AKTIVITAS ANTI NYAMUK MIKROKAPSUL MINYAK ASIRI *Citrus aurantifolia* TERHADAP *Aedes aegypti*

THE REPELLENT ACTIVITIES OF MICROCAPSULES OF Citrus aurantifolia ESSENTIAL OIL AGAINST Aedes aegypti

Nila Sari Pandiangan[1], Luthfia Pratiwi[1], Diana Rakhmawaty Eddy[1], Tatang Wahyudi[2], Agus Surya Mulyawan[2], Euis Julaeha[1]

[1]Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran
E-mail: nila17001@mail.unpad.ac.id

[2]Balai Besar Tekstil
E-mail: tatangwahyudi@kemenperin.go.id

Tanggal diterima: 30 September 2021, direvisi: 16 Desember 2021, disetujui terbit: 21 Desember 2021

ABSTRAK

Pada penelitian ini, telah dilakukan evaluasi sifat antinyamuk dari mikrokapsul yang berisi minyak asiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap nyamuk *Aedes aegypti*. Preparasi minyak asiri dilakukan dengan metode hidrodistilasi; pembuatan mikrokapsul dengan metode koaservasi kompleks menggunakan penyalut alginat-gelatin, pengikat silang glutaraldehid, dan pengemulsi span-80 dan tween-80; pelepasan minyak asiri dalam mikrokapsul dilakukan dengan rangsangan *magnetic stirrer* 100 rpm; dan uji aktivitas antinyamuk dilakukan terhadap nyamuk *A. aegypti*. Hasil preparasi minyak asiri diperoleh rendemen sebesar 0,44%, dengan kualitas baik, berwarna kuning pucat dengan aroma segar khas jeruk nipis, komponen utama minyak asiri d-limonen (33,14%) dan β-pinen (28,32%). Mikrokapsul diperoleh dengan rendemen sebesar 47,3%, *oil content* sebesar 66,7%, dan efisiensi enkapsulasi sebesar 87,9%. Rata-rata pelepasan minyak asiri dari mikrokapsul dari hari pertama hingga hari ketujuh berkisar 44,7-65,9%. Nilai % total perlindungan dari minyak asiri *C. aurantifolia* utuh lebih tinggi daripada limonen dan mikrokapsul, hal ini menunjukkan ada kerja sinergis antara komponen-komponen yang terdapat dalam minyak asiri. Rentang total perlindungan terhadap nyamuk *A. aegypti* antara 85,0-98,8%.

Kata kunci : *C. aurantifolia,* mikroenkapsulasi*,* antinyamuk*, repellent, A. aegypti*

ABSTRACT

In this study, evaluation the mosquito repellency of microcapsules containing lime peel oil against Aedes aegypti was conducted. Isolation of lime peel oil was carried out using the hydrodistillation method; microencapsulation by complex coaservation using alginate-gelatin coating, glutaraldehyde as crosslinker, and span-80 and tween-80 as emulsifiers; release study of essential oil was evaluated by using magnetic stirrer at 100 rpm; and mosquito-repellent activity test was studied on A. aegypti. Lime peel oil was obtained with yield of 0.44%, pale yellow color with a fresh lime's aroma, and the main compounds of lime peel oil were d-limonene (33.14%) and β-pinene (28.32%). The microcapsules had an average yield of 47.3%, oil content of 66.7%, and encapsulation efficiency of 87.9%. The average release of lime peel oil from the first day to the seventh day ranged from 44.7 to 65.9%. The percent of total protection of lime peel oil was higher than limonene and microcapsules, that indicates there is a synergistically between the compounds in lime peel oil. The range of total protection against A. aegypti ranged from 85.0 to 98.8%.

Keywords: *C. aurantifolia, microencapsulation, repellent, A. aegypti*

PENDAHULUAN

Demam berdarah adalah penyakit yang disebabkan oleh gigitan nyamuk betina yang terinfeksi terutama dari spesies *Aedes aegypti* yang membawa virus Dengue (DENV). Bhatt *et al*. (2013) melaporkan bahwa setiap tahun, sekitar 390 juta orang terinfeksi demam berdarah di seluruh dunia, di mana 96 juta (67–136 juta) menunjukkan tingkat keparahan penyakit yang serius dan menyebabkan sekitar 12.000 kematian terutama di negara-negara berkembang.[1] Berdasarkan laporan Kementerian Kesehatan yang dilansir pada media *Harian Kompas*, di Indonesia sejak Januari hingga Desember 2020 tercatat 95.893 kasus DBD, sementara jumlah kematian akibat DBD sebanyak 661 kasus.

Pencarian tanaman obat dan fitokimia sebagai alternatif untuk mengobati berbagai

penyakit telah menarik minat para peneliti. Salah satu tanaman yang telah diteliti memiliki aktivitas biologis yang baik adalah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). *C. aurantifolia* adalah sejenis tanaman perdu yang banyak tumbuh dan dikembangkan di Indonesia. Bagian *C. aurantifolia* yang tidak dimanfaatkan dan sering sekali diabaikan oleh masyarakat adalah bagian kulit buah. Perkiraan limbah kulit jeruk nipis di seluruh dunia adalah 2,8 juta ton/tahun dari industri pengolahan jeruk.[2]

Beberapa penelitian melaporkan bahwa kulit *C. aurantifolia* mengandung minyak asiri yang memiliki berbagai aktivitas seperti antibakteri, antikanker, antioksidan, antidiabetes, antijamur, antiinflamasi, antivirus, insektisida,[3,4] dan *repellent.*[5] Soonwera (2015) melaporkan minyak asiri *C. aurantifolia* memiliki aktivitas perlindungan selama 65-71,7 menit dengan rata-rata gigitan 1,5% dan persen perlindungan sebesar 98,5%.[5] Selain itu, minyak asiri *C. aurantifolia* juga dilaporkan memiliki aktivitas *repellent* yang lebih baik dibandingkan minyak asiri *Pelargonium radula* dan *Syzgyum aromaticum,* yaitu pada konsentrasi 50% memberikan perlindungan sebesar 96,65% selama 10 menit.[6]

Minyak asiri dapat diambil dari kulit buah *C. aurantifolia* dengan cara hidrodistilasi karena metodenya sederhana dan kualitas minyak yang dihasilkan baik.[7] Komposisi dan kualitas minyak asiri dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti perbedaan cara isolasi, asal tanaman, iklim, struktur tanaman, dan usia tanaman.[8] Kualitas minyak asiri dapat berpengaruh pada karakter minyak asiri, baik terhadap aroma, warna, dan sifat biologis.

