
		0	2	4	6	8
FI (0,5%)	4° ± 2° C	6,30	6,28	6,26	6,25	6,24
	27° ± 2° C	6,29	6,27	6,25	6,24	6,22
	40° ± 2° C	6,27	6,26	6,24	6,23	6,21
FII (1%)	4° ± 2° C	6,21	6,19	6,18	6,19	6,16
	27° ± 2° C	6,20	6,18	6,17	6,15	6,14
	40° ± 2° C	6,19	6,18	6,15	6,14	6,13
FIII (2%)	4° ± 2° C	6,10	6,08	6,07	6,05	6,03
	27° ± 2° C	6,09	6,07	6,05	6,03	6,00
	40° ± 2° C	6,08	6,06	6,03	6,01	5,98

Dari tabel 4, hasil pengukuran pH selama penyimpanan 8 minggu dalam suhu berbeda menunjukkan semua formula gel mengalami perubahan pH yang cukup signifikan tiap minggunya. Hasil data statistik parametrik *One Way ANOVA* menunjukkan pH FI (p-value=0,001<0,05), pH FII (p-value=0,013<0,05) dan pH FIII (p-value=0,001<0,05) yang artinya ada perbedaan yang signifikan antara lama penyimpanan dengan masing-masing pH formula setiap minggunya. Sedangkan hasil uji *One Way ANOVA* antara suhu penyimpanan dengan masing-masing pH FI nilai (p-value=0,035<0,05), pH FII (p-

value=0,019<0,05) dan pH FIII (p-value=0,033<0,05) ada perbedaan yang signifikan antara suhu penyimpanan dengan masing-masing pH formula. Hal ini menunjukkan bahwa seluruh formula mengalami perubahan karena karbopol dan minyak atsiri herba lemon balm bersifat asam sehingga pH cenderung menurun. Selain itu, faktor lingkungan seperti, suhu, penyimpanan yang kurang baik dan zat aktif yang kurang stabil karena teroksidasi (26). Namun, perubahan nilai pH tersebut tidak terlalu berpengaruh selama masih dalam batasan rentang pH yang dapat diterima kulit sehingga gel terjamin keamanannya saat

digunakan.

Penentuan viskositas

Tabel 5. Hasil penentuan viskositas gel minyak atsiri herba lemon balm

Formula	Suhu Penyimpanan	Penentuan viskositas (Minggu Ke-)				
		0	2	4	6	8
FI (0,5%)	4° ± 2° C	16.500	17.100	17.400	17.500	18.000
	27° ± 2° C	16.400	17.000	17.500	17.700	18.100
	40° ± 2° C	16.400	17.100	17.400	17.800	18.300
FII (1%)	4° ± 2° C	15.300	15.500	16.100	16.400	16.600
	27° ± 2° C	15.000	15.400	15.800	16.000	16.300
	40° ± 2° C	15.300	15.400	16.000	16.200	16.300
FIII (2%)	4° ± 2° C	12.600	13.000	13.300	13.600	14.000
	27° ± 2° C	12.500	13.000	13.400	13.800	14.200
	40° ± 2° C	12.800	13.100	13.500	14.000	14.400

Keterangan: cp=centipoise

Dari tabel 5, hasil penentuan viskositas selama 8 minggu semua data nilai viskositas seluruh formula adalah normal dan homogen terhadap lama dan suhu penyimpanan. Hasil uji *One Way ANOVA* diketahui ada perbedaan yang signifikan ($p\text{-value}=0,000<0,05$) antara lama penyimpanan dengan masing-masing viskositas formula tiap minggunya. Pada suhu penyimpanan, data uji *One Way ANOVA* didapat nilai viskositas FI ($p\text{-value}=0,009<0,05$), viskositas FII ($p\text{-value}=0,007<0,05$) dan viskositas FIII ($p\text{-value}=0,008<0,05$) yang

berarti ada beda signifikan antara suhu penyimpanan dengan viskositas formula. Viskositas bergantung pada lama dan suhu penyimpanan. Semakin besar konsentrasi minyak atsiri, maka semakin kecil nilai kekentalan dan semakin naiknya suhu dan lama penyimpanan, maka semakin naik pula nilai kekentalannya. Hal ini disebabkan karena minyak atsiri yang mudah menguap, dan kekuatan matriks gel dalam basis gel yaitu karbopol yang memberikan suatu tahanan yang besar di dalam sediaan.

