

PENENTUAN PELARUT TERBAIK DALAM MENGEKSTRAKSI SENYAWA BIOAKTIF DARI KULIT BATANG *Artocarpus heterophyllus*

Muhammad Nurdin Al-Ash'ary*, F. M Titin Supriyanti, Zackiyah

Jurusan Pendidikan Kimia, FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia

* email: octa_grint@yahoo.co.id

ABSTRAK

Perbedaan warna kulit manusia disebabkan oleh perbedaan kandungan melanin dalam tubuh. Proses pembentukan melanin ini melibatkan tirosinase dan apabila pembentukan melanin berjalan tidak normal, maka akan menyebabkan hiperpigmentasi. Untuk mencegah hal tersebut diperlukan inhibitor tirosinase. Inhibitor ini diperoleh dengan cara mengekstrak kulit batang *Artocarpus heterophyllus* melalui teknik maserasi dengan pelarut metanol yang kemudian difraksinasi menggunakan pelarut n-butanol dan aseton. Hal ini dimaksudkan untuk memperoleh pelarut terbaik dalam memperoleh ekstrak terbanyak dan berpotensi sebagai inhibitor tirosinase. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa aseton mampu mengekstraksi senyawa kimia dalam ekstrak metanol lebih banyak dibandingkan dengan n-butanol. Sementara untuk mengetahui daya inhibisi terhadap tirosinase dari kedua fraksi dapat dibuktikan dengan menggunakan spektrofotometer visible. Adapun hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi aseton memiliki daya inhibisi paling tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya. Persen inhibisi yang dicapai oleh fraksi aseton sebesar 95,91% dengan IC₅₀ sebesar 5,57 µg/mL. Hal ini berarti aseton selain mampu mengekstrak senyawa kimia dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* lebih banyak, tetapi juga memiliki daya inhibisi terhadap tirosinase lebih tinggi dibandingkan dengan n-butanol.

Kata Kunci: Tyrosinase, melanin, inhibitor, *Artocarpus heterophyllus*.

PENDAHULUAN

Kulit merupakan bagian terluar dari tubuh manusia. Warna kulit setiap manusia berbeda-beda ada yang terang, kuning langsung, sawo matang, coklat, dan hitam. Perbedaan warna kulit ini disebabkan karena adanya perbedaan kandungan melanin dalam tubuh. Melanin merupakan suatu pigmen penentu utama pada warna kulit. Melanin disintesis dari L-tirosin dengan bantuan tirosinase, yaitu suatu biokatalis yang terdapat pada mikroorganisme, tumbuhan, hewan, dan juga manusia. Proses pembentukan melanin ini disebut dengan pigmentasi. Pigmentasi pada keadaan tidak normal mengakibatkan kandungan melanin pada kulit tidak tersebar secara merata yang disebut dengan hiperpigmentasi¹⁾. Ada beberapa faktor yang menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi, diantaranya adalah penggunaan obat-obatan, penggunaan kosmetik yang tidak aman, atau penyerapan sinar ultraviolet (UV) yang berasal dari cahaya matahari.

Untuk mencegah terjadinya hiperpigmentasi, maka produksi melanin harus dihambat dengan menggunakan suatu bahan penghambat atau inhibitor. Inhibitor ini akan menghambat aktivitas tirosinase dan menekan produksi melanin pada kulit. Banyak bahan kimia yang mampu berperan sebagai inhibitor tirosinase, diantaranya hidrokuinon, asam kojik,

dan benzaldehid-o-alkiloksim. Bahan-bahan kimia tersebut telah digunakan sebagai bahan kosmetik atau obat-obatan yang berhubungan dengan kulit. Namun, semuanya memiliki dampak yang kurang baik bagi kulit seperti hidrokuinon menyebabkan iritasi kulit, kulit memerah, panas, dan gatal, sementara itu asam kojik selain menyebabkan iritasi pada kulit, juga bersifat karsinogenik. Oleh sebab itu, perlu ditelusuri bahan-bahan alam yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase dan aman bagi kesehatan. Para peneliti berupaya untuk memperoleh senyawa inhibitor tirosinase dari alam dan meminimalisasi dampak negatif yang ditimbulkan.