Minyak asiri *C. aurantifolia* sangat rentan untuk menguap dengan adanya oksigen dan cahaya, yang menyebabkan minyak asiri memiliki volatilitas yang tinggi.[9] Oleh karena karakteristik ini, dilakukan teknik mikroenkapsulasi untuk menutupi kelemahan tersebut. Teknik mikroenkapsulasi memegang peranan penting untuk mencegah penguapan minyak asiri dan dapat mengatur pelepasan minyak asiri, karena mikroenkapsulasi merupakan teknik untuk menciptakan membran luar atau melapisi suatu material.[10] Enkapsulasi menjadi cara yang tepat, tidak hanya untuk mempertahankan senyawa aroma dan rasa, tetapi juga meningkatkan stabilitas termal dan oksidatif senyawa tersebut dan mencegah volatilitas senyawa-senyawa aktif.[11]

Mikroenkapsulasi minyak asiri *C. aurantifolia* telah berhasil dilakukan dengan metode koaservasi sederhana menggunakan penyalut etil selulosa dan dengan koaservasi kompleks menggunakan penyalut alginat-gelatin.[10,11] Puspita *et al.* (2020) telah melakukan optimasi rasio inti : penyalut (minyak asiri : alginat/gelatin), kecepatan pengadukan, dan suhu pengadukan pada pembuatan mikrokapsul minyak asiri *C. aurantifolia*.[12] Selain itu, Julaeha *et al.* (2021) mempelajari sifat antibakteri baik terhadap mikrokapsul minyak asiri *C. aurantifolia* maupun terhadap kain yang telah diimobilisasi mikrokapsul.[13]

Penelitian mikrokapsul dengan aktivitas *repellent* telah banyak dilaporkan, seperti Solomon *et al.* (2012) menggunakan minyak *Cymbopogon citratus* dengan penyalut gelatin,[14] Grancari *et al*. (2020) menggunakan minyak asiri *immortelle* dengan penyalut kitosan-alginat,[15] dan Chung *et al.* (2013) menggunakan minyak *thyme* dengan penyalut gelatin-kitosan.[16] Namun, hingga saat ini belum dipelajari studi mikroenkapsulasi minyak asiri *C. aurantifolia* sebagai *repellent*.

Pada artikel ini, dilaporkan hasil evaluasi sifat antinyamuk (*repellent)* terhadap nyamuk *A. aegypti* dari mikrokapsul minyak asiri *C. aurantifolia.* Mikrokapsul dibuat dengan metode koaservasi kompleks menggunakan penyalut alginat-gelatin (1:3,75), pengikat silang glutaraldehid, dan pengemulsi polioksietilen (20) monooleat (span-80) dan polioksietilen sorbitan monooleat (tween-80) dengan perbandingan 1:1,75, dimana kedua pengemulsi ini merupakan surfaktan nonionik yang memiliki gugus hidrofil tidak bermuatan.[17]

METODE

Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah buah *C. aurantifolia* yang berasal dari Desa Curah jati, Kec. Purwoharjo, Kabupaten Banyuwangi, Jawa Timur, Indonesia dan bahan kimia seperti alginat dan gelatin, akuades, asam asetat, pengemulsi tween-80 dan span-80, dan pengikat silang glutaraldehid.

Peralatan

Peralatan utama yang digunakan dalam penelitian ini meliputi alat distilasi Stahl, pengaduk magnetik, *scanning electrone microscope* (SEM) merk JEOL tipe JSM-6510, *particle size analyzer* (PSA) Beckman Coulter tipe LS 13 320, dan spektrometer UV-Vis merk Perkin-elmer tipe Lambda 35.

Prosedur

Preparasi Minyak Asiri Kulit *C. aurantifolia*

Minyak asiri *C. aurantifolia* diperoleh dengan metode hidrodistilasi menggunakan metode Stahl. Buah *C. aurantifolia* dicuci hingga bersih dengan air mengalir kemudian dikupas untuk memisahkan kulitnya. Selanjutnya, didistilasi selama 4 jam dengan suhu 100°C. Hasil minyak asiri yang didapat dipisahkan dari air kemudian ditampung dalam botol vial dan ditambahkan

Na_2SO_4 anhidrat, lalu ditutup dengan rapat. Minyak asiri yang telah didapat disimpan dalam kulkas.

Penentuan Rendemen Minyak Asiri *C. aurantifolia*

Penentuan rendemen minyak asiri dilakukan dengan menghitung massa kulit buah *C. aurantifolia* yang didistilasi dibagi dengan massa minyak asiri murni yang diperoleh. Perhitungan rendemen minyak asiri berdasarkan Persamaan (1).

$$\%\text{Rendemen} = \frac{\text{Massa minyak asiri}}{\text{Massa kulit } C.aurantifolia} \times 100\% \quad (1)$$

Uji Kualitas Minyak Asiri *C. aurantifolia*

Kualitas minyak asiri ditetapkan dengan mengukur berat jenis dengan menggunakan piknometer, indeks bias dengan menggunakan refraktometer, nilai kelarutan dalam alkohol, dan penentuan nilai bilangan asam dengan metode titrasi asam basa.