Pengukuran daya sebar

Tabel 6. Hasil pengukuran daya sebar gel minyak atsiri herba lemon balm

Formula	Suhu Penyimpanan	Pengukuran daya sebar (cm)				
		(Minggu Ke-)				
		0	2	4	6	8
FI (0,5%)	4° ± 2° C	6,6	6,5	6,4	6,3	6,2
	27° ± 2° C	6,5	6,5	6,4	6,3	6,2
	40° ± 2° C	6,4	6,3	6,2	6,1	6,1
FII (1%)	4° ± 2° C	6,7	6,7	6,6	6,5	6,4
	27° ± 2° C	6,7	6,6	6,5	6,4	6,3
	40° ± 2° C	6,6	6,5	6,4	6,3	6,3
FIII (2%)	4° ± 2° C	6,9	6,7	6,6	6,5	6,4
	27° ± 2° C	6,8	6,6	6,5	6,4	6,3
	40° ± 2° C	6,7	6,5	6,4	6,2	6,0

Keterangan: cm=centimeter (satuan daya sebar)

Hasil pengukuran daya sebar gel minyak atsiri herba lemon balm selama 8 minggu pada ketiga suhu berbeda menunjukkan semakin menurun diameter daya sebar gel tiap minggunya. Hal ini disebabkan minyak atsiri yang menguap dan kuatnya matriks gel dari basis karbopol sehingga mampu menahan penyebaran gel sehingga zat aktif yang dikeluarkan sedikit demi sedikit tersebar di kulit. Namun, besarnya penyebaran yang diperoleh masih memenuhi kriteria daya sebar gel yang baik di permukaan kulit. Besarnya diameter daya sebar berbanding terbalik dengan viskositas gel, dimana diameter daya sebar kecil, maka nilai kekentalannya semakin besar.

Pada uji *One Way ANOVA* nilai (p -value < 0,05) yang menyatakan bahwa data ada perbedaan signifikan antar lama penyimpanan dengan daya sebar masing-masing formula yaitu FI (p -value = 0,015 < 0,05), FII (p -value = 0,005 < 0,05) dan FIII (p -value = 0,004 < 0,05). Sedangkan uji *One Way ANOVA* pada suhu penyimpanan diperoleh nilai FI (p -value = 0,017 < 0,05), FII (p -value = 0,021 < 0,05) dan FIII (p -value = 0,023 < 0,05) yang berarti data ada perbedaan signifikan antara suhu penyimpanan dengan daya sebar masing-masing formula.

Pengamatan iritasi

Setelah formula gel dioleskan ke permukaan kulit relawan dan ditutup selama 24 jam, hasilnya tidak didapati ruam, kemerahan atau gatal-gatal pada kulit. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan gel aman digunakan.

Uji aktivitas *repellent* nyamuk *Aedes aegypti*

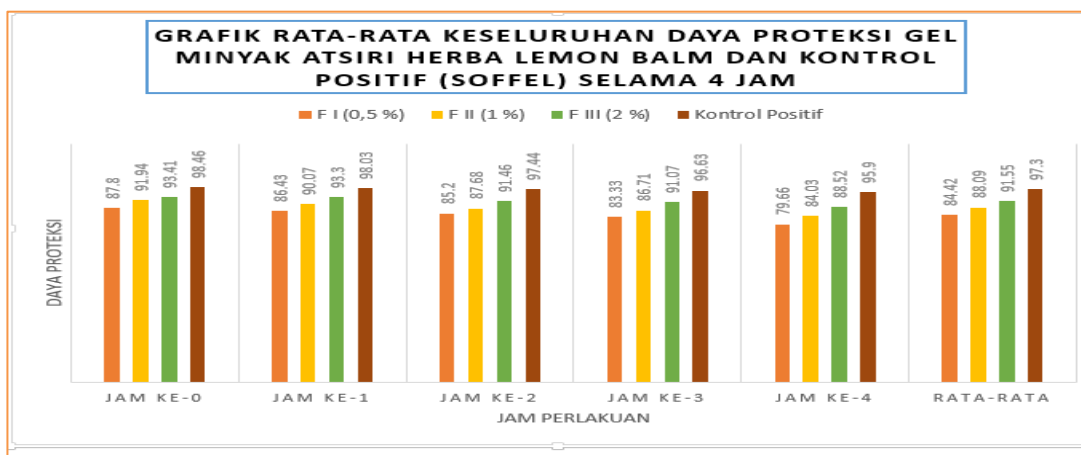
Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas *repellent* dengan menghitung daya proteksi dari seluruh konsentrasi gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L.*).