Keanekaragaman hayati yang dimiliki oleh Indonesia dapat dimanfaatkan dalam memperoleh senyawa inhibitor tirosinase. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai inhibitor adalah *Artocarpus heterophyllus* (nangka). Tanaman ini mengandung senyawa fenol dari golongan flavonoid lebih banyak dibandingkan dengan senyawa non fenol dari golongan terpenoid dan steroid²⁾. Disamping itu, telah dilaporkan bahwa getah kayu tumbuhan *Artocarpus heterophyllus* mengandung senyawa yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase, senyawa tersebut adalah *artocarpone* merupakan suatu senyawa golongan flavonoid yang memiliki aktivitas inhibisi lebih besar dibandingkan *arbutin*, tetapi lebih lemah dari

*kojic acid*³⁾. Namun demikian penelitian ini terdapat hambatan yaitu sulitnya mengisolasi getah kayu pada tanaman *Artocarpus heterophyllus*, sehingga hal ini mempengaruhi hasil perolehan senyawa inhibitor tirosinase pada saat proses ekstraksi. Berdasarkan alasan tersebut perlu adanya alternatif lain untuk mendapatkan senyawa inhibitor tirosinase secara maksimal.

Rustianingsih, 2007 melakukan penelitian terhadap kulit batang *Artocarpus* (nangka-nangkaan) untuk diteliti bioaktivitasnya sebagai inhibitor tirosinase. Jenis *Artocarpus* yang digunakan adalah *Artocarpus heterophyllus* (nangka), *Artocarpus altilis* (sukun), dan *Artocarpus communis* (kluwih). Hasil Ketiga spesies *Artocarpus* diekstraksi dengan menggunakan metanol dan diuji aktivitas inhibisinya terhadap tirosinase. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang *Artocarpus heterophyllus* memiliki daya inhibisi terkuat dibandingkan dengan spesies *Artocarpus* lainnya. Dari hasil penelitian Rustianingsih tersebut memberikan suatu dasar pemikiran bahwa kulit batang *Artocarpus heterophyllus* yang diekstraksi dengan metanol dapat menghambat aktivitas tirosinase lebih baik dibandingkan dengan tanaman *Artocarpus* lainnya⁴⁾.

Namun demikian, penelitian untuk mencari inhibitor tirosinase yang lebih efektif harus terus dilakukan. Berdasarkan hasil-hasil penelitian di atas maka perlu dilakukan penelitian lanjutan untuk mengetahui jenis pelarut organik lain yang dapat mengekstrak inhibitor tirosinase lebih baik dari pelarut metanol.

Aditya Rakhmawan, 2008, melakukan penelitian mengenai optimalisasi pelarut dalam mengekstraksi senyawa inhibitor tirosinase dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus*. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah heksana dan diklorometan. Adapun hasil yang diperoleh menyebutkan bahwa diklorometan dapat mengekstraksi senyawa kimia dari ekstrak metanol hasil maserasi kulit batang *Artocarpus heterophyllus* lebih banyak dibandingkan pelarut heksana. Namun ketika diuji aktivitasnya terhadap tirosinase, fraksi diklorometan memiliki daya inhibisi yang lebih rendah dibandingkan dengan fraksi metanol sisa, yaitu fraksi sisa hasil ekstraksi dengan menggunakan diklorometan⁵⁾. Sehingga dapat disimpulkan bahwa pelarut yang digunakan masih belum optimal dalam mengekstraksi senyawa inhibitor

tirosinase dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus*.

Berdasarkan latar belakang tersebut masalah yang diperoleh ternyata terdapat pada jenis pelarut yang digunakan maka dalam penelitian ini akan digunakan pelarut dengan tingkat kepolaran yang berbeda, hal ini dimaksudkan untuk memperoleh senyawa inhibitor tirosinase secara optimal dan memiliki daya inhibisi paling tinggi terhadap tirosinase. Adapun pelarut tersebut adalah n-butanol dan aseton.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat yang diperlukan dalam penelitian ini, antara lain labu maserasi, termometer, box stereofom, neraca analitik 4 digit, *grinder*, *rotary evaporator*, dan beberapa peralatan gelas, seperti: batang pengaduk, pipet mikro, corong *Buchner*, spatula, gelas kimia, gelas ukur, labu ukur, labu Erlenmeyer berpenghisap, seperangkat alat ekstraksi berupa dua buah corong pisah kecil, serta labu dasar bulat. Sementara alat yang digunakan untuk keperluan analisis adalah *ependorf microcentrifuge tube*, *water bath*, serta spektrofotometer UV-Vis yang terdapat di Laboratorium instrumen jurusan pendidikan kimia, FPMIPA UPI.

Bahan

Bahan yang diperlukan untuk digunakan dalam penelitian, antara lain kulit batang *Artocarpus heterophyllus* (nangka), natriumdihidrogenfosfat dan dinatriumhidrogenfosfat untuk pembuatan larutan buffer fosfat pH 6,5, dimetilsulfoksida (DMSO), aquades, larutan L-tirosin 0,03%, dan larutan tirosinase. Beberapa pelarut organik yang digunakan adalah aseton, metanol, dan n-butanol.