Pembuatan Mikrokapsul Minyak Asiri *C. aurantifolia*

Prosedur mikroenkapsulasi mengacu pada Julaeha *et al*. (2021). Setiap larutan polimer disiapkan dalam akuades. Gelatin sebanyak 2,8 g dilarutkan ke dalam akuades sebanyak 140 mL diaduk dengan *magnetic stirrer* pada suhu 60 ± 1°C dan laju pengadukan 600 rpm, span-80 dan tween-80 ditambahkan ke dalam larutan tersebut sebanyak 0,8 g dan minyak asiri (2,0 g) dimasukkan ke dalam larutan. Setelah penambahan minyak, ditambahkan larutan natrium alginat (0,8 g dalam 40 mL akuades) tetes demi tetes.

Setelah itu, gelas kimia yang berisi larutan diaduk selama 15 menit pada suhu 60°C. pH campuran diatur 3,75 dengan menambahkan 2,5% (v/v) larutan asam asetat glasial. Larutan didinginkan pada suhu 5-10°C. Mikrokapsul yang terbentuk dalam larutan tersebut ditambahkan glutaraldehid 472 µL. Suhu larutan dinaikkan menjadi 35°C dan pengadukan dilanjutkan selama 3-4 jam untuk menyelesaikan reaksi pengikatan silang. Larutan kemudian didinginkan sambil diaduk sampai suhu kamar. Mikrokapsul disaring dengan corong Buchner dan dicuci dengan air. Mikrokapsul selanjutnya dicuci lebih cepat dengan *n*-heksana untuk menghilangkan minyak yang menempel pada permukaan mikrokapsul. Mikrokapsul dikeringkan di dalam desikator.

Penentuan nilai *oil content* mikrokapsul

Mikrokapsul hasil percobaan ditimbang dengan jumlah tertentu, kemudian dimasukkan ke dalam mortar lalu digerus dan ditambahkan sejumlah volume *n*-heksana. Selanjutnya, didiamkan beberapa saat kemudian disaring menggunakan kertas saring Whatman No.42. Filtrat diukur dengan spektrometer UV-Vis pada λ_{maks} 256 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh diplotkan ke dalam kurva kalibrasi minyak asiri *C. aurantifolia*.

Pengamatan Pelepasan Minyak Asiri *C. aurantifolia*

Pengamatan pelepasan minyak asiri *C. aurantifolia* dilakukan dengan menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 100 rpm.[18] Mikrokapsul yang dihasilkan ditimbang sebanyak 0,5 g dan dilarutkan ke dalam 10 mL *n*-heksana. Campuran mikrokapsul dan *n*-heksana diaduk dengan laju dan suhu konstan selama 7 hari. Setiap 24 jam, sampel dalam *n*-heksana dipipet 1,4 mL untuk dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 256 nm untuk mengetahui persen minyak yang keluar selama 24 jam. Setiap selesai pengujian, sampel dikembalikan untuk menjaga volume tetap konstan. Tahap ini dilakukan hingga hari ketujuh.

Uji Aktivitas *Repellent* Nyamuk *A. aegypti*

Pengujian aktivitas *repellent* dilakukan terhadap mikrokapsul, minyak asiri, dan limonen terhadap nyamuk *A. aegypti* dewasa yang dipuasakan terlebih dahulu selama 3 hari. Kandang nyamuk disiapkan dengan spesifikasi: panjang 50 cm, lebar 50 cm, tinggi 50 cm, dan satu lubang untuk masuknya tangan.

Pengujian ini melibatkan 9 orang *volunteer* yang telah mencuci bersih tangannya. Tangan *volunteer* dipakaikan sarung tangan yang telah diberi lubang dengan diameter 4 cm. Suspensi mikrokapsul dan limonen dioleskan pada tangan, sedangkan tangan yang tidak diberi perlakuan apapun digunakan sebagai kontrol negatif. Banyaknya nyamuk yang diuji 50 ekor, waktu pengujian dilakukan selama 14 menit, dan dihitung setiap 2 menit. Jumlah nyamuk yang hinggap/menggigit diamati selama 14 menit dan dihitung nilai repelensi aktivitas mikrokapsul minyak asiri tersebut. Pengujian dilakukan setiap hari dalam tujuh hari dengan tiga kali replikasi pada tiga kandang yang berbeda.[19] Nilai persen total perlindungan dihitung berdasarkan Persamaan (2).

$$\%\ \text{Total Perlindungan} = \frac{\Sigma\ \%\ \text{Repelensi}}{\Sigma\ \%\ \text{Repelensi Teoritis}} \times 100\% \quad (2)$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik Minyak Asiri *C. aurantifolia*

Hasil preparasi minyak asiri *C. aurantifolia* diperoleh rendemen sebesar 0,44%. Umumnya rendemen minyak asiri berkisar antara 0,21-2,30%, sehingga disimpulkan bahwa hasil rendemen yang diperoleh sudah baik.[2,20] Kualitas minyak asiri ditetapkan dengan mengukur parameter-parameter yang tercantum pada Tabel 1.

Dari Tabel 1 terlihat nilai parameter-parameter yang diukur sesuai dengan literatur, dengan demikian minyak asiri hasil preparasi mempunyai kualitas yang baik. Kualitas minyak asiri yang dihasilkan dapat berbeda tergantung dari letak dan kondisi tanaman tersebut tumbuh serta usia tanaman. Selain itu, pemisahan minyak dari jaringan tumbuhan juga merupakan faktor yang dapat mempengaruhinya.[8] Hingga saat ini belum ada standar resmi untuk kualitas minyak asiri *C. aurantifolia.*

Tabel 1. Karakteristik minyak asiri *C. aurantifolia*

Parameter	Nilai/Deskripsi	Literatur[11,12,13]
Bau	Aroma segar dan khas *C. aurantifolia*	Aroma tajam dan khas *C. aurantifolia*
Warna	Kuning pucat	Tidak berwarna menuju kuning kehijauan
Massa jenis (25°C)	0,8447 g/mL	0,8457-0,8680 g/mL
Indeks bias (25°C)	1,5523	1,4670-1,5420
Bilangan asam	1,12%	0,50-1,50%
Kelarutan dalam alkohol	Larut dalam etanol 90% (volume 5,2 mL)	Larut dalam etanol 90% (volume 4-4,5 mL)