Dari tabel 7, daya proteksi FI (0.5%) memiliki daya proteksi 87.50 % pada jam ke-0 dan menurun pada jam ke-4 menjadi 79,66%. Pada FII (1 %) memiliki daya proteksi 91,94% pada jam ke-0 dan menurun pada jam ke-4 menjadi 84,03% dan FIII (2%) memiliki daya

proteksi sebesar 93,41% pada jam ke-0 dan menurun pada jam ke-4 menjadi 88,52% sedangkan pada kontrol positif yaitu sediaan *repellent* sintetis memiliki daya proteksi 98,46% pada jam ke-0 dan menurun menjadi 95,90% pada jam ke-4. Menurunnya daya proteksi dari jam ke-0 hingga jam ke-4 disebabkan karena minyak atsiri tidak tertahan lama pada basis saat dioleskan ke kulit lengan relawan sehingga bau yang dilepaskan lebih banyak seiring lamanya waktu perlakuan dibandingkan bau *repellent* sintetis yang lebih kuat tertahan atau melekat lama di permukaan kulit menyebabkan besarnya daya proteksi setiap jam. Namun, secara keseluruhan semakin besarnya konsentrasi minyak atsiri menunjukkan kecenderungan proteksi yang juga semakin baik.

Tabel 7. Persentase rata-rata hasil daya proteksi gel minyak atsiri herba lemon balm

Formula	Jam Ke- (%)					Rata-rata Keseluruhan Daya Proteksi (%)
	0	1	2	3	4	
F I (0,5 %)	87,80	86,43	85,20	83,33	79,66	84,42
F II (1 %)	91,94	90,07	87,68	86,71	84,03	88,09
F III (2 %)	93,41	93,30	91,46	91,07	88,52	91,55
Kontrol Positif	98,46	98,03	97,44	96,63	95,90	97,30



Gambar 2. Grafik rata-rata keseluruhan daya proteksi gel minyak atsiri herba lemon balm dan kontrol positif (Soffel®) selama 4 jam

Dilihat dari gambar 2, rata-rata keseluruhan daya proteksi selama 4 jam FI (0,5%), FII (1%), dan FIII (2%) berturut-turut adalah 84,42%, 88,09%, dan 91,55% sedangkan pada kontrol positif yang mengandung konsentrasi DEET 13% sebesar 97,3%. Dari hasil tersebut menunjukkan konsentrasi minyak atsiri tertinggi yaitu FIII (2%) mencapai angka 90% yang berarti pada konsentrasi tersebut adalah sediaan gel paling aktif sebagai *repellent* atau penolak nyamuk *Aedes aegypti* walaupun aktivitas *repellent*-nya tidak seampuh sediaan *repellent* berbahan kimia sintesis DEET). Bahan kimia sintesis mempunyai aktivitas repelensi hingga 12 jam dari waktu umumnya yaitu 4-6 jam (27). Hal ini juga dapat dilihat dari semakin naiknya grafik rata-rata daya proteksi seiring tingginya

konsentrasi bahan aktif minyak atsiri.

Adanya aktivitas *repellent* disebabkan karena bau wangi dari senyawa herba lemon balm yang tidak disukai nyamuk seperti, *D-limonen* (bau buah jeruk), α -*sitral* dan *z-sitral* (bau buah limau), *geraniol* (bau bunga mawar), *linalool L* (bau bunga lavender), β -*sitronelol* (bau daun sereh wangi) (28)(29), sedangkan pada sediaan *repellent* sintesis mengandung zat kimia aktif DEET yang pekat dan mampu menolak nyamuk hingga 100%. Konsentrasi bahan aktif sangat berpengaruh terhadap aktivitas *repellent*, dimana semakin besar konsentrasi minyak atsiri herba lemon balm maka daya proteksinya juga semakin meningkat sehingga aktivitas *repellent*-nya semakin lama.

