

## STUDI INTERAKSI MOLEKUL KOMPONEN MINYAK NILAM DENGAN RESEPTOR OLFAKTORI SEBAGAI *REPELLENT* NYAMUK *CULEX sp* SECARA *IN SILICO* DAN *IN VITRO*

Ersalina Nidianti, Edi Priyo Utomo\*, Toto Himawan

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya  
Jl. Veteran Malang 65145

\*Alamat korespondensi, Tel : 0341-575838, Fax : 0341-575839  
Email : edipu2000@yahoo.com

### ABSTRAK

Komponen minyak nilam terdiri dari komponen mayor seperti patchouli alkohol dan komponen minor seperti patchoulen,  $\alpha$ -guaien, syechellen, kariofilen dll. Komponen-komponen minor tersebut dapat berpotensi sebagai repellent (penolak) ataupun sebagai atraktan (penarik) terhadap insekta. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas repellensi nyamuk *Culex sp* dengan menggunakan minyak nilam secara *in silico* dan *in vitro*. Kajian secara *in silico* yaitu melalui pemodelan yang didasarkan pada interaksi senyawa-senyawa terpenoid minyak nilam dengan menggunakan reseptor olfaktori nyamuk *Culex sp* yang struktur kuaternernya diunduh dari www.pdb.org dengan kode akses 3OGN, sedangkan struktur ligan yang digunakan diunduh dari www.ncbi.nlm.nih.gov. Pemodelan yang dilakukan ini menggunakan perangkat lunak *Autodock Tools 1.5.4*. Docking ligan dilakukan secara berturut-turut dengan urutan  $\alpha$ -guaien,  $\alpha$ -patchoulen, vellone, kariofilen, syechellen serta DEET sebagai senyawa repellent yang tidak dijual dipasaran dan digunakan sebagai ligan pembanding. Hasil pemodelan menunjukkan bahwa aktivitas repellensi ligan ( $\alpha$ -guaien,  $\alpha$ -patchoulen, vellone, kariofilen, dan syechellen) memiliki nilai konstanta disosiasi (Kd) sebesar 330  $\mu$ M sedangkan konstanta disosiasi (Kd) untuk DEET sebesar 7,31  $\mu$ M. Komponen minyak nilam memiliki potensi sebagai repellent lebih baik jika dibandingkan dengan DEET, hal ini ditunjukkan dari nilai Kd yang lebih besar jika dibandingkan dengan Kd DEET. Sedangkan hasil penelitian secara *in vitro* menunjukkan bahwa minyak nilam yang mengandung komponen  $\alpha$ -guaien,  $\alpha$ -patchoulen, vellone, kariofilen, dan syechellen memiliki nilai  $EC_{50}$  sebesar  $6,19 \pm 0,55$  ppm.

**Kata kunci:** Kimia Komputasi, Minyak Nilam, Repellent

### ABSTRACT

The components of patchouli oil consist of mayor e.g patchouli alcohol and minor component such as patchoulene,  $\alpha$ -guaiene, syechellen, and caryophyllene. These compounds are potentially as repellent or attractant against insects. The purpose of this research is to determine the activity of the *Culex sp* mosquito repellency using patchouli oil *in silico* and *in vitro*. Assessment of *in silico* modeling is through based on interactions of terpenoid the *Culex sp* mosquito olfactory receptor structure was downloaded from www.pdb.org with access code 3OGN while the ligand structure downloaded from www.ncbi.nlm.nih.gov. The modeling by using *Autodock Tools 1.5.4* docking of the ligands were done in consecutive performing of  $\alpha$ -guaine,  $\alpha$ -patchoulen, vellone, caryophyllene, and syechellen respectively. In comparing with commercial repellent DEET, the patchouli oil component with minus patchouli alcohol have more potent as repellent with Kd = 330  $\mu$ M, while Kd of DEET is 7,31  $\mu$ M. Patchouli oil components have potential as a repellent better than DEET, it is indicated from Kd values greater than Kd DEET. By *in vitro* experiment, patchouli oil showed repellency at  $EC_{50} = 6,19 \pm 0,55$  ppm.