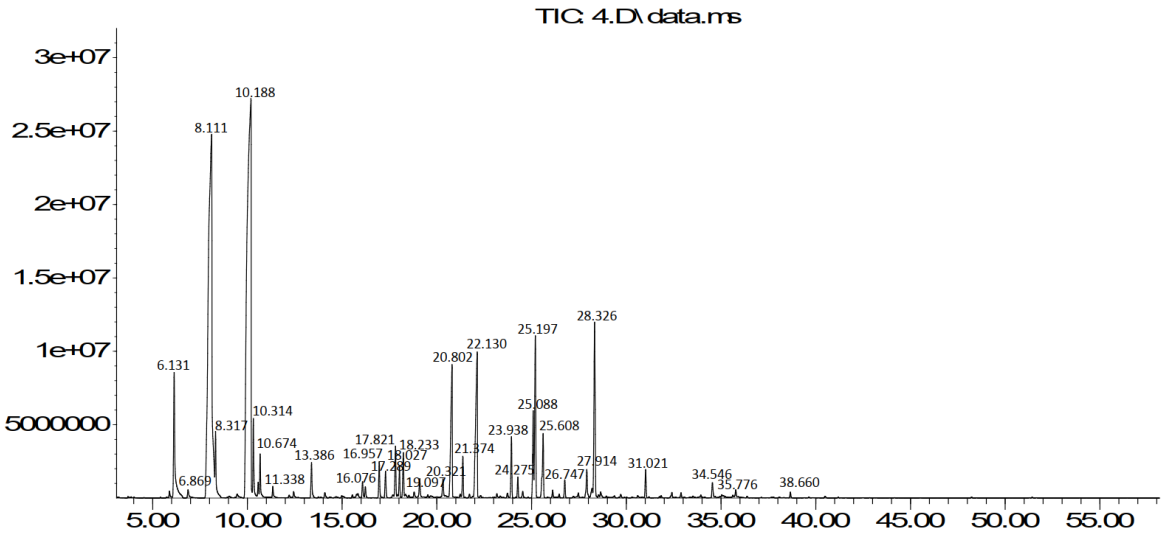
Analisis Minyak Asiri *C. aurantifolia*

Kandungan kimia minyak asiri bergantung pada beberapa faktor, yang menjadi faktor paling penting adalah genetik tanaman dan beberapa faktor stres lingkungan seperti cahaya, kadar air, serangan predator dan hama.[21] Kelompok terpenoid seperti monoterpen, sesquiterpen, dan turunan terpen teroksigenasi adalah kelompok senyawa kimia terbesar dalam minyak asiri. Sebagian besar bioaktivitas dari minyak asiri ditentukan oleh salah satu atau lebih komponen utamanya. Namun, terkadang aktivitas minyak asiri tidak dapat dikaitkan dengan salah satu dari komponen utamanya tetapi merupakan efek sinergis dari beberapa komponen senyawa kimianya. Hidrokarbon terpena tidak banyak berkontribusi untuk aroma minyak asiri, karena kelompok senyawa ini tidak stabil terhadap panas dan cahaya. Senyawa terpen teroksigenasi memberikan kekuatan rasa sebagai karakteristik dari minyak asiri dimana terutama terdiri atas alkohol, aldehida, dan keton.[20]

Hasil pengukuran dengan instrumen GC-MSD dapat dilihat pada Tabel 2 dan Gambar 1. Pada Tabel 2 hanya dicantumkan metabolit sekundernya saja, sisanya senyawa-senyawa hidrokarbon dengan kuantitas kecil. Dari Tabel 2, komponen kimia utama yang terdapat dalam minyak asiri *C. aurantifolia* adalah d-limonen (33,14%), β-pinen (28,32%), sitral (5,32%), dan β-bisabolen (4,44%). Hasil ini sesuai dengan yang dilaporkan penelitian sebelumnya bahwa komponen kimia utama minyak asiri *C. aurantifolia* adalah d-limonen (38,94%), namun terdapat perbedaan kuantitas dan komponen utama lainnya, yaitu β-pinen (26,66%), α-terpineol (8,29%), dan terpinen-4-ol (4,32%).[10]

Tabel 2. Komposisi kimia minyak asiri *C. aurantifolia*

No.	tr (menit)	Luas (%)	Nama Senyawa	Indeks Kemiripan
1.	6,869	0,26	camphene	97
2.	**8,111**	**28,32**	**β-Pinen**	**94**
3.	**10,188**	**33,14**	**d-limonen**	**96**
4.	10,314	1,48	β-phellandren	91
5.	10,674	0,81	β-osimen	97
6.	11,338	0,24	ɣ-terpinen	95
7.	17,289	0,57	terpinen-4-ol	95
8.	18,233	0,95	α-terpineol	86
9.	20,321	0,45	geraniol	90
10.	21,374	0,79	2-Carene	94
11.	**22,130**	**5,32**	**sitral**	**96**
12.	25,197	3,63	caryophyllene	95
13.	25,608	1,65	ɣ-elemen	99
14.	26,747	0,35	humulen	97
15.	**28,326**	**4,44**	**β-bisabolen**	**86**
16.	35,776	0,14	α-bisabool	95



