

KAJIAN DAYA PROTEKSI PRODUK REPELAN NYAMUK DEMAM BERDARAH DENGUE DALAM BENTUK *LOTION* BERBASIS MINYAK ATSIRI LOKAL (MINYAK SEREH WANGI DAN MINYAK NILAM)

Wa Ode Cakra Nirwana*, Chandrawati Cahyani, Vivi Nurhadianty

Program Studi Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Brawijaya
Jl. MT. Haryono no. 167 Malang 65145
Telp. 0341-587710 ext 1333, 1139, 1245, 1229; fax. 0341-574140
E-mail: *cnirwana@ub.ac.id

Abstrak

*Kasus demam berdarah dengue (DBD) di Indonesia masih menjadi kasus tertinggi di Asia Tenggara. Beberapa studi dilakukan untuk mempelajari potensi bahan aktif alami sebagai repelan, menggantikan bahan sintetik. Studi menunjukkan minyak sereh wangi potensial sebagai repelan namun proteksinya hanya ± 2 jam. Selain itu, minyak nilam juga menunjukkan daya proteksi yang baik terhadap *Aedes aegypti*. Studi aplikasi campuran kedua minyak tersebut sebagai repelan berbentuk lotion belum pernah dilakukan. Karena itu, penelitian ini bertujuan mengkaji keefektifan kombinasi minyak sereh wangi dan minyak nilam sebagai repelan dalam bentuk lotion dan mengetahui formulasi bahan aktif yang memberikan daya proteksi terbaik. Konsentrasi minyak atsiri divariasikan 0%, 2%, 3%, 4%, 5% sedangkan komposisi minyak sereh wangi : minyak nilam (S:N) adalah 1:0, 0:1, 1:1, 2:1, 1:2. Jenis nyamuk yang digunakan *Aedes aegypti* betina, generasi ke 423, tidak mengandung virus Dengue. Pengamatan jumlah nyamuk yang hinggap di punggung dan telapak tangan dilakukan 1 jam sekali selama 6 jam. Hasilnya menunjukkan kombinasi minyak sereh wangi dan minyak nilam pada produk repelan memberikan daya proteksi lebih baik dibandingkan penggunaan salah satu minyak saja. Lotion berbahan aktif kombinasi kedua minyak tersebut memberikan rata-rata daya proteksi 85,2% hingga jam ke 6 yang ditunjukkan pada komposisi S:N = 2:1 dengan konsentrasi 5%.*

Kata Kunci: *aedes aegypti*, minyak nilam, minyak sereh wangi, repelan

STUDY OF REPELLENT ACTIVITY AGAINST MOSQUITO OF DENGUE HEMORRHAGIC FEVER BASED ON LOCAL ESSENTIAL OIL (CITRONELLA OIL AND PATCHOULI OIL)

*Cases of Dengue Hemorrhagic Fever (DHF) in Indonesia is the highest in Southeast Asia. Several studies have been conducted to study the potential of natural active ingredients as repellent to replace synthetic materials. Studies showed that citronella oil has potency as repellent but the protection is only ± 2 hours. In addition, patchouli oil also showed a good protection against *Aedes aegypti*. Study of applications of both oil as repellent in the form of lotion has never been done. Therefore, this study aims to assess the effectiveness of a combination of lemongrass oil and patchouli oil as repellent, in the form of lotions and to know the active ingredient formulation that gives the best protection. The concentration of essential oils varied 0%, 2%, 3%, 4%, 5%, while the composition of oils of citronella oil : patchouli oil (S: N) is 1: 0, 0: 1, 1: 1, 2: 1, 1: 2. Female *Aedes aegypti* were used, 423rd generation and does not contain dengue virus. Observations of mosquitoes number that landed on the back and palm of the hand is done every 1 hour for 6 hours. The results showed that the combination of lemongrass oil and patchouli oil as an active ingredient in repellent product provide a better protection compared to the use of one of the oil alone. It giving an average protection of 85.2% up to 6 hours, shown in the composition of S: N = 2: 1 on a concentration of 5%.*