**Keywords:** Computational chemistry, Patchouli Oil, Repellent

## PENDAHULUAN

Nyamuk merupakan salah satu serangga yang berukuran kecil yang dapat bertindak sebagai vektor penularan suatu penyakit. Diseluruh dunia, dilaporkan terdapat sekitar 3100 spesies nyamuk dari 34 genus. *Anopheles*, *Culex*, *Aedes*, *Mansonia*, *Armigeres*, *Haemagogus*, *Sabethes*, *Culiseta* dan *Psorophora* merupakan genus yang menghisap darah manusia, dan berperan sebagai vektor penyakit. Sedangkan di Indonesia terdapat 457 spesies nyamuk, diantaranya 80 spesies *Anopheles*, 125 *Aedes*, 82 *Mansonia* dan sisanya tidak begitu mengganggu [1]. Nyamuk *Culex sp* merupakan nyamuk yang memiliki peran sebagai vektor penyakit, seperti penyakit West Nile Virus, Filariasis atau yang dikenal dengan penyakit kaki gajah [2]. Untuk menanggulangi penyakit yang disebabkan oleh adanya kontak antara manusia dengan vektor nyamuk digunakan bahan-bahan yang bersifat mengusir atau menolak yang dikenal dengan istilah repellent.

Repellent yang dijual dipasaran mengandung bahan kimia yang beranekaragam, salah satunya adalah N,N-dietil-3-metil-benzamida (DEET). Akhir-akhir ini telah diketahui bahwa DEET memiliki sifat negatif antara lain bersifat iritan terhadap kulit dan membahayakan bagi pemakainya, selain itu DEET juga menghasilkan residu yang sulit untuk terdegradasi sehingga membahayakan bagi pengguna maupun bagi lingkungan. Untuk meminimalisir dampak negatif yang ditimbulkan dari repellent yang mengandung DEET, maka beberapa peneliti telah melakukan alternatif untuk mengganti DEET dengan menggunakan bahan kimia yang bersumber dari alam. Bahan alam diketahui lebih mudah untuk terdegradasi di dalam tanah dan bersifat ramah lingkungan, salah satunya adalah senyawa-senyawa hasil alam misalnya minyak atsiri [3].

Minyak atsiri merupakan senyawa yang umumnya berwujud cair yang diperoleh dari bagian suatu tanaman seperti akar, batang, daun, buah, biji maupun bunga serta diperoleh melalui proses pemisahan secara ekstraksi maupun dengan cara destilasi [4]. Minyak nilam diperoleh dari hasil destilasi daun nilam. Minyak atsiri nilam tersusun dari komponen mayor dan komponen minor. Komponen mayor penyusun minyak atsiri nilam antara lain patchouli alkohol dan komponen minor antara lain kariofilen, patchoullen,  $\alpha$ -guaiene, syechellen dll. Meskipun diketahui bahwa patchouli alkohol berpotensi sebagai repellent [5], namun komponen-komponen lain seperti patchoullen,  $\alpha$ -guaiene, syechellen, kariofilen belum diketahui aktivitas repellensinya, sehingga dalam penelitian ini akan dilakukan penentuan aktivitas repellensi minyak nilam yang telah diambil fraksi patchouli alkoholnya.

Penelitian yang mengenai pemanfaatan minyak nilam sebagai repellent telah dilakukan salah satunya oleh Shinta [6] yaitu penelitian minyak nilam sebagai repellent untuk nyamuk genus *Aedes aegypti* berdasarkan penelitian tersebut diperoleh informasi daya repellesni terjadi pada konsentrasi optimum sebesar 55 % v/v dengan menggunakan pelarut *Oleum ricini* (minyak jarak). Sedangkan penelitian yang memanfaatkan minyak nilam sebagai repellent untuk nyamuk dengan genus *Culex sp* secara *in silico* dan *in vitro* dengan menggunakan pelarut etanol, belum pernah dilakukan penelitian lebih lanjut.

