

PENENTUAN AKTIVITAS DAN JENIS INHIBISI EKSTRAK METANOL KULIT BATANG *Artocarpus heterophyllus* LAMK SEBAGAI INHIBITOR TIROSINASE

Wisda Seviana Putri*, F. M Titin Supriyanti, Zackiyah

Jurusan Pendidikan Kimia, FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia

Telp/fax : 022-2000579

* email : wisdaputri@yahoo.com

ABSTRAK

Tirosinase merupakan enzim yang terlibat dalam proses biosintesis melanin pada kulit manusia. Enzim ini mengkatalisis tiga macam reaksi yaitu hidroksilasi L-Tirosin menjadi L-DOPA dan oksidasi L-DOPA menjadi dopakuinon dan oksidasi 5,6 Dihidroksiindol menjadi Indol-5,6 Kuinon yang selanjutnya membentuk melanin (pigmen kecoklatan). Pada penelitian ini, dikaji mengenai pengaruh ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllus* yang berperan sebagai inhibitor reaksi tirosin-tirosinase. Kajian difokuskan pada aktivitas ekstrak metanol yang ditunjukkan dari data nilai IC_{50} , sedangkan jenis inhibisi dapat ditentukan melalui hasil analisis kurva Lineweaver-Burk reaksi tirosin-tirosinase yang melibatkan variasi konsentrasi inhibitor. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol tersebut memiliki aktivitas inhibisi (IC_{50}) pada konsentrasi ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllus* sebesar 103,29 $\mu\text{g/mL}$. Hasil analisis terhadap kurva Lineweaver-Burk menunjukkan nilai $K_M = 0,027 \mu\text{g}$; $K_I = 0,053 \mu\text{g}$ pada konsentrasi inhibitor 150 $\mu\text{g/mL}$; $K_I = 0,081 \mu\text{g}$ pada konsentrasi inhibitor 300 $\mu\text{g/mL}$ dan $V_{maks} = 0,00625 \mu\text{g/min}$. Dari data-data tersebut, diketahui bahwa ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllus* dapat menginhibisi reaksi tirosin-tirosinase secara *reversible* dengan jenis inhibisi *competitive*.

Kata kunci : *Artocarpus heterophyllus*, tirosinase, IC_{50} , jenis inhibisi

PENDAHULUAN

Melanin merupakan pigmen kecoklatan yang dapat melindungi jaringan kulit dari hamburan sinar uv. Proses pembentukan melanin pada manusia terjadi dengan bantuan biokatalis (enzim) dan sinar uv cahaya matahari. Biokatalis yang berperan dalam reaksi pencoklatan ini adalah tirosinase. Peranan tirosinase adalah mempercepat terbentuknya melanin dari tirosin, bahkan bila produksi melanin berlebih dapat mengarah pada terjadinya penumpukkan melanin pada permukaan kulit (hiperpigmentasi). Reaksi pencoklatan oleh tirosinase dapat diinhibisi (dihambat) oleh suatu penghambat reaksi enzimatis berupa ion atau molekul yang disebut tirosinase. Beberapa inhibitor tirosinase, diantaranya *asam askorbat*, *arbutin*, *kojic acid*, merkuri dan *hidrokuinon*.¹⁾

Aplikasi inhibitor tirosinase telah banyak digunakan dalam kosmetik sebagai pencegah hiperpigmentasi. *Kojic acid* adalah inhibitor yang memiliki efek inhibisi dan kestabilan yang paling besar dalam suatu produk kosmetik. Namun, penggunaan *kojic acid* sebagai bahan pemutih mengandung resiko tinggi karena *kojic acid* bersifat karsinogenik.²⁾ Pemanfaatan senyawa merkuri dan hidrokuinon dalam kosmetik pun berbahaya.

Efektifitas senyawa merkuri dan senyawa hidrokuinon sebagai bahan pemutih yang tinggi, ternyata dapat menimbulkan efek toksik yang dapat membahayakan ginjal dan kulit, karena kedua senyawa tersebut juga bersifat karsinogenik.³⁾ Oleh karena itu, pencarian alternatif inhibitor tirosinase yang aman bagi kesehatan manusia perlu dilakukan, salahsatunya dengan mencari bahan aktif pemutih yang terdapat di alam dan berpotensi menjadi inhibitor tirosinase, misalnya pada tanaman nangka *Artocarpus heterophyllus* Lamk.