Gambar 1. Kromatogram minyak asiri *C. aurantifolia*

Karakterisasi Mikrokapsul Minyak Asiri *C. aurantifolia*

Span-80 dan tween-80 berfungsi sebagai pengemulsi untuk membentuk *micelle, s*elain itu berperan dalam mengurangi tegangan permukaan dan memungkinkan stabilisasi area permukaan yang lebih besar, sehingga mikrokapsul dengan ukuran yang lebih kecil dapat terbentuk.[22] Proses emulsifikasi antara minyak asiri dan air terjadi antara bagian hidrofilik dari pengemulsi tween-80 dan span-80 yang mengarah pada fase air (bagian luar), sedangkan bagian lipofiliknya akan mengarah ke fase minyak (bagian dalam), sehingga terbentuk *monolayer* yang melingkari suatu tetesan (*droplet*) dari fase dalam emulsi. Struktur span-80 dan tween-80 didominasi oleh rantai karbon panjang, namun perbedaan kedua struktur tersebut terdapat pada gugus eternya, dimana tween-80 memiliki gugus eter paling banyak sehingga menyebabkan polaritasnya lebih tinggi dibanding span-80. Oleh karena itu, diantara kedua pengemulsi span-80 dan tween-80 terjadi ikatan *Van der Waals* antara rantai hidrokarbon span-80 dengan tween-80, serta dengan fase minyak. Selain itu, terjadi pula ikatan hidrogen antara atom O dari tween-80 dengan atom H dari span-80 maupun dengan atom H dari fase air, serta atom H dari span-80 dengan atom O dari fase air. Pengemulsi span-80 memiliki nilai HLB yang rendah sebesar 4,3, dimana memiliki sifat lipofilik yang dominan sehingga cenderung berinteraksi ke fase minyaknya, sedangkan tween-80 memiliki nilai HLB yang tinggi sebesar 15, memiliki sifat hidrofilik yang dominan sehingga cenderung berinteraksi ke fase airnya.[17] Kombinasi tinggi rendah nilai HLB tersebut, menyebabkan tingkat kestabilan emulsi yang lebih baik.[23]

Pembentukan mikrokapsul minyak asiri *C. aurantifolia* dipengaruhi oleh parameter pH, karena parameter ini penting untuk menginisiasi pembentukan koaservat kompleks antara gelatin dan polisakarida. Pada pH 3,75 ini, jumlah muatan anionik pada natrium alginat meningkat dan muatan positif pada gelatin menurun sampai mencapai nol pada titik isolektriknya. Pembentukan koaservasi terjadi ketika pH berada diantara pKa natrium alginat (3,4 – 4,4) dan pI gelatin (8 - 9), dimana pada umumnya protein bermuatan negatif di atas titik isoelektriknya (pI) tetapi bermuatan positif jika pH larutan berada di bawah pI.[21] Hal ini disebabkan oleh protonasi dari gugus asam amino. Ketika larutan anionik polisakarida dicampurkan dengan larutan protein dan pH diturunkan di bawah titik isoelektrik protein, maka tingkat tarikan elektrostatik meningkat karena perbedaan muatan yang meningkat antara molekul protein dan polisakarida yang bereaksi. Kedua muatan berlawanan ini akan saling tarik-menarik dan menyebabkan terbentuknya fase koloid yang tidak larut. Tegangan permukaan dalam sistem emulsi akan berkurang, sehingga bahan inti, yaitu minyak asiri akan tersalut oleh polimer. Berdasarkan interaksi pada Gambar 2, ikatan gelatin dan alginat terbentuk sebagai akibat adanya gugus karboksil dari alginat yang berinteraksi dengan gugus amina dari gelatin dengan membentuk ikatan amida.

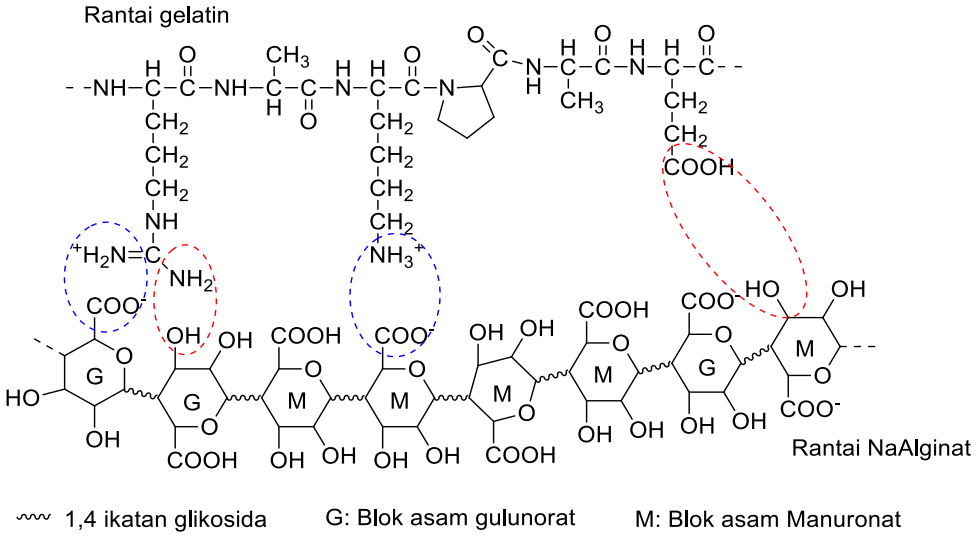
Mikrokapsul yang dihasilkan dianalisis dengan menetapkan parameter-parameter pada Tabel 3.

Tabel 3. Nilai rendemen, *% oil content*, dan % efisiensi enkapsulasi

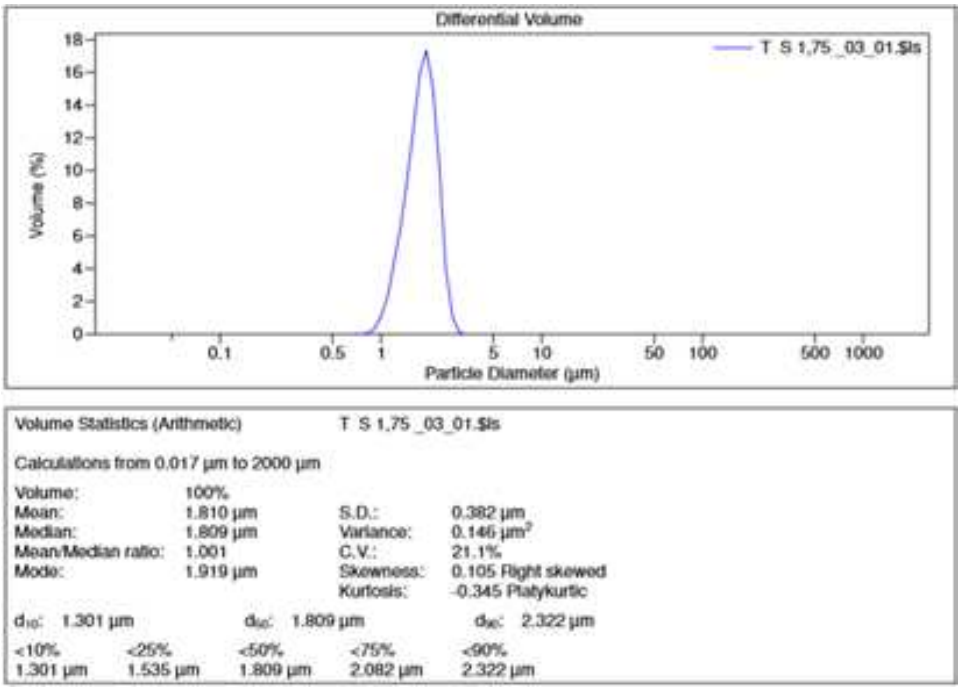
Sampel	Rendemen (%)	*Oil content* (%)	Efisiensi enkapsulasi (%)
Mikro-kapsul	47,3 ± 1,4	66,7 ± 8,1	87,9 ± 8,7