Keywords: *aedes aegypti*, citronella oil, patchouli oil, repellent

PENDAHULUAN

Degradasi lingkungan karena aktivitas manusia, aktivitas industri, urbanisasi, pesatnya pertumbuhan penduduk adalah sedikit dari sekian banyak faktor yang berdampak pada penurunan kualitas lingkungan. Resiko yang ditimbulkan salah satunya adalah semakin luasnya penyebaran penyakit tular nyamuk (vektor) seperti demam berdarah dengue (DBD). Kasus DBD banyak ditemukan di daerah tropis dan sub tropis. Data dari seluruh dunia menunjukkan Asia menempati urutan pertama dalam jumlah penderita DBD setiap tahunnya (Buletin Jendela Epidemiologi, 2010). Data WHO menunjukkan bahwa hingga tahun 2012, Indonesia adalah negara dengan kasus DBD tertinggi di Asia Tenggara (Anonymous, 2014). Tidak heran jika kondisi ini menyebabkan Indonesia menjadi pasar potensial dalam memasarkan produk anti nyamuk. Selama ini telah banyak produk anti nyamuk dalam kemasan yang beragam dan kandungan bahan aktif yang berbeda-beda jenisnya maupun konsentrasinya. Beberapa zat aktif yang digunakan adalah *dichlorvos*, *propoxur*, *pyrethroid* dan *diethyltoluamide* serta bahan kombinasinya. Bahan-bahan aktif tersebut memberikan efek yang berbeda-beda kepada manusia, mulai dari efek paling ringan (pusing, sakit kepala) sampai efek paling berat (bersifat karsinogen, merusak sistem hormon, mengganggu sistem pernapasan dan jantung serta merusak kemampuan reproduksi). Bahkan dalam kasus keracunan parah dapat menyebabkan koma dan kematian. Di Indonesia, produk anti nyamuk pada umumnya menggunakan bahan aktif berupa *d-allethrin*, *transflutrin*, *bioallethrin*, *pralethrin*, *d-phenothrin*, *cypenothrin* atau *esbiothrin* yang merupakan turunan *pyrethroid*. *Pyrethroid* merupakan salah satu jenis insektisida organik sintesis yang termasuk racun kelas menengah. Jenis racun ini dapat merusak sistem hormonal, bersifat karsinogenik dan menghancurkan sistem endokrin (Kurniati, dkk., 2011). Dengan segala potensi bahaya yang ditimbulkan tersebut maka telah banyak studi yang dilakukan untuk mempelajari potensi bahan-bahan aktif alami yang berasal dari tumbuh-tumbuhan untuk menggantikan bahan aktif kimiawi/sintetik (Sritabutra and Soonwera, 2013; J., et al., 2013; Barnard and Xue, 2004; Kiplang'at and Mwangi, 2013; Oparaochaa et al., 2010; Baba et al., 2012).

Bahan aktif alami ini terkandung dalam minyak yang berasal dari bagian-bagian tumbuhan (daun, bunga, buah, biji, kulit batang, akar, dan rimpang). Beberapa bahan aktif tersebut adalah linalool (berasal dari lavender), sitronelol dan geraniol (berasal dari sereh wangi), eugenol (dari minyak cengkeh), azadirachtin (dari minyak mimba), patchouli alcohol (dari minyak nilam), 1,8-cineole, citronellal (dari minyak kayu putih) dan lain-lain. Minyak sereh wangi merupakan salah satu minyak atsiri yang potensial sebagai repelan nyamuk *Aedes aegypti*. Namun daya proteksinya hanya memberikan proteksi selama kurang lebih 2 jam (Trongtokit, et. al., 2005; Goodyer, et. al., 2010). Selain minyak sereh wangi, minyak nilam juga memiliki daya proteksi yang baik terhadap *Aedes aegypti* karena mengandung *patchouli alcohol* (J., et al., 2013). Keunggulan lain minyak nilam adalah bersifat fiksatif sehingga memberi efek *slow release* terhadap bahan-bahan yang mudah menguap. Studi tentang penggunaan minyak sereh wangi ataupun minyak nilam sebagai repelan dalam bentuknya sebagai minyak telah dilakukan (Sritabutra et al., 2011; Kuppusamy et al., 2013; Sritabutra and Soonwera, 2013). Namun studi aplikasi campuran kedua minyak tersebut sebagai repelan dalam bentuk lain seperti *lotion* belum pernah dilakukan. Penelitian ini bertujuan mengkaji keefektifan penggunaan kombinasi minyak sereh wangi dan minyak nilam sebagai repelan yang dibuat dalam bentuk *lotion* serta mengetahui formulasi bahan aktif yang memberikan daya proteksi terbaik.