Artocarpus sp. adalah tanaman yang mampu menginhibisi reaksi tirosin-tirosinase. Dalam senyawa bioaktif ekstrak inti kayu *A. incisus*, yaitu *isoartocarpesin* diketahui mempunyai aktivitas inhibisi tirosinase yang sama kuat dengan *kojic acid*.⁴⁾ Demikian pula pada senyawa *artocarpanone* dari getah kayu tanaman *A. heterophyllus* berpotensi menjadi sumber inhibitor dalam reaksi tirosinase pada proses pencoklatan kulit.⁵⁾ Dalam Rustianingsih (2008), diketahui bahwa hasil ekstrak kulit batang *A. heterophyllus* mengandung senyawa inhibitor tirosinase dan memiliki daya inhibisi terkuat dibandingkan dengan *A. altilis* dan *A. communis*.

Pada penelitian Rahmawan (2008), diketahui bahwa untuk mendapatkan inhibitor tirosinase yang lebih efektif, dibutuhkan pelarut

yang cocok untuk mengekstrak kulit batang *A. heterophyllus*. Dari hasil penelitiannya, metanol merupakan pelarut yang paling baik mengekstrak kulit batang *A. heterophyllus* dibandingkan diklorometan dan n-heksan.

Pemanfaatan tanaman *A. heterophyllus* dalam menginhibisi tirosinase perlu diteliti lebih lanjut untuk menjaga efektifitas inhibisi dari senyawa bioaktif yang terkandung di dalam tanaman *A. heterophyllus*. Salah satunya mengenai jenis inhibisi dari senyawa bioaktif. Dengan mengetahui jenis inhibisi, maka dapat diketahui pula aktivitas inhibisi dari senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak metanol tanaman *A. heterophyllus* dalam menghambat reaksi tirosin-tirosinase sehingga akan sangat bermanfaat dalam upaya mencari agen penghambat pencoklatan kulit yang potensial.

METODE PENELITIAN

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain neraca analitik, set alat maserasi, *rotary evaporator*, pHmeter, *freezer*, pipet mikro, *ependorf microcentrifuge tube*, *autoclave*, *waterbath*, termometer, *stopwatch*, spatula, botol semprot, penyangga dan berbagai peralatan gelas seperti gelas kimia, gelas ukur, kaca arloji, labu takar, batang pengaduk dan pipet tetes. Untuk keperluan analisis digunakan Spektrofotometer UV-VIS Mini Shimadzu 1240 yang terdapat di Laboratorium Instrumen Jurusan Pendidikan Kimia, FPMIPA UPI.

Bahan

Bahan yang digunakan selama penelitian ini meliputi serbuk kulit batang *A. heterophyllus*; metanol; larutan buffer fosfat 0,1 M (pH 6,5); larutan L-tirosin 0,03%; larutan L-tirosin 0,06%; larutan tirosinase (524,4 U/mL); DMSO dan aquades.

Kulit batang *A. Heterophyllus* yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari perkebunan warga di daerah Indramayu (Jawa Barat). Tirosinase dan L-tirosin yang digunakan berasal dari Sigma-aldrich.

Prosedur Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari beberapa tahap diantaranya adalah sebagai berikut:

- Tahap pertama: pengeringan dan penggilingan kulit batang *A. heterophyllus*.
- Tahap kedua: ekstraksi seluruh zat yang terdapat dalam serbuk kulit batang *A.*

heterophyllus dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol.

- Tahap ketiga: evaporasi seluruh zat yang telah dimaserasi menggunakan pelarut metanol hingga didapatkan ekstrak kental metanol.
- Tahap keempat: uji inhibisi tirosinase dengan ekstrak kental metanol kulit batang *A. heterophyllus* dibandingkan dengan blanko dan kontrol positif.
- Tahap kelima: analisis kinerja inhibisi hasil ekstraksi terhadap reaksi enzimatis tirosin-tirosinase dibandingkan dengan blanko dan kontrol positif. Perubahan intensitas warna hasil reaksi diukur melalui spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 475 nm. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi pembentukan produk (dopakrom). Dari pengukuran absorbansi ini maka dapat dihitung persentase aktivitas inhibisi tirosinase menurut metode Chang *et al* (2005) dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ inhibisi tirosinase} = [(A-B) / A] \times 100 \%$$