Hasil pengukuran distribusi partikel mikrokapsul minyak asiri *C. aurantifolia* dengan menggunakan instrumen PSA dengan cara *laser diffraction* dapat dilihat pada Gambar 3. Gambar 3 memperlihatkan satu puncak kurva distribusi yang menunjukkan rata-rata ukuran partikel mikrokapsul sebesar 1,810 µm dengan kehomogenan yang baik terlihat dari nilai rasio *mean/median* mendekati nilai 1.

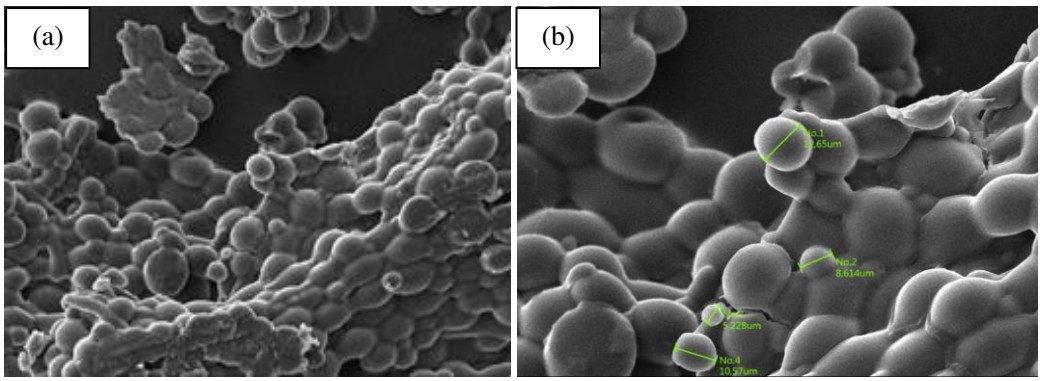
Pengamatan mikrokapsul dengan instrumen SEM pada pembesaran 500× (Gambar 4-a) tampak mikrokapsul terlihat jelas dengan bentuk bulat, namun masih terdapat yang teraglomerasi. Dengan pembesaran 1000× (Gambar 4-b), terlihat bahwa mikrokapsul memiliki bentuk sperik yang relatif homogen dan permukaannya halus, serta memiliki diameter antara 5-12 µm.



Gambar 2. Interaksi antara gelatin dan natrium alginat[24]



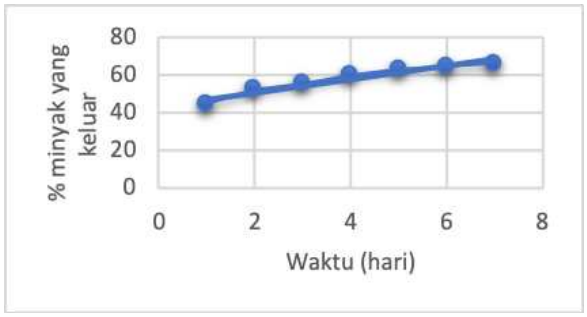
Gambar 3. Data PSA mikrokapsul



Gambar 4. Mikrograf SEM dari mikrokapsul yang dihasilkan dari pembesaran 500× dan (b) 1000×

Studi Pelepasan Minyak Asiri *C. aurantifolia*

Pengamatan pelepasan minyak asiri *C. aurantifolia* dari mikrokapsul dilakukan dengan minyak asiri dipaksa keluar menggunakan rangsangan secara mekanik dengan melakukan pengadukan pada 100 rpm. Minyak asiri yang keluar akan bersatu dengan pelarut *n*-heksana. Data hasil pengamatan pelepasan minyak asiri *C. aurantifolia* selama 7 hari dapat dilihat pada Gambar 5.



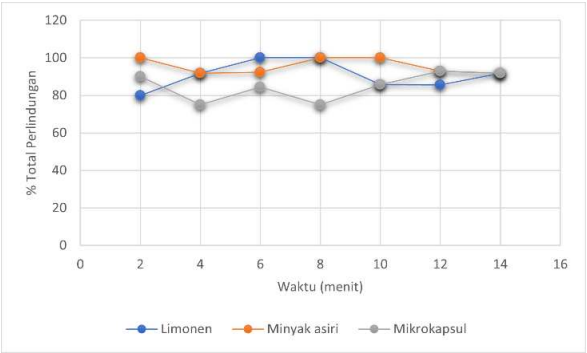
Gambar 5. Kurva pelepasan minyak asiri *C. aurantifolia* selama 7 hari