Persiapan Bahan

a. Pembuatan Buffer Fosfat

Pembuatan buffer fosfat dilakukan dengan melarutkan sebanyak 1,788 g $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ke dalam 100 mL aquades, kemudian sebanyak 0,560 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ juga dilarutkan ke dalam 100 mL aquades. Kedua larutan tersebut dicampurkan masing-masing sebanyak 50 mL, sehingga didapatkan 100 mL larutan buffer fosfat dengan pH 6,5.

b. Pembuatan Tirosin dan Tirosinase

Larutan tirosin 0,03 % dibuat dengan cara melarutkan L-tirosin sebanyak 3 mg ke dalam 10 mL aquades. Sementara larutan tirosinase dibuat dengan cara melarutkan serbuk tirosinase ke dalam larutan buffer pH 6,5. Larutan ini dibuat dalam keadaan segar.

Persiapan Sampel

Sampel kulit batang *Artocarpus heterophyllus* diambil dari daerah Indramayu Kab. Indramayu yang kemudian dideterminasi di Sekolah Ilmu Tinggi Hayati (SITH) ITB Bandung untuk penentuan spesies tanaman.

Kulit batang *Artocarpus heterophyllus* yang akan digunakan dibersihkan terlebih dahulu dari tanah dan lumut. Kemudian dikeringkan dan dihaluskan atau digiling sampai berbentuk serbuk. Proses penggilingan dilakukan di Balai Selulosa, Bandung.

Pembuatan Larutan Sampel

Larutan sampel (inhibitor) yang digunakan untuk uji aktivitas inhibisi tirosinase dari setiap fraksi dibuat dengan konsentrasi 300 µg/mL yang terlarut dalam DMSO. Sementara untuk penentuan IC₅₀ larutan sampel dibuat dengan konsentrasi 10 µg/mL, 50 µg/mL, dan 100 µg/mL dimana larutan tirosin (substrat) yang digunakan dibuat tetap yaitu 0,03 %.

Proses Ekstraksi

Serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus* ditimbang sebanyak 1 kg kemudian diekstraksi dengan metode maserasi yang dilakukan selama 2 x 24 jam dengan menggunakan pelarut metanol. Ekstrak cair dari hasil maserasi disaring dengan menggunakan corong *Buchner* kemudian filtratnya diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental metanol.