Interaksi suatu senyawa bioaktif dengan reseptor dapat dilakukan melalui pemodelan (*in silico*) komponen minyak nilam diasumsikan sebagai senyawa bioaktif (ligan) yang akan berinteraksi dengan protein olfaktori nyamuk *Culex* (reseptor) penelitian ini dilakukan standarisasi melalui visualisasi proses docking. Interaksi tersebut akan menghasilkan nilai konstanta inhibisi (Ki) atau konstanta disosiasi (Kd) melalui persamaan sebagai berikut [6] :

$$\Delta G = RT \ln Ki$$

Dengan keterangan yaitu sebagai berikut :

R = Konstanta gas ideal

T = Suhu (°K)

Ki = Konstanta Inhibisi = Konstanta disosiasi

## **METODE PENELITIAN**

### **Bahan dan Alat Penelitian**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah reseptor olfaktori nyamuk *Culex sp* yang struktur kuarternya diunduh dari [www.pdb.org](http://www.pdb.org) dengan kode akses 3OGN sedangkan ligan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ligan komponen minyak nilam terdiri dari komponen minor ( $\alpha$ -guaine,  $\alpha$ -patchoulen, velensen, kariofilen, syechellen) serta digunakan ligan pembanding yaitu DEET, ligan tersebut diunduh dari [www.ncbi.nlm.nih.gov/pccoumpound](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccoumpound), minyak nilam hasil destilasi fraksinasi yang tidak mengandung komponen patchouli alkohol, Anti nyamuk merek autan, larva nyamuk *Culex sp* serta glukosa. Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah perangkat keras laptop spesifikasi *processor pentium i3 core 1,6 GHz*, seperangkat software *Python 2.5.1*, *HyperChem*, *PyMOL delano Scientific*, *Discovery Studio Visualizer 1.5*, *Autodocktools 1.5.4*, Analisis probit, serta kandang uji yang terbuat dari flexi glass dengan ukuran (50x18x30) cm.

### **Metoda *In Silico***

Penelitian secara *in silico* dilakukan dengan cara mempersiapkan ligan, ligan yang digunakan merupakan ligan yang dipilih sebagai calon repellent meliputi  $\alpha$ -guanine,  $\alpha$ -patchoulen, vellenen, kariofilen, syechellen serta DEET struktur 3 Dimensinya diunduh dari [www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pccompound). Kemudian dilakukan optimasi geometri dengan menggunakan perangkat lunak *HyperChem* melalui perhitungan semiempiris (AM1) untuk memperoleh struktur ligan yang stabil. Persiapan makromolekul, makromolekul yang digunakan merupakan reseptor olfaktori nyamuk *Culex sp* yang struktur kuaternernya diunduh dari [www.pdb.org](http://www.pdb.org) dengan kode akses 3OGN. Tahap berikutnya adalah proses docking dengan menggunakan perangkat lunak *AutodockTools* 1.5.4 dilanjutkan analisis hasil docking. Analisis hasil docking akan diperoleh nilai  $K_i$  dan  $\Delta G$ . Interaksi ligan dengan reseptor (makromolekul) pada sisi aktif serta informasi residu asam amino yang berikatan antara ligan dengan sisi aktif reseptor dapat dilihat dengan menggunakan perangkat lunak *Discovery Studio Visualizer* 1.5.4

### **Metoda *In Vitro***

Penelitian yang dilakukan secara *in vitro* yaitu dengan membuat larutan formula repellent yang dilakukan dengan cara pengenceran bertingkat dengan menggunakan pelarut etanol dan minyak nilam hasil destilasi fraksinasi yang tidak mengandung komponen patchouli alkohol. Larutan formula repellent menggunakan variasi konsentrasi yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 100 ppm, dan 10 ppm. Setelah pembuatan larutan formula maka dilakukan langkah berikutnya yaitu dengan melakukan kolonisasi nyamuk *Culex sp*. Kegiatan kolonisasi nyamuk dimulai dari tahap penetesan telur, selanjutnya dikembangbiakkan menjadi larva hingga menjadi pupa dan nyamuk *Culex sp* dewasa proses kolonisasi nyamuk *Culex sp* dari larva stadium 3 diperlukan waktu kurang lebih 3-4 hari untuk menghasilkan imago *Culex sp*. Kemudian dilakukan uji aktivitas repellensi dengan menggunakan kapas sebagai media pengujian larutan formula minyak nilam yang diletakkan di dalam kandang uji yang terbuat dari flexi glass dengan (50x18x30) cm. Setiap pengujian dilepaskan 25 ekor imago nyamuk *Culex sp* umur 5 hari. Larutan anti nyamuk merek autan digunakan sebagai kontrol positif sedangkan untuk kontrol negatif digunakan larutan glukosa. Pengujian dilakukan dari konsentrasi terendah yaitu 10 ppm, 100 ppm, 500 ppm dan 1000 ppm. Pemaparan terhadap nyamuk *Culex sp* dilakukan selama 5 menit dengan interval waktu 5 menit, 10 menit, dan 15 menit serta dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali dengan berdasarkan rumus federer (**t-1**) (