METODE PENELITIAN

Minyak atsiri

Minyak atsiri yang digunakan berupa minyak nilam dan minyak sereh wangi yang diperoleh dari Laboratorium Lapang PUREAA (Pusat Riset dan Enterpreneurial Agroindustri Atsiri) Universitas Brawijaya. Kedua minyak ini merupakan hasil penyulingan tanaman nilam (*Pogostemon cablin*) dan tanaman sereh wangi (*Cymbopogon nardus*) dengan metode penyulingan uap (*steam distillation*).

Lotion dasar

komposisi bahan baku *lotion* dasar dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Komposisi Bahan Baku *Lotion* Dasar

Fase Air:	Fase Minyak:	Minyak Atsiri
Trietanolamin (TEA) 0,17% v/w	BHT 0,02%	Minyak Nilam
Gliserin 2,4% v/w	Metil Paraben 0,2%	Minyak Sereh Wangi
Sorbitol 1,4% v/w	Coco Dea 3,8%	
Aquades 85,8% v/w	Asam Stearat 0,4%	
TiO ₂ 0,5%	Minyak Zaitun 3% v/w	
	Cetyl Alcohol 2%	

Nyamuk

Jenis nyamuk yang digunakan adalah nyamuk *Aedes aegypti* betina, generasi ke 423 yang merupakan strain laboratorium entomologi ITD (Institute of Tropical Disease), Universitas Airlangga, Surabaya. Nyamuk dewasa dikembangkan dari telur yang membutuhkan waktu ± 7 hari dan bebas dari virus Dengue.

Sebelum digunakan, nyamuk dikondisikan dalam keadaan lapar dengan tidak memberi makan selama 24 jam. Hal ini dimaksudkan agar pada saat digunakan, nyamuk dalam keadaan aktif mencari makan sehingga pola aktivitas nyamuk *Aedes aegypti* yang aktif hanya pada jam tertentu tidak menjadi parameter yang mempengaruhi pengamatan daya proteksi repelan. Pengujian dilakukan dalam sebuah kurungan berukuran 42 cm x 34 cm x 39 cm dimana jumlah nyamuk setiap kurungan adalah 20 ekor.

Tes repelan

Konsentrasi minyak atsiri (v/v) yang digunakan adalah 0% (kontrol), 2%, 3%, 4%, 5% dengan komposisi minyak sereh wangi : minyak nilam (S:N) adalah 1:0; 2:1; 0:1;1:2; 1:1. Model rancangan penelitian menggunakan rancangan acak lengkap (*completely randomized design*).

Pengujian dilakukan dengan cara memasukkan kedua tangan yang telah dibersihkan terlebih dahulu. Punggung tangan kiri dioleskan *lotion* kontrol (tanpa minyak atsiri) sedangkan punggung tangan kanan dioleskan *lotion* perlakuan, masing-masing sebanyak 0,3 ml. Penelitian ini dilakukan di ruangan yang sama dengan suhu ruang 27±1 °C.

Pengamatan jumlah nyamuk yang hinggap dilakukan selama 10 (sepuluh) detik kemudian tangan digerakkan untuk mengusir nyamuk yang hinggap dan kemudian dipaparkan kembali selama 10 detik berikutnya. Kegiatan ini dilakukan sepuluh kali (sepuluh ulangan) pada setiap tangan, baik yang diberi perlakuan maupun kontrol. Pengujian dilakukan setiap 1 jam sekali selama 6 jam berturut-turut (Kardinan dan Dhalimi, 2010).