Dari grafik tersebut terlihat pada tahap awal banyaknya minyak asiri yang dilepas sebanyak 44,6%, namun kemudian melambat dan menjadi konstan. Pelepasan minyak yang cukup besar pada tahap awal merupakan fenomena yang dikenal dengan '*burst effect*' yang telah sering dijelaskan dalam studi pelepasan terkontrol pada bidang farmasi.[25] Hingga pada hari ketujuh, rata-rata total minyak yang dilepaskan sebesar 65,88% dari total minyak yang berhasil tersalut. Penggunaan pengemulsi span-80 dan tween-80 pada mikroenkapsulasi berhasil memberikan karakter mikrokapsul yang baik dengan morfologi berbentuk bulat dan permukaannya halus, dimana permukaan yang halus ini mempengaruhi proses pelepasan minyak asiri yang berkelanjutan. Apabila mikrokapsul yang dihasilkan memiliki permukaan yang lebih kasar dan berpori, maka laju pelepasannya akan semakin besar.[26]

Pelepasan minyak asiri ini memiliki relevansi dengan proses difusi yang prinsipnya serupa dengan pervaporasi. Dalam mekanisme pelepasan ini, minyak asiri yang mudah menguap dilepaskan dengan penguapan parsial melalui membran berpori. Difusi dikendalikan oleh permeabilitas bahan inti melalui membran partikel. Permeabilitas membran dipengaruhi oleh molekul yang menembus dan sifat membran seperti morfologinya. Lebih lanjut, difusi juga didorong terkait dengan tekanan uap minyak asiri. Selain itu, laju pelepasan minyak asiri dipercepat oleh permukaan mikrokapsul yang berpori.[19]

Aktivitas *Repellent* Nyamuk

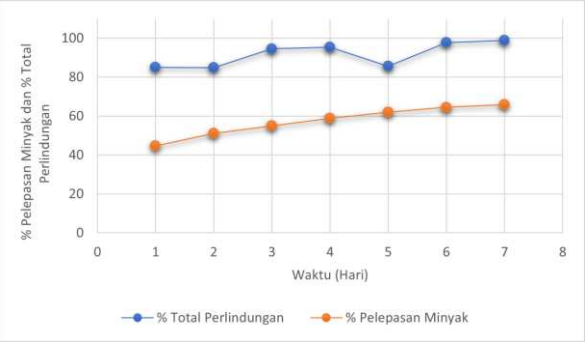
Uji aktivitas antinyamuk (*repellent*) dilakukan terhadap sampel mikrokapsul, minyak asiri, dan limonen terhadap nyamuk *A. aegypti* selama waktu kontak 14 menit, dengan jumlah nyamuk 50 ekor. Pengamatan dilakukan dengan menghitung jumlah nyamuk yang hinggap di area tangan pengamatan. Hasilnya ditunjukkan pada Gambar 6. Nilai % total perlindungan untuk limonen, minyak asiri, dan mikrokapsul secara berurutan adalah 91%; 96%; dan 82%.



Gambar 6. % Total perlindungan minyak asiri, limonen, dan mikrokapsul

Nilai % total perlindungan dari minyak asiri lebih tinggi daripada limonen yang merupakan kandungan utamanya. Hal ini karena aktivitas minyak asiri tidak dapat dikaitkan dengan salah satu

dari komponen utamanya tetapi merupakan efek sinergis dari beberapa komponen senyawa kimianya.[22] Nilai % total perlindungan mikrokapsul adalah nilai yang terkecil. Hal ini dikarenakan minyak asiri dari mikrokapsul belum dilepaskan seluruhnya atau masih terperangkap di dalam mikrokapsul sehingga memberikan % total perlindungan yang kecil, hal ini menunjukkan bahwa mikrokapsul mampu menahan pelepasan secara bertahap.



Gambar 7. Plot % kadar minyak asiri yang lepas terhadap % total perlindungan

Gambar 7 menunjukkan hubungan pelepasan minyak asiri dengan aktivitas *repellent* nyamuk. Dari grafik tersebut terlihat bahwa mikrokapsul minyak asiri hingga pada hari ketujuh masih mampu memberikan total perlindungan sebesar 99%.

KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan, diperoleh kesimpulan bahwa minyak asiri memiliki kualitas yang baik dengan visual berwarna kuning pucat, memiliki aroma segar khas *C. aurantifolia*. Mikrokapsul yang dihasilkan berbentuk bulat, homogen dengan permukaannya halus, serta memiliki diameter antara 5-12 µm. Mikrokapsul dapat mengontrol pelepasan minyak asiri secara bertahap dan memberikan efek repelensi yang baik terhadap nyamuk. Dengan demikian dapat dijadikan landasan dalam pengaplikasiannya pada industri tekstil sebagai kain antinyamuk.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran dan Balai Besar Tekstil serta Universitas Padjadjaran atas kerjasama penelitian dan fasilitas yang diberikan.

PUSTAKA

1. Bhatt, S., Gething, P.W., Brady, O.J., Messina, J.P., Farlow, A. W., Moyes, C.L., Drake, J.M., Brownstein, J.S., Hoen, A.G., Sankoh, O., Myers, M. F., George, D. B., Jaenisch, T., William Wint, G. R., Simmons, C.P., Scott, T.W., Farrar, J.J., & Hay, S. I. The global distribution and burden of dengue. *Nature.* **496**(7446), 504-507 (2013).

2. Lin, L.Y., Chuang, C.H., & Yang, K.M. Lime (*Citrus aurantifolia* (Christm.) swingle) essential oils: Volatile compounds, antioxidant capacity, and hypolipidemic effect. *Foods*. **8**(9) (2019).

3. Sotelo-Boyás, M.E., Correa-Pacheco, Z.N., Bautista-Baños, S., & Corona-Rangel, M.L. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against food-borne pathogens. *LWT - Food Science and Technology*. **77**, 15–20 (2017).

4. Aripin, D., Julaeha, E., Dardjan, M., & Cahyanto, A. Chemical composition of Citrus spp. and oral antimicrobial effect of Citrus spp. peels essential oils against Streptococcus mutans. *Padjadjaran Journal of Dentistry*. **27**(1), 1–11 (2015).

5. Soonwera, M. Efficacy of Essential Oils from Citrus plants against Mosquito Vectors Aedes aegypti (Linn.) and Culex quinquefasciatus (Say). **11**,669-681 (2015).