$r-1) \geq 15$  t= jumlah perlakuan r= jumlah pengulangan 15 = konstanta. Kemudian dihitung jumlah nyamuk yang hinggap pada kapas dengan rumus sebagai berikut :

$$DR = \frac{K-P}{K} \times 100 \%$$

Keterangan :

DR : Daya repellent

K : Kontrol negatif

P : Jumlah angka hinggap nyamuk

Berdasarkan percobaan yang dilakukan secara *in vitro* diperoleh data yang akan dianalisis secara statistik melalui analisis regresi probit untuk memperoleh nilai konsentrasi efektif ( $EC_{50}$ ).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Penelitian secara *In Silico*

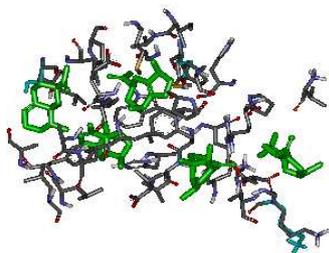
Berdasarkan hasil penelitian secara *in silico* digunakan ligan DEET serta komponen minyak nilam meliputi  $\alpha$ -guaiene,  $\alpha$ -patchoulene, vellenen, kariofilen, syechellen serta digunakan makromolekul olfaktori nyamuk *Culex sp* diperoleh nilai  $K_d \approx K_i$  dengan data sebagai berikut:

**Tabel 1.** Hasil docking dengan *AutodockTools 1.5.4*

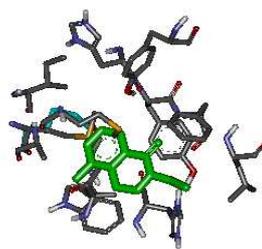
Ligan	Nilai $K_d$ ( $\mu M$ )
DEET	7.31
$\alpha$ - Guaiene (monoligan)	0,68
$\alpha$ - Patchoulene dan $\alpha$ -Guaiene (multi ligan)	1,30
$\alpha$ -Patchoulene, $\alpha$ -Guaiene, dan Vellensen (multiligan)	50
$\alpha$ -Patchoulene, $\alpha$ -Guaiene, Vellensen dan Kariofilen (multi ligan)	116
$\alpha$ -Patchoulene, $\alpha$ -Guaiene, Vellensen, Kariofilen dan Syechellen (multi ligan)	330

Semakin besar harga  $K_d \approx K_i$  maka semakin terdisosiasi sehingga bersifat repellent/ menolak.

Adapun residu asam amino yang berinteraksi antara ligan – reseptor yang berada pada sisi aktif DEET dan minyak nilam yaitu : Tyr 10, Leu 80, Met 84, Ile 87, Ala 88, Met 91, His 111, Trp 114, His 121, Tyr 122, Phe 123, Leu 124.