Proses Fraksinasi

Ekstrak kental metanol dari hasil maserasi ditimbang kemudian dilarutkan dalam

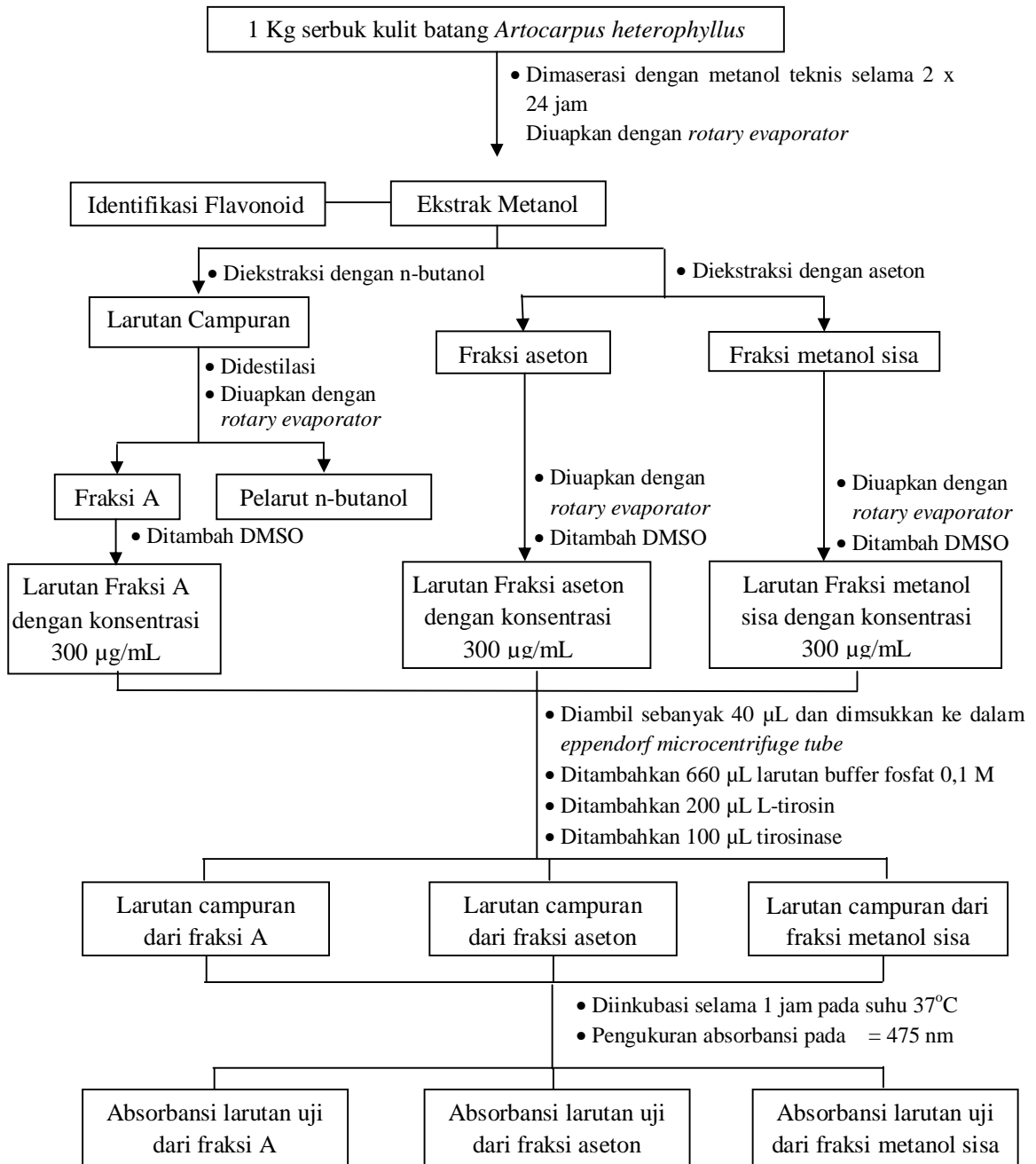
metanol kemudian ditambahkan dengan n-butanol. larutan campuran yang diperoleh didestilasi dengan menggunakan destilasi sederhana hingga diperoleh destilat dan residu. Residu yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kentalnya yang merupakan fraksi A.

Untuk memperoleh fraksi aseton, ekstrak kental metanol dari hasil maserasi ditimbang kemudian diekstraksi dengan menggunakan aseton sebanyak dua kali. Larutan aseton yang diperoleh diuapkan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Hasil akhir dari proses ini adalah fraksi aseton dan fraksi metanol sisa (sisa dari hasil ekstraksi dengan pelarut aseton). Ekstrak kental dari masing-masing fraksi ditimbang hingga diperoleh massanya.

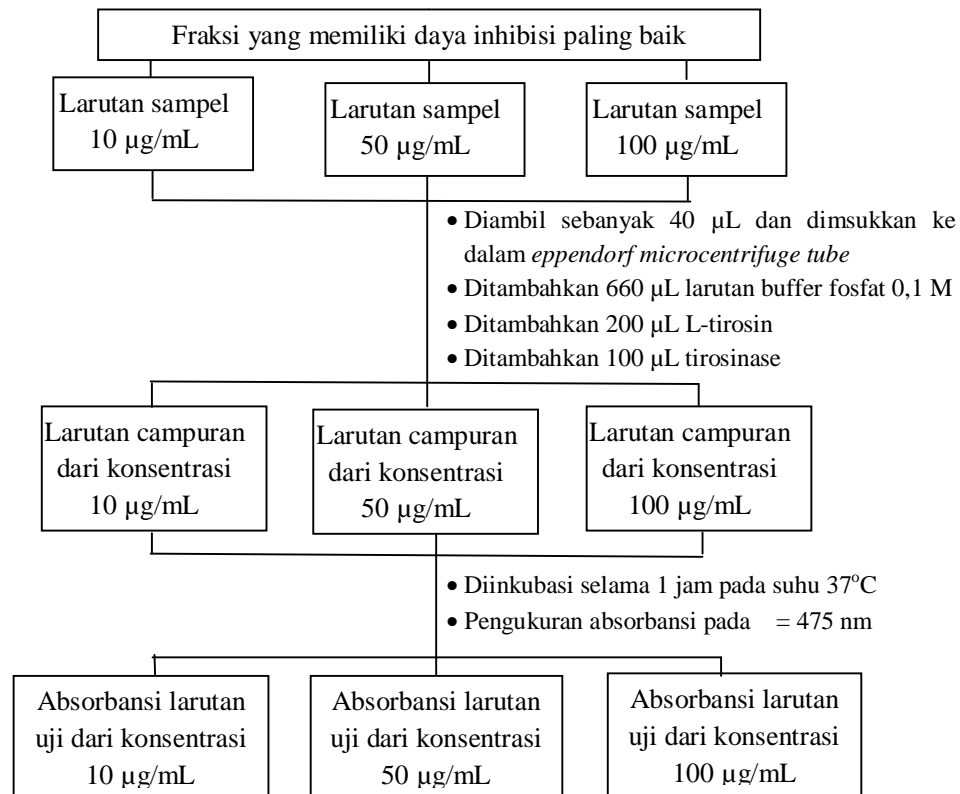
Pengujian Aktivitas Inhibisi Tirosinase dan Penentuan IC₅₀