Analisis data

Daya proteksi merupakan ukuran kemampuan suatu bahan untuk melindungi

manusia dari nyamuk yang dirumuskan pada persamaan berikut:

$$\text{Daya proteksi} = \frac{K-P}{K} \times 100\%$$

K = jumlah nyamuk pada tangan kontrol

P = jumlah nyamuk pada tangan perlakuan

Sebuah produk dapat disebut sebagai repelan jika rata-rata daya proteksinya mencapai 90% hingga jam ke 6, sesuai dengan ketentuan dari Komisi Pestisida Indonesia (Komisi Pestisida, 1995). Rata-rata daya proteksi dihitung berdasarkan:

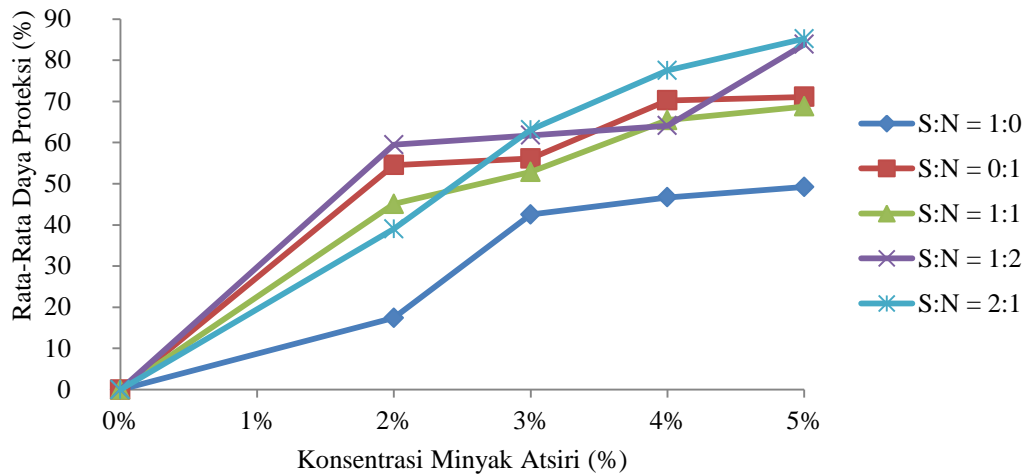
$$\text{Rata-rata daya proteksi} = \frac{\sum_{i=0}^{ti=i} \text{daya proteksi}}{i+1} \times 100\%$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri (Minyak Sereh Wangi dan Minyak Nilam) Pada Rata-Rata Daya Proteksi *Lotion* Terhadap *Aedes aegypti*

Pengaruh konsentrasi minyak atsiri pada daya proteksi *lotion* terhadap nyamuk *Aedes aegypti* menunjukkan hubungan yang linier (Gambar 1). Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri maka daya proteksinya semakin baik. Hal ini dapat disebabkan karena semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri maka aroma minyak atsiri akan semakin tajam. Pengendalian dengan repelan baik dengan bahan aktif kimia maupun botani mempunyai target pada alat indera nyamuk yaitu palp dan antenna maka ketajaman aroma bahan aktif menjadi faktor penentu dalam memberikan proteksi terhadap gigitan nyamuk. Organ palp dan antenna bersifat sangat peka dan dapat dirangsang oleh aroma. Jika aroma bahan aktif repelan mampu menutupi bau yang dikeluarkan oleh tubuh manusia maka nyamuk akan menghindari aroma tersebut sehingga manusia akan terbebas dari gigitan nyamuk (Korneliani, 2011). Rata-rata daya proteksi tertinggi ditunjukkan oleh *lotion* dengan komposisi S:N = 2:1 yaitu sebesar 85% dan terendah adalah 17% yang ditunjukkan oleh *lotion* dengan komposisi S:N = 1:0.

Wa Ode Cakra Nirwana*, Chandrawati Cahyani, Vivi Nurhadianty: Kajian daya proteksi produk repelan nyamuk demam berdarah dengue dalam bentuk *lotion* berbasis minyak atsiri lokal (minyak sereh wangi dan minyak nilam)



Gambar 1. Pengaruh Konsentrasi Minyak Atsiri Terhadap Rata-Rata Daya Proteksi *Lotion* Terhadap *Aedes aegypti*