**Gambar 1.** Struktur interaksi reseptor dengan ligan (komponen minyak nilam)



**Gambar 2** Struktur interaksi reseptor–ligan DEET

### Penelitian secara *In Vitro*

Daya repellensi minyak nilam hasil uji aktivitas repellent dengan pengulangan sebanyak 5 kali terdeteksi pada konsentrasi 10 ppm diperoleh nilai sebesar 34,90 %; 100 ppm diperoleh nilai sebesar 65,47 %; 500 ppm diperoleh nilai sebesar 80,56%; dan 1000 ppm diperoleh nilai sebesar 91,22 %. Nilai DR (Daya Repellent) terbesar pada konsentrasi 1000 ppm, hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1000 ppm nyamuk *Culex sp* semakin sedikit untuk hinggap pada media kapas, sehingga konsentrasi 1000 ppm merupakan konsentrasi optimum minyak nilam sebagai repellent serta menghasilkan daya repellent yang terbaik jika dibandingkan dengan konsentrasi 10 ppm, 100 ppm maupun 500 ppm.

Proses penolakan/repellent terhadap nyamuk yaitu bau minyak atsiri yang menguap ditangkap oleh antena nyamuk yaitu pada bagian sensilia yang mengandung satu atau beberapa saraf reseptor bipolar atau dikenal sebagai ORNs (Olfaktori Reseptor pada Neurons). ORNs berada di ujung dendrit untuk mendeteksi bahan kimia dan akson impuls syaraf. Syaraf sensoris ini digunakan untuk menghantarkan impuls kimia, dengan membawa informasi penciuman dari perifer ke lobus antena yang merupakan tempat perhentian pertama dalam otak. Ketika kompleks bau sampai pada membran dendrit, bau berikatan dengan reseptor transmembran dan ditransfer ke permukaan membran intraseluler. Kemudian impuls elektrik tersebut disampaikan ke pusat otak yang lebih tinggi untuk menimbulkan respon tingkah laku dengan cara menghindar terhadap bau tersebut [7].

Penelitian secara *in vitro* diperoleh konsentrasi efektif larutan formula terhadap nyamuk *Culex sp* sebagai repellent yang dinyatakan sebagai  $EC_{50}$  diperoleh nilai  $EC_{50}$  sebesar  $6,19 \pm 0,55$  ppm.

## KESIMPULAN

1. Pemodelan interaksi molekul repellent secara *in silico* memberikan aktivitas repellensi yaitu nilai konstanta disosiasi (Kd) untuk minyak nilam yang mengandung komponen  $\alpha$ -guaine,  $\alpha$ -patchoulen, velensen, kariofilen, syechellen sebesar 330  $\mu$ M sedangkan DEET memiliki nilai Kd sebesar 7,31  $\mu$ M.
2. Aktivitas repellensi secara *in vitro* ditunjukkan berdasarkan nilai EC<sub>50</sub> sebesar 6,19  $\pm$  0,55 ppm.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami sampaikan kepada lembaga penelitian dan pengabdian masyarakat (LPPM) Universitas Brawijaya yang telah memberikan kesempatan kepada kami untuk terlibat dalam kegiatan penelitian unggulan perguruan tinggi SKIM Desentralisasi pada tahun anggaran 2013.

## DAFTAR PUSTAKA

1. Hadi UK., Koesharto FX., 2006, *Nyamuk Dlam Sigit SH, Hadi UK, editor. Hama Permukiman Indonesia, Pengenalan, Biologi dan Pengendalian UKPHP*, FKH-IPB, Bogor.
2. Perich, MJ., 2000, *Basic of mosquito-borne Disease and the Mosquito Vectors, Research Project*, Dept of Entomology Louisiana State University Ag Center.
3. Kardinan,A., 2003, *Tanaman dan Pembunuh Nyamuk*, Penerbit Agromedia Pustaka, Jakarta.
4. Sastrohamidjojo, H., 2002, *Kimia Minyak Atsiri*, Penerbit FMIPA UGM, Jogjakarta.
5. Grainge, M and S, Ahmed.,1987, *Handbook of Plants with Pest Control Properties*, A-Wiley Interscience publication, New York.
6. Leach, AR., Shoichet BK., 2006, Prediction of Protein – Ligan Interactions, Docking and Scoring successes and gaps. *J. Med.Chem* No 20 Vol 49.
7. Vogt, R. G. 2008. *Biochemical Diversity of Odor Detection OBPs, ODEs and SNMPs*. Dept of Biological Sciences University of South Carolina, (Online) <http://www.biol.sc.edu/vogt/vogt.pdf> Diakses tanggal 3 Januari 2014.