Pada tahap pengujian ini dilakukan dengan menggunakan metode menurut Mitsuo Miyazawa dan Naotaka Tamura, 2007, dengan sedikit modifikasi. Sebanyak 660 µL larutan buffer fosfat pH 6,5, 40 µL larutan sampel, 200 µL L-tirosin, dan 100 µL larutan tirosinase dimasukkan ke dalam *eppendorf microcentrifuge tube*, kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Aktifitas inhibisi tirosinase ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan sampel menggunakan spektrofotometer visible dengan panjang gelombang 475 nm. Absorbansi yang diperoleh diubah dalam bentuk persen inhibisi dengan menggunakan rumus $[(A-B) / A] \times 100\%$ ⁶.

Untuk menentukan IC₅₀ dibuat grafik hubungan antara konsentrasi inhibitor terhadap persen inhibisi, kemudian dibuat persamaan regresi dari grafik tersebut dan dihitung IC₅₀-nya. Bagan alir penelitian dapat dilihat pada Gambar 1 dan Gambar 2.



Gambar 1. Bagan Alir Tahap Pengujian Aktivitas Inhibisi Tirosinase



Gambar 2. Bagan Alir Tahap Penentuan IC₅₀

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Kulit Batang *Artocarpus heterophyllus*

Berdasarkan bagan alir pada Gambar 1, berawal dari sebanyak 1 kg serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus* dimaserasi dengan pelarut metanol. Pelarut ini diduga sifatnya yang mampu melarutkan hampir semua komponen, baik yang bersifat polar, semi polar, maupun non polar⁷⁾. Ekstrak hasil maserasi dipisahkan dari padatnya menggunakan corong *Buchner*. Kemudian filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental dengan berat konstan. Dari hasil penguapan tersebut diperoleh massa total ekstrak kental sebanyak 35,9 g yang berarti komponen senyawa kimia yang terekstrak dalam

pelarut metanol sebanyak 3,59 % dari massa awal.

Hasil Penentuan Kuantitas Senyawa Kimia dari Setiap Fraksi

Setelah diperoleh ekstrak kental metanol dari hasil maserasi, tahap yang dilakukan selanjutnya adalah fraksinasi dengan menggunakan pelarut organik yang memiliki kepolaran berbeda, yaitu n-butanol dan aseton.

Tahap awal yang dilakukan dalam proses fraksinasi ini adalah melarutkan 3,065 gram ekstrak kental metanol hasil maserasi dengan menggunakan pelarut metanol. Campuran diekstraksi menggunakan pelarut n-butanol dan dipisahkan dengan corong pisah. Diharapkan dalam corong pisah terbentuk dua lapisan yang menunjukkan terjadinya pemisahan. Namun dalam penelitian setelah diekstraksi larutan tetap homogen dan tidak ada tanda-tanda yang menunjukkan terjadinya pemisahan. Oleh

karenanya ditambahkan aquades ke dalam corong pisah agar metanol larut dalam aquades dan terpisah dari pelarut n-butanol, namun yang terjadi larutan tetap homogen. Hal ini diduga karena sifat kepolaran antara metanol dan n-butanol hampir sama. Diketahui n-butanol memiliki momen dipol sebesar 1,52 Debye dan metanol memiliki momen dipol sebesar 1,69 Debye (Wikipedia, 2007). Perbedaan momen dipol ke dua pelarut cukup dekat sehingga dimungkinkan sifat kepolarannya pun hampir sama mengakibatkan metanol dan n-butanol dapat larut dalam air dan pemisahan pun tidak terjadi pada saat proses ekstraksi.