A adalah absorbansi larutan tanpa sampel atau kontrol positif (larutan buffer fosfat 0,1 M, Larutan L-tirosin, DMSO, larutan tirosinase) dan B adalah absorbansi dengan penambahan sampel (larutan buffer fosfat 0,1 M, larutan L-tirosin, larutan sampel, larutan tirosinase). Persentase aktivitas inhibisi tirosinase yang diperoleh digunakan untuk penentuan IC_{50} .

- Tahap keenam: penentuan mekanisme dan jenis inhibisi dari senyawa bioaktif ekstrak kulit batang *A. heterophyllus* dengan cara membuat kurva Lineweaver-Burk dari data inhibisi reaksi antara beragam konsentrasi L-tirosin dengan tirosinase yang diperoleh dan membandingkannya dengan kurva Lineweaver-Burk pada umumnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi karena metode ini merupakan metode yang mudah dilakukan dan menggunakan alat-alat sederhana, dimana sampel hanya perlu direndam dalam pelarut. Pelarut yang digunakan adalah metanol karena pelarut ini dapat melarutkan hampir semua senyawa organik yang ada pada sampel, baik senyawa polar maupun non polar. Pelarut metanol mudah menguap sehingga mudah dibebaskan dari ekstrak. Semua filtrat yang diperoleh dari hasil ekstraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator vacuum* sehingga diperoleh ekstrak kental metanol sebesar 35,9 gram

(3,59%) dari 1 kg serbuk kulit batang *A. heterophyllus*. Ekstrak kental metanol kulit batang *A. heterophyllus* yang diperoleh tidak berbau, berwujud padatan dan berwarna coklat pekat.

Untuk memperoleh hasil inhibisi yang efektif, karakterisasi kerja enzim seperti pH, temperatur, waktu inkubasi, tetapan Michaelis-Menten (K_M) dan laju maksimum (V_{maks}) harus diperhatikan karena kerja enzim sangat spesifik, sehingga perubahan sedikit saja pada kondisi kerjanya, akan mempengaruhi aktivitas enzim.⁶⁾

Pada penelitian ini, ditentukan data kinetika yang meliputi tetapan Michaelis-Menten (K_M) dan laju maksimum (V_{maks}) sedangkan kondisi optimum yang meliputi pH, temperatur dan waktu inkubasi merujuk pada metode Miyazawa & Tamura (2006).

Reaksi antara substrat L-tirosin dengan tirosinase menghasilkan produk (dopakrom) berupa melanin. Melanin dibentuk oleh melanosit dengan bantuan tirosinase. Sebagai akibat dari kerja tirosinase, tirosin mengalami transformasi menjadi 3,4 dihidroksiferil alanin (DOPA) dan kemudian menjadi dopaquinone. Setelah melalui beberapa tahapan transformasi, maka terbentuk melanin.⁷⁾ Proses pembentukan melanin oleh tirosinase ini dapat dihambat dengan adanya inhibitor. Adanya inhibitor akan mengurangi atau menghentikan aktivitas tirosinase dalam memproduksi melanin yang nantinya akan mempengaruhi terhadap warna kulit. Pada penelitian ini, pembentukan produk (dopakrom) oleh reaksi tirosin-tirosinase ditandai dengan terbentuknya warna coklat. Adanya inhibitor, menyebabkan reaksi tirosin-tirosinase berjalan lambat yang ditandai dengan penurunan intensitas warna coklat. Penentuan intensitas warna coklat ini, dilakukan dengan Spektrofotometer Visibel. Serapan yang diperoleh (absorbansi) digunakan untuk mengetahui seberapa besar aktivitas ekstrak metanol kulit batang *A. heterophyllus* dalam menghambat reaksi tirosin-tirosinase. Data persentase inhibisi dari ekstrak metanol kulit batang *A. heterophyllus* pada berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 1.