Pengaruh Komposisi Minyak Atsiri Terhadap Daya Proteksi *Lotion*

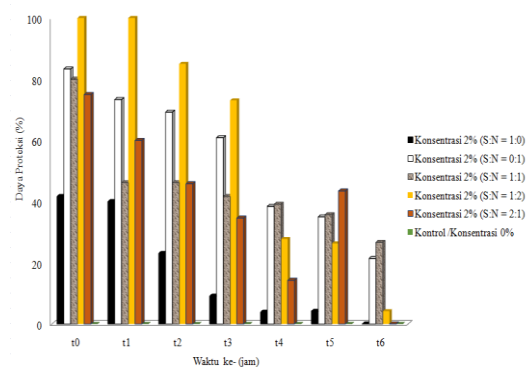
Profil daya proteksi *lotion* terhadap *Aedes aegypti* setiap jam untuk berbagai konsentrasi dan komposisi minyak atsiri dapat dilihat pada Gambar 2, 3, 4 dan 5. Dimana t_i adalah waktu ke i . t_0 berarti waktu pada awal pemakaian *lotion* dan t_6 berarti waktu setelah 6 jam pemakaian. Terlihat bahwa untuk semua konsentrasi minyak atsiri terjadi penurunan daya proteksi. Hal ini disebabkan karena bahan aktif berupa minyak atsiri memiliki sifat mudah menguap sehingga daya proteksinya akan berkurang seiring bertambahnya waktu.

Gambar 6 menunjukkan pengaruh komposisi minyak atsiri (rasio minyak sereh wangi : minyak nilam) terhadap rata-rata daya proteksi *lotion* terhadap *Aedes aegypti* untuk berbagai konsentrasi.

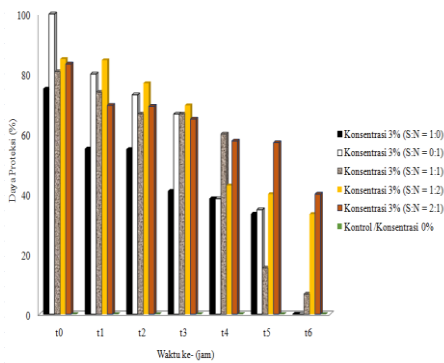
Untuk konsentrasi 2%, terlihat bahwa rata-rata proteksi terbaik selama 6 jam pemakaian diperlihatkan pada *lotion* S : N = 1 : 2 yaitu sebesar 59,5%. Sedangkan proteksi terendah diperlihatkan pada komposisi S : N = 1 : 0 yaitu 17,4%.

Rata-rata daya proteksi terbaik dari *lotion* pada konsentrasi minyak atsiri 3% diperlihatkan pada komposisi S:N = 2:1 (Gambar 6). Dengan komposisi ini, *lotion* mampu memberikan rata-rata daya proteksi sebesar 63,1% selama 6 jam pema-

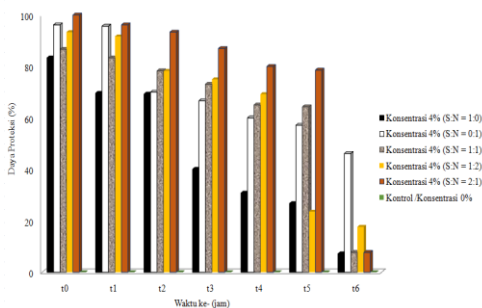
kaian. Sedangkan daya proteksi terendah diperlihatkan pada komposisi S:N 1:0 yaitu sebesar 42,5%. Kecenderungan yang sama juga ditunjukkan pada data untuk konsentrasi minyak atsiri 4% dan 5% (Gambar 6). Keduanya menunjukkan bahwa komposisi S:N = 1:0 memberikan rata-rata daya proteksi terendah dan komposisi S:N = 2:1 memberikan rata-rata daya proteksi tertinggi. Pada konsentrasi 4% memberikan rata-rata daya proteksi sebesar 77,5% dan proteksi 85,2% untuk konsentrasi 5%.