Untuk memisahkan metanol dari n-butanol dilakukan teknik destilasi. Perbedaan titik didih kedua pelarut cukup besar sehingga jenis destilasi yang digunakan adalah destilasi sederhana. Diketahui bahwa titik didih metanol sebesar 64,7°C dan n-butanol sebesar 117,73°C (Wikipedia, 2007). Melalui proses destilasi metanol akan menguap terlebih dahulu dibandingkan dengan n-butanol sehingga destilat yang diperoleh merupakan metanol yang tak berwarna sementara residunya merupakan larutan butanol berwarna coklat pekat. Larutan tersebut diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh pelarut n-butanol dan ekstrak kental dari fraksi A berwarna coklat pekat. Massa total yang terekstrak dari fraksi A sebesar 2,322 gram dari massa awal dengan persentase zat yang terekstrak sebesar 75,76%.

Sebanyak 3,471 gram ekstrak kental metanol hasil maserasi diekstrak dengan menggunakan aseton. Proses ekstraksi ini dilakukan sebanyak dua kali dan diperoleh hasil ekstraksi berupa larutan aseton yang berwarna coklat pekat dan ekstrak kental metanol sisa berwarna coklat muda.

Larutan aseton diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental yang berwarna coklat pekat. Massa total yang terekstrak dari fraksi aseton sebesar 2,811 gram dari massa awal dengan persentase zat yang terekstrak sebesar 80,98%. Sementara massa ekstrak kental dari fraksi metanol sisa sebesar 0,074 gram dan diduga dalam fraksi metanol sisa ini masih mengandung senyawa kimia sebanyak 2,13%. Adapun data sampel hasil ekstraksi dari setiap fraksi dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Data Sampel Hasil Ekstraksi dari Setiap Fraksi

Fraksi Sampel	Massa Terekstrak (g)	Persentase Zat Terekstrak (%)
Fraksi A	2,322	75,76
Fraksi Aseton	2,811	80,98
Fraksi	0,074	2,13
Metanol Sisa		

Berdasarkan data pada Tabel 1 bahwa pelarut yang paling banyak mengekstrak senyawa kimia dalam ekstrak metanol hasil maserasi kulit batang *Artocarpus heterophyllus* adalah fraksi aseton. Perolehan senyawa kimia ini didasarkan pada kesamaan sifat kepolaran terhadap pelarut yang digunakan. Pelarut polar akan melarutkan solut yang polar dan pelarut non polar akan melarutkan solut yang non polar atau disebut dengan *like dissolve like*⁸⁾. Telah disebutkan bahwa n-butanol memiliki momen dipol sebesar 1,56 Debye yang sifatnya lebih non polar jika dibandingkan dengan aseton dan metanol. Sementara aseton memiliki momen dipol sebesar 2,91 Debye yang sifatnya lebih polar jika dibandingkan dengan metanol dan n-butanol. Sehingga dapat disimpulkan banyaknya senyawa kimia yang terekstrak dalam fraksi aseton menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki sifat kepolaran yang sama dengan aseton.

Dalam perolehan ekstrak kental pada setiap fraksi, fraksi aseton memiliki warna coklat yang lebih pekat dibandingkan dengan ekstrak kental pada fraksi A. Hal ini menjelaskan bahwa zat yang terekstrak pada fraksi aseton lebih banyak dibandingkan dengan fraksi A. Sementara warna ekstrak kental yang dimiliki metanol sisa adalah coklat muda yang menandakan bahwa zat yang terdapat pada fraksi ini telah terekstrak sebagian oleh pelarut sebelumnya, yaitu aseton. Banyaknya zat yang terekstrak dari setiap fraksi dapat dibuktikan dari persentase zat yang terekstrak pada Tabel 1. Disamping itu, zat yang terekstrak dalam setiap fraksi diperkirakan mengandung senyawa bioaktif yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase.

Hasil Penentuan Aktivitas Inhibitor Tirosinase dari Setiap Fraksi

Fraksinasi dari ekstrak metanol hasil maserasi kulit batang *Artocarpus heterophyllus* diperoleh tiga fraksi, yaitu fraksi butanol, fraksi aseton, dan fraksi metanol sisa. Dari masing-masing fraksi diuji aktivitas inhibisinya terhadap tirosinase.

Proses pengujian aktivitas inhibisi ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer visible dengan panjang gelombang 475 nm. Digunakannya spektrofotometer visible karena pengujian dengan metode ini berdasarkan penyerapan sinar tampak (visible) terhadap suatu larutan berwarna. Reaksi yang terjadi antara tirosin dan tirosinase menghasilkan senyawa dopakrom, yaitu senyawa yang berwarna coklat. Dengan munculnya warna coklat pada reaksi tersebut maka pengujian pun dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer visible.