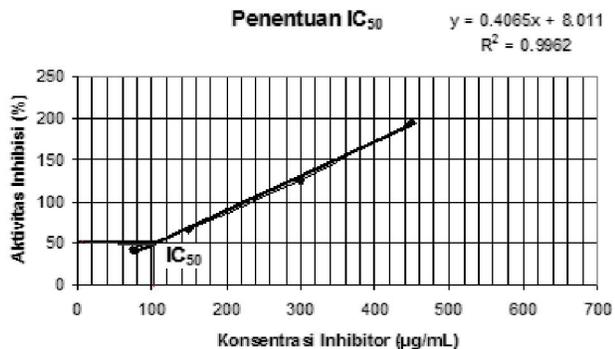
Pada Tabel 1 tersebut, aktivitas inhibisi dari ekstrak metanol kulit batang *A. Heterophyllus* ini dinyatakan dalam persentase inhibisi. Persentase inhibisi ini didapatkan dari perbedaan serapan antara absorbansi reaksi positif tirosin-tirosinase dengan absorbansi sampel yang diukur dengan Spektrofotometer Visibel. Dari data tersebut juga terlihat bahwa semakin besar konsentrasi inhibitor ditambahkan, proses pembentukan produk (dopakrom) semakin berkurang ditandai dengan persentase inhibisi yang semakin besar. Namun,

pada konsentrasi diatas 150 $\mu\text{g/mL}$, persentase inhibisi yang didapat lebih besar dari 100%. Hal itu, menunjukkan bahwa pada konsentrasi inhibitor diatas 150 $\mu\text{g/mL}$, peluang untuk membentuk kompleks antara tirosinase dengan inhibitor begitu besar. Inhibitor berhasil menghalangi terbentuknya kompleks ES dengan cara membentuk kompleks EI. Besarnya aktivitas inhibisi ditandai dengan nilai IC_{50} .

Tabel 1. Aktivitas Inhibisi Ekstrak Metanol Kulit Batang *A. Heterophyllus*

| Konsentrasi Inhibitor ($\mu\text{g/mL}$) | Persentase Inhibisi (%) |
|--|-------------------------|
| 0 | 0 |
| 75 | 42,045 |
| 150 | 67,044 |
| 300 | 125,001 |
| 450 | 194,319 |

IC_{50} merupakan konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 persen aktivitas tirosin-tirosinase. Untuk menentukan nilai IC_{50} , dibuat kurva hubungan antara konsentrasi inhibitor (ekstrak metanol kulit batang *A. heterophyllus*) terhadap persen inhibisi berdasarkan data yang tertulis pada Tabel 1, seperti yang terlihat pada Gambar 1 berikut ini.



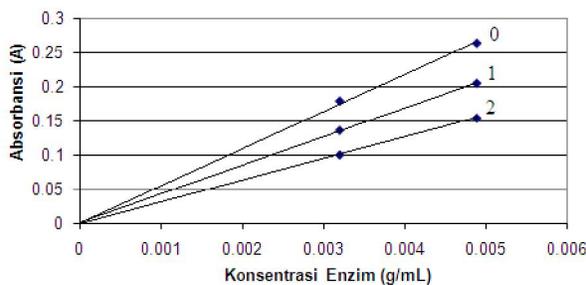
Gambar 1. Hubungan antara Konsentrasi Inhibitor (Ekstrak Metanol Kulit Batang *A. heterophyllus*) terhadap Persen Inhibisi

Besarnya nilai IC_{50} tersebut, diperoleh dengan cara memasukkan nilai 50% aktivitas inhibisi ke dalam persamaan garis regresi.¹⁾ Berdasarkan kurva tersebut, aktivitas inhibitor yang menghambat reaksi tirosin-tirosinase sebanyak

50% (IC_{50}) terjadi pada konsentrasi sebesar 103,29 $\mu\text{g/mL}$. Adanya penghambatan aktivitas enzim pada konsentrasi inhibitor yang rendah, menunjukkan bahwa ekstrak metanol kulit batang *A. heterophyllum* memiliki bioaktivitas sebagai inhibitor. Kelarutan senyawa bioaktif kulit batang *A. heterophyllum* dalam pelarutnya mempengaruhi aktivitas inhibitor. Dengan pencarian pelarut yang cocok, nilai IC_{50} yang diperoleh akan lebih rendah, terbukti dari penelitian yang dilakukan oleh