Cara kerja *repellent* nyamuk *Aedes aegypti* adalah melalui bau minyak atsiri herba lemon balm yang telah diformulasikan menjadi sediaan gel. Ketika sediaan gel dioleskan dan melekat pada permukaan kulit, maka bau minyak atsiri tersebut merangsang reseptor penciuman (*olfactory receptor*) yang berada di antena dan reseptor pengecap (*gustatory receptor*) yang terletak di mulut nyamuk, kemudian reseptor diubah menjadi impuls yang diteruskan oleh saraf indera ke pusat saraf (otak) sehingga nyamuk akan menghindari sumber bau dan tidak berkeinginan menggigit lengan relawan (30).

Dari hasil penelitian, diketahui bahwa sediaan gel minyak atsiri herba lemon balm memiliki aktivitas *repellent* nyamuk selama 4 jam, namun belum tentu daya proteksi yang dihasilkan akan memenuhi standar ketika lama perlakuan diperpanjang. Akan tetapi, dengan adanya penelitian ini diharapkan sediaan gel minyak atsiri herba lemon balm dapat menjadi salah satu alternatif yang aman untuk dikembangkan sebagai *repellent* alami mengingat dampak buruk yang dapat terjadi dari penggunaan *repellent* sintetis terhadap kesehatan manusia. Analisa data statistik uji normalitas dilakukan pada daya proteksi formula gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa*

officinalis L) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dengan metode *Kolmogorov-Smirnov* dan *Shapiro-Wilk*. Pada data hasil uji statistik menunjukkan bahwa data normalitas yang didapat ($p\text{-value}>0,05$) artinya data daya proteksi masing-masing formula gel terdistribusi normal.

Uji homogenitas dilakukan pada daya proteksi formula gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* dengan menggunakan metode *Levene Test*. Data hasil uji statistik yang diperoleh dari daya proteksi formula gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti* memiliki nilai ($p\text{-value}>0,05$) maka data dinyatakan homogen.

Hasil uji *One Way ANOVA* menunjukkan adanya pengaruh perbedaan varian antar masing-masing formula gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) sebagai *repellent* nyamuk *Aedes aegypti*. Nilai sig pada *ANOVA* adalah ($p\text{-value}=0.000$; $p<0,05$) menunjukkan adanya perbedaan bermakna antar masing-masing formula gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti*.

Terakhir, data diuji dengan metode *LSD (Least Significant Different)*. Hasilnya menunjukkan bahwa nilai (p -

$value < 0,05$) yang berarti ada perbedaan bermakna antar masing-masing data tiap konsentrasi formula gel minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) yaitu antara KP (Kontrol Positif) dengan FI (0,5 %), FII (1 %), FIII (2 %) sebagai *repellent* nyamuk *Aedes aegypti*.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa :

1. Minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) dapat diformulasikan menjadi sediaan gel yang stabil selama penyimpanan 8 minggu untuk homogenitas, pH, viskositas dan daya sebar. Sedangkan pada organoleptis ditemukan ketidakstabilan pada bau dan warna seiring naiknya suhu dan gel tidak menimbulkan gejala iritasi.
2. Konsentrasi paling baik memberikan aktivitas *repellent* nyamuk *Aedes aegypti* ditujukan pada konsentrasi 2 % pada FIII dengan rata-rata keseluruhan daya proteksi sebesar 91,55 % selama 4 jam.
3. Semakin besar konsentrasi minyak atsiri herba lemon balm (*Melissa officinalis L*) dalam sediaan gel, maka daya proteksinya juga semakin tinggi dan aktivitas *repellent* nyamuk *Aedes aegypti* semakin lama.

DAFTAR PUSTAKA

1. Soedarto. Demam Berdarah Dengue: Dengue Haemorrhagic Fever. Jakarta: Penerbit Sagung Seto; 2012. 8, 12, 33, 47, 62–69, 116–127 p.
2. Kemenkes RI. Biro Komunikasi dan Pelayanan Masyarakat: Wilayah KLB DBD Ada di 11 Provinsi [Internet]. 2016. Available from: <http://www.depkes.go.id/article/print/16030700001/wilayah-klb-dbd-ada-di-11-provinsi.html>
3. Kemenkes RI. Pedoman Penggunaan Insektisida (Pestisida) Dalam Pengendalian Vektor. Jakarta; 2012.
4. Fradin MS, Day JF. Comparative efficacy of insect repellents against mosquitoes bites. N Engl J Med. 2002;347:1318.
5. Patel EK, Gupta A, Oswal BJ. A Review on: Mosquito Repellent Methods. Int J Pharm Chem Biol Sci. 2012;2(3):310–7.
6. Abbaszadeh B, Farahani HA, Valadabadi SA, Darvishi H. Nitrogenous fertilizer influence on quantity and quality values of balm (*Melissa officinalis L.*). J Agric