Banyaknya senyawa dopakrom yang dihasilkan dari reaksi tirosin-tirosinase dapat diprediksi dari intensitas warna coklat yang dihasilkan. Selain itu, jika reaksi tirosin-tirosinase ini melibatkan inhibitor maka aktivitas inhibisinya pun dapat diprediksi melalui cara ini. Semakin tinggi intensitas warna coklat yang dihasilkan maka aktivitas inhibisi dari suatu inhibitor terhadap tirosinase pun akan semakin rendah dan senyawa dopakrom yang dihasilkan akan semakin meningkat. Begitu juga dengan sebaliknya, semakin rendah intensitas warna coklat yang dihasilkan maka aktivitas inhibisi dari suatu inhibitor terhadap tirosinase akan semakin tinggi dan senyawa dopakrom yang dihasilkan akan semakin sedikit.

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya bahwa proses penentuan aktivitas inhibitor ini dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer visible, namun sebelum dilakukan pengujian dengan menggunakan spektrofotometer, larutan uji diinkubasi terlebih dahulu pada suhu 37°C selama satu jam. Hal ini dimaksudkan agar reaksi berlangsung secara optimum karena suhu 37°C adalah suhu optimum dari tirosinase. Proses pengujian dilakukan di setiap fraksi dengan konsentrasi masing-masing fraksi sebesar 300 µg/mL, sementara konsentrasi tirosin dan tirosinase dibuat tetap. Adapun hasil pengujian untuk setiap fraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas dari Setiap Fraksi pada Konsentrasi 300 µg/mL

No	Sampel	Persen Inhibisi (%)
1	Reaksi Positif	0,00
2	Fraksi A	49,17
3	Fraksi Metanol Sisa	79,92
4	Fraksi Aseton	95,91

Dari ketiga fraksi yang diuji terlihat bahwa pada konsentrasi yang sama fraksi aseton memiliki daya inhibisi lebih baik daripada fraksi A dan fraksi metanol sisa. Berdasarkan data pada Tabel 2 dengan konsentrasi sampel 300 µg/mL, fraksi A memiliki persen inhibisi sebesar 49,17%, fraksi metanol sisa memiliki persen inhibisi sebesar 79,92%, dan fraksi aseton memiliki persen inhibisi sebesar 95,91%. Persen inhibisi fraksi aseton jauh lebih besar dibandingkan dengan fraksi A dan metanol sisa. Hal ini berarti fraksi aseton mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat tirosinase lebih baik daripada fraksi A dan fraksi metanol sisa sehingga lebih efektif dalam menghambat pembentukan dopakrom. Adanya senyawa bioaktif pada fraksi aseton menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki sifat kepolaran yang relatif sama dengan aseton. Sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa bioaktif yang berperan sebagai inhibitor tirosinase dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* dapat terektrak baik jika menggunakan pelarut aseton.

Penentuan IC₅₀ pada Fraksi Aseton dalam Menghambat Tirosinase

Setelah diketahui bahwa fraksi aseton memiliki kemampuan inhibisi tirosinase paling baik maka langkah yang dilakukan selanjutnya adalah menentukan IC₅₀ dari fraksi tersebut. IC₅₀ atau 50% *Inhibitor Concentration* adalah konsentrasi dari inhibitor yang dapat menghambat aktivitas enzim sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ dari suatu inhibitor maka semakin kuat inhibitor tersebut dalam menghambat aktivitas suatu enzim⁹⁾. IC₅₀ ini diperlukan untuk mengetahui keefektifan inhibitor dalam menghambat aktivitas enzim dalam menghasilkan suatu produk. Dengan diketahuinya nilai IC₅₀ maka produk yang dihasilkan dapat dikendalikan sesuai yang diharapkan, misalnya pada proses depigmentasi. Pada proses ini produk melanin yang diharapkan berjumlah sedikit maka hal yang perlu dilakukan

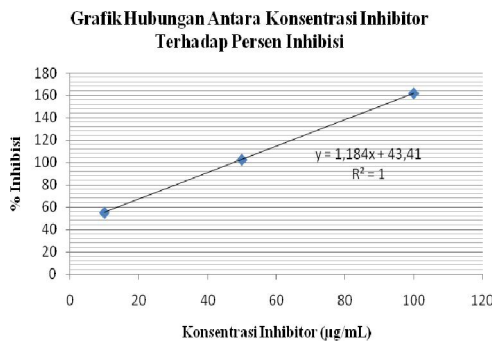
adalah penambahan inhibitor untuk menginhibisi aktivitas tirosinase pada reaksi tirosin-tirosinase. Dengan diketahuinya nilai IC_{50} maka aktivitas tirosinase akan diinhibisi sebanyak 50% oleh inhibitor sehingga produk melanin yang dihasilkannya pun akan berkurang sebanyak 50%.