Gambar 2. Profil Daya Proteksi *Lotion* terhadap *Aedes aegypti* Setiap Jam Untuk Konsentrasi Minyak Atsiri 2%

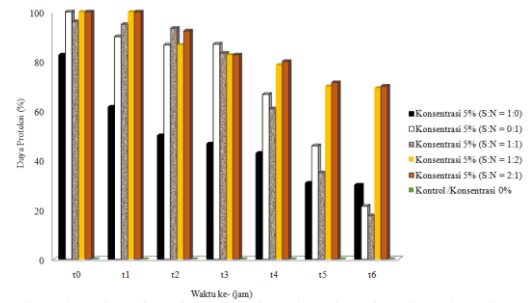


Gambar 3. Profil Daya Proteksi *Lotion* terhadap *Aedes aegypti* Setiap Jam Untuk Konsentrasi Minyak Atsiri 3%

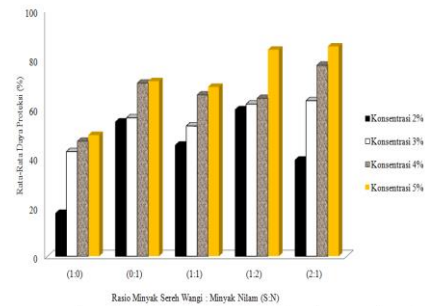


Gambar 4. Profil Daya Proteksi *Lotion* terhadap *Aedes aegypti* Setiap Jam Untuk Konsentrasi Minyak Atsiri 4%

Gambar 6 juga menunjukkan bahwa minyak nilam memberikan daya proteksi yang lebih baik dibandingkan dengan minyak serih wangi. Hal ini dapat disebabkan karena titik uap minyak serih wangi lebih rendah dibandingkan dengan minyak nilam. Akibatnya, minyak serih wangi lebih mudah menguap sehingga daya tahan aromanya pada *lotion* lebih rendah. Adanya kombinasi minyak serih wangi dan minyak nilam memberikan daya proteksi yang lebih baik dibandingkan penggunaan minyak serih wangi saja (S:N = 1:0) ataupun minyak nilam saja (S:N = 0:1). Dari seluruh formulasi, dapat diketahui bahwa rata-rata daya proteksi terbaik diberikan oleh *lotion* dengan komposisi S:N = 2:1 pada konsentrasi 5% yaitu sebesar 85,2%. Nilai proteksi ini sedikit lebih kecil dari ketentuan Komisi Pestisida Indonesia yang mensyaratkan daya proteksi sebesar 90% hingga jam ke 6. Oleh karena itu, peningkatan konsentrasi minyak atsiri dapat menjadi salah satu alternatif untuk meningkatkan daya proteksi namun perlu mempertimbangkan efek produk terhadap kulit (apakah memberikan efek iritan atau tidak) serta biaya produksi untuk tujuan komersialisasi. Namun secara umum dapat diketahui bahwa kombinasi minyak serih wangi dan minyak nilam memiliki potensi untuk menggantikan repelan berbahan aktif bahan berbahaya.



Gambar 5. Profil Daya Proteksi *Lotion* terhadap *Aedes aegypti* Setiap Jam Untuk Konsentrasi Minyak Atsiri 5%



Gambar 6. Pengaruh Komposisi Minyak Serih Wangi : Minyak Nilam Terhadap Rata-Rata Daya Proteksi

KESIMPULAN

Kombinasi minyak serih wangi dan minyak nilam sebagai bahan aktif dalam produk repelan memberikan rata-rata daya proteksi lebih baik dibandingkan dengan penggunaan minyak serih wangi saja atau minyak nilam saja. *Lotion* dengan bahan aktif kombinasi minyak serih wangi dan minyak nilam dapat memberikan rata-rata daya proteksi sebesar 85,2% hingga jam ke 6 yang ditunjukkan oleh *lotion* dengan komposisi minyak serih wangi : minyak nilam = 2:1 pada konsentrasi 5%.

UCAPAN TERIMAKASIH

Peneliti mengucapkan terimakasih kepada BPP Fakultas Teknik Universitas Brawijaya atas dukungan dana yang diberikan

DAFTAR PUSTAKA

Anonymous, (2014), World Health Organization - Regional Office for South East Asia Region, http://www.searo.who.int/entity/vector_borne_tropical_diseases/data/seardengueupdate.pdf Accessed 10 April 2014.