6. Hamid, H. A., N. Silvarajoo, and N. A. Hamid. Chemical Composition and Repellent Activity Against Mosquito *Aedes Aegypti* of *Pelargonium radula*, *Syzygium aromaticum* and *Citrus aurantifolia* Essential Oils: *Materials Science Forum. **981**: 253- 257* (2020).

7. Aziz, Z.A.A., Ahmad, A., Setapar, S.H.M., Karakucuk, A., Azim, M.M., Lokhat, D., Rafatullah, M., Ganash, M., Kamal, M.A., & Ashraf, G.M. Essential Oils: Extraction Techniques, Pharmaceutical And Therapeutic Potential - A Review. *Current Drug Metabolism*. **19**(13), 1100–1110 (2018).

8. Astuti, E., Sunarminingsih, R., Jenie, U.A., Mubarika, S., & Sismindari. Pengaruh Lokasi Tumbuh, Umur Tanaman, dan Variasi Jenis Destilasi terhadap Komposisi Senyawa Minyak Atsiri Rimpang Curcuma mangga Produksi beberapa Sentra di Yogyakarta. *Jurnal Manusia dan Tumbuhan*. **21**(3), 2–7 (2014).

9. Rattanawongwiboon, T., Hemvichian, K., Lertsarawut, P., & Suwanmala, P. Chitosan-poly(ethylene glycol) diacrylate beads prepared by radiation-induced crosslinking and their promising applications derived from encapsulation of essential oils. *Radiation Physics and Chemistry*. **170**, 108656 (2020)

10. Wahyudi, T., Mulyawan, A.S., Kasipah, C., Prayudie, U., & Julaeha, E. Pembuatan Mikrokapsul Minyak Jeruk (Citrus aurantifolia) Untuk Aplikasi Pada Penyempurnaan Tekstil. *Arena Tekstil*. **32**(1), 1–8 (2017).

11. Julaeha, E., Nugeraha, R., Nurzaman, M., Kurnia, D., Wahyudi, T., & Rosandi, Y. Characterization of ethyl cellulose (EC) microcapsules for lime oil encapsulation. *Journal of Physics: Conference Series*. **1080**(1) (2018).

12. Puspita, S., Eddy, D.R., Wahyudi, **T., &** Julaeha, E. Microencapsulation of Lime Peel Essential Oils (*Citrus aurantifolia*) with Complex Coacervation Methods using Gelatin/Sodium Alginate Coating. *Revista de Chimie*. **71**(12), 146-155 (2020).

13. Julaeha, E., Nurzaman, M., Eddy, D.R., Kurnia, D., Puspita, S., Rosandi, Y., Wahyudi, T., **&** Al Anshori, J**.** Microencapsulation of lime (*Citrus aurantifolia*) oil for antibacterial finishing of cotton fabric. *RSC Advances*. **11**(3), 1743-1749 (2021).

14. Solomon, B., Sahle, F.F., Gebre-Mariam, T., Asres, K. & Neubert, R. H. H. Microencapsulation of citronella oil for mosquito-repellent application: Formulation and in vitro permeation studies. Eur. J. Pharm. Biopharm. 80, 61–66 (2012).

15. Grancaric, A.M., Laird, K., Botteri, L., Shen, J. & Laatikainen, K. Microencapsulation for improved mosquitoes' repellent efficacy of cotton fabrics. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng*. **827**, 18–23 (2020).

16. Chung, S.K., Seo, J.Y., Lim, J.H., Park, H.H., Yea, M.J., & Park, H.J. Microencapsulation of essential oil for insect repellent in food packaging system. *Journal of Food Science*. **78**(5), 1–6 (2013).

17. Dinarvand, R., Moghadam, S. H., Sheikhi, A., & Atyabi, F. Effect Of Surfactant HLB And Different Formulation Variables On The Properties Of Poly-D,L-Lactide Microspheres Of Naltrexone Prepared By Double Emulsion Technique. *Journal of Microencapsulation*. **22**(2): 139–151 (2005).

18. Maji, T.K., Baruah, I., Dube, S., & Hussain, M.R. Microencapsulation of Zanthoxylum limonella oil (ZLO) in glutaraldehyde crosslinked gelatin for mosquito repellent application. *Bioresource Technology*. **98**(4), 840–844 (2007).

19. Misni, N., Nor, Z.M., & Ahmad, R. Repellent effect of microencapsulated essential oil in lotion formulation against mosquito bites. *Journal of Vector Borne Diseases*. **54**(1), 44–53 (2017).

20. Mahato, N., Sinha, M., Sharma, K., Koteswararao, R. & Cho, M. H. Modern extraction and purification techniques for obtaining high purity food-grade bioactive compouds and value-addes co-products from citrus wastes. *Foods* vol. 8 (2019)

21. Silvestre, W.P., Livinalli, N.F., Baldasso, C., & Tessaro, I.C. Pervaporation in the separation of essential oil components: A review. *Trends in Food Science and Technology*. **93**(September), 42–52 (2019).

22. Raut, J.S. & Karuppayil, S.M. A status review on the medicinal properties of essential oils. *Industrial Crops and Products*. **62**, 250–264 (2014).

23. Timilsena, Y.P., Akanbi, T.O., Khalid, N., Adhikari, B., & Barrow, C.J. Complex coacervation: Principles, mechanisms and applications in microencapsulation. *International Journal of Biological Macromolecules*. **121**, 1276–1286 (2019).

24. Mollet, Hans; Grubenmann, A. 2 Emulsions - Properties and Production (2001).

25. Li, Y., Jia, H., Cheng, Q., Pan, F., & Jiang, Z. Sodium alginate – gelatin polyelectrolyte complex membranes with both high water vapor permeance and high permselectivity. *Journal of Membrane Science*. **375**(1–2), 304–312 (2011).

26. Specos, M.M.M., García, J.J., Tornesello, J., Marino, P., Vecchia, D.M., Tesoriero, D.M.V., & Hermida, L.G. Microencapsulated citronella oil for mosquito repellent finishing of cotton textiles. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. **104**(10), 653–658 (2010).