Untuk memperoleh nilai IC_{50} dari fraksi aseton dilakukan pengujian inhibisi pada beberapa konsentrasi, yaitu 10 $\mu\text{g/mL}$, 50 $\mu\text{g/mL}$, dan 100 $\mu\text{g/mL}$ dimana konsentrasi tirosinase dan substrat (tirosin) dibuat tetap. Adapun hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Larutan Sampel Inhibitor dari Fraksi Aseton

Konsentrasi Inhibitor ($\mu\text{g/mL}$)	Persen Inhibisi (%)
10	55,26
50	102,63
100	161,85

Data pada Tabel 3 diubah dalam bentuk grafik hubungan antara konsentrasi inhibitor terhadap persen inhibisi. Grafik tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Grafik Hubungan Antara Konsentrasi Inhibitor dan Persen Inhibisi

Untuk mempermudah dalam menentukan nilai IC_{50} dalam sampel maka dibuatlah persamaan regresi dari kurva yang dihasilkan. Adapun persamaan regresi yang diperoleh adalah $y = 1,184x + 43,41$ dari persamaan tersebut maka didapat nilai IC_{50} dari fraksi aseton sebesar 5,57 $\mu\text{g/mL}$.

Diketahuinya nilai IC_{50} pada fraksi aseton sebesar 5,57 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan bahwa senyawa bioaktif dalam fraksi aseton memiliki daya inhibisi yang kuat terhadap tirosinase dan

kemampuan inhibisinya lebih kuat dibandingkan dengan asam kojik yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 71,6 μM atau 10,17 $\mu\text{g/mL}$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah diperoleh maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Pelarut terbaik yang dapat mengekstraksi senyawa bioaktif yang berperan sebagai inhibitor tirosinase adalah aseton.
2. Fraksi aseton memiliki daya inhibisi tirosinase paling efektif dengan nilai IC_{50} sebesar 5,57 $\mu\text{g/mL}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Ohguchi, Kenji, *et al.* (2008). "Inhibitory Effect of Whisky Congeners on Melanogenesis in Mouse B16 Melanoma Cells". *Biosci. Biotechnol. Biochem*, **72** (4), 1107-1110.
- Hano, S, Nomura, T, dan Aida M. (1998). "Isoprenoid Substituted Flavonoids from *Artocarpus* Plant (Moraceae)". *Heterocycles*, **47** (2), p 1179-1205.
- Arung, E.T., Kuniyoshi Shimizu, dan Ryuichiro Kondo. (2006). "Inhibitory Effect of Artocarpone from *Artocarpus heterophyllus* on Melanin Biosynthesis". *Biol. Pharm. Bull.* **29** (9) 1966-1969.
- Rustianingsih. (2007). *Studi Pemanfaatan Senyawa Bioaktif dari Kulit Batang Nangka-Nangkaan (*Artocarpus sp*) Sebagai Inhibitor Tirosinase*. Skripsi Sarjana pada FPMIPA UPI, Bandung: tidak diterbitkan.
- Rakhmawan, Aditya. (2008). *Studi Penelusuran Fraksi Terbaik Sebagai Inhibitor Tirosinase dari Kulit Batang *Artocarpus heterophyllus**. Skripsi Sarjana pada FPMIPA UPI, Bandung: tidak diterbitkan.
- Miyazawa, Mitsuo dan Naotaka Tamura. (2007). "Inhibitory Compound of Tyrosinase Activity from the Sprout of *Polygonum hydropiper L.* (Benitade)". *Biology Pharmaceutical Bulletin*. **30** (3) 595-597.

Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Cetakan II, Diterjemahkan oleh K, Padinawinata dan I, Soediro. Bandung: Penerbit ITB.

Widjanarko, Simon B. (2008). *Ekstraksi Pigmen Bahan Nabati*. [Online]. Tersedia:
<http://simonbidjanarko.wordpress.com/2>

[008/06/30/ekstraksi-pigmen-bahan-nabati-by-simon-bw/](http://www.mail-archive.com/dokter_umum@yahoogroups.com/msg05393.html) [21 Maret 2009].

Kurniawati, Lely. (2008). *Obat Alami Sarang Semut*. [Online]. Tersedia:
http://www.mail-archive.com/dokter_umum@yahoogroups.com/msg05393.html [16 Juli 2009]

].