Wa Ode Cakra Nirwana*, Chandrawati Cahyani, Vivi Nurhadianty: Kajian daya proteksi produk repelan nyamuk demam berdarah dengue dalam bentuk *lotion* berbasis minyak atsiri lokal (minyak sereh wangi dan minyak nilam)

- Baba, G., Lawal, A.O., Shariff, H.B., (2012), Mosquito Repellent Activity and Phytochemical Characterization of Essential Oils From *Striga hermonthica*, *Hyptis spicigera* and *Ocimum basilicum* Leaf Extracts, *British Journal of Pharmacology and Toxicology*, 3(2), pp. 43-48.
- Barnard, DR., Xue R-D., (2004), Laboratory Evaluation of Mosquito Repellents Against *Aedes albopictus*, *Culex nigripalpus*, and *Ochlerotatus triseriatus* (Diptera: Culicidae), *J. Med. Entomol*, 41(4), pp. 726-730.
- Buletin Jendela Epidemiologi, (2010), Demam Berdarah Dengue, Volume 2, ISSN-2087-1546, Pusat Data dan Surveilans Epidemiologi, Kementerian Kesehatan RI.
- Goodyer L.I., Croft A.M., Frances S.P., Hill N., Moore S.J., Onyango S.P., Debboun M., (2010), Expert Review Of The Evidence Base For Arthropod Bite Avoidance, *J Travel Med*, 17, pp. 1708-8305.
- Jantan, I., Zaki, Z.M., (1999), Development Of Environment-Friendly Insect Repellents From The Leaf Oils Of Selected Malaysian Plants, *ASEAN Review of Biodiversity and Environmental Conservation (ARBEC)*.
- J, G., Kuppusamy, E., Shanmugam, D., Appavu, A., Kaliyamoorthi, K., (2013), Pupicidal And Repellent Activities Of Pogostemon Cablin Essential Oil Chemical Compounds Against Medically Important Human Vector Mosquitoes, *Asian Pac J Trop Dis*, 3(1), pp. 26-31.
- Kardinan, A., Dhalimi, A., (2010), Potensi Adas (*Foeniculum vulgare*) Sebagai Bahan Aktif *Lotion* Anti Nyamuk Demam Berdarah (*Aedes aegypti*), *Bul. Littro*. Vol. 21 No. 1, pp. 61 – 68.
- Kiplang'at, K.P., Mwangi, R.W., (2013), Repellent Activities of *Ocimum basilicum*, *Azadirachta indica* and *Eucalyptus citriodora* Extracts on Rabbit Skin against *Aedes aegypti*, *Journal of Entomology and Zoology Studies*; 1 (5), pp. 84-91.
- Komisi Pesticida Departemen Pertanian, (1995), *Metode Standar Pengujian Efikasi Pesticida*. Jakarta, pp. 7-8.
- Korneliani, K., (2011), Perbedaan Daya Proteksi Berbagai Ekstrak Kulit Jeruk Citrus Sp.) Sebagai Repelen Terhadap Kontak Nyamuk *Aedes aegypti* dan *Aedes albopictus* Dalam Upaya Perlindungan Diri Dari Penyakit DBD, *Prosiding Seminar Nasional "Peran Kesehatan Masyarakat dalam Pencapaian MDG's di Indonesia"*.
- Kurniati, R., Aryani R., Ibrahim, S., (2011), Jumlah Dan Motilitas Spermatozoa Mencit (*Mus musculus* L) Yang Dipapari Obat Nyamuk Elektrik Berbahan Aktif D-Allethrin, *Mulawarman Scientifie*, Vol. 10 No. 2.
- Oparaochaa, E.T., Iwub, I., Ahanaku, J.E., (2010), Preliminary study on mosquito repellent and mosquitocidal activities of *Ocimum gratissimum* (L.) grown in eastern Nigeria, *J Vector Borne Dis* 47, pp. 45–50.
- Sritabutra, D., Soonwera, M., Waltanachanobon, S., Pongjai S., (2011), Evaluation of herbal essential oil as repellents against *Aedes aegypti* (L.) and *Anopheles dirus* Peyton & Harrion, *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, pp. S124-S128.
- Sritabutra, D., Soonwera, M., (2013), Repellent Activity Of Herbal Essential Oils Against *Aedes aegypti* (Linn.) and *Culex quinquefasciatus* (Say.), *Asian Pac J Trop Dis*; 3(4), pp. 271-276
- Trongtokit Y., Rongsriyam Y., Komalamisra N., Apiwathnasorn C., (2005), Comparative Repellency Of 38 Essential Oils Against Mosquito Bites, *Phytother Res*, 19, pp. 303-309.