- Ext Rural Dev. 2009;1(1):31–3.
7. Tucker AO, Thomas DB. The big book of herbs: a comprehensive illustrated reference to herbs of flavor and fragrance. Loveland CO; 2000.
8. Maia M., Moore SJ. Plant-based insect repellents: a review of their efficacy, development and testing. Malar J. 2011;10(1):S11.
9. Kardinan A. Potensi Selasih Sebagai Repellent Terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. J Litri. 2007;13(2):39–42.
10. Baranitharan M, Dhansekar S, Murugan K, Kovendan K, Gokulakrishnan J. Chemical composition and laboratory investigation of *Melissa officinalis* essential oil against human malarial vector mosquito, *Anopheles stephensi* L. (Diptera: Culicidae). J Coast Life Med. 2016;4(12):969–73.
11. Guenther E. Minyak Atsiri Jilid I. Ketaren TS, editor. Jakarta: Penerbit Indonesia University Press; 1988. 103–297 p.
12. Voight Y. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Yogyakarta: Penerbit Gadjah Mada University Press; 1984. 1027 p.
13. Setyowati A. Formulasi Sediaan Gel Anti Nyamuk Dari Minyak Atsiri Nilam (*Pogostemon cablin* B) dengan Gelling Agent Karbopol dan Uji Aktivitasnya. Surakarta; 2015.
14. Chandira RM, Pradeep A, Pasupathi BD, Chinjaranjib BJ, Tripathi KK, Kumar KPS. Design, development and formulation of antiacne dermatological gel. J Chem Pharm Res. 2010;
15. Septiani S, Wathoni N, Mita S. Formulasi Sediaan Masker Gel Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Bandung; 2011.
16. Garg A, Aggarwal D, Garg S, Sigla AK. Spreading of Semisolid Formulation: An Update. Pharm Technol. 2002;
17. Osol AH. Remington's Pharmaceutical Science Fiftenth Edition. Pennsylvania: Mach Publishing Company; 1975.
18. Indrawati T. Formulasi Sediaan Kosmetik Setengah Padat. Jakarta: Penerbit ISTN.; 2010.
19. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Formularium Kosmetika Indonesia. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia; 1985.

20. Deptan RI. Metode Standar Pengujian Efikasi Pestisida, Komisi Pestisida. Jakarta: Departemen Pertanian Republik Indonesia; 1995.
21. Supardi U. Buku Aplikasi Statistika Dalam Penelitian: Konsep Statistika Yang Lebih Komprehensif. Jakarta: Penerbit Smart Jakarta; 2013. 129–135, 142–143, 341–344 p.
22. Verma PPS, Singh A, U.L. R, Bahl JR. Lemon Balm (*Melissa Officinalis* L.) An Herbal Medicinal Plant With Broad Therapeutic Uses And Cultivation Practices: A review. *Int J Recent Adv Multidiscip Res.* 2015;2(11):0928–33.
23. Abdellatif F, Boudjella H, Zitouni A, Hassani A. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of The Essential Oil from Leaves of Algerian *Melissa officinalis* L. *EXCLI J.* 2014;13:772–81.
24. Botanicessence. Technical Information (SPEC/COA/GC) Botanicessence Essential Oils. Bangkok: Thailand. [Internet]. 2016. Available from: <http://www.botanicessence.com>.
25. Ketaren S. Pengantar Teknologi Minyak Atsiri. Jakarta: Penerbit Balai Pustaka; 1985. 21, 27–41, 133–135, 142–143 p.
26. Young D, Hugh, Friedman. RA. Fisika Universitas (Terjemahan) Jilid 1. Jakarta: Erlangga; 2002.
27. Jan A, Rozendaal. Vector control: Methods for use by individuals and communities. Geneva; 1997.
28. Rinzler CA. The new complete book of herbs, spices, & condiments. Checkmark Books, editor. New York; 2001.
29. Kardinan A. Tanaman Pengusir dan Pembasmi Nyamuk. Tangerang: PT Agromedia Pustaka; 2005. 3, 14 p.
30. Depkes RI. Bunga Kenanga Repelan Nyamuk *Aedes aegypti* [Internet]. 2004. Available from: <http://depkes.go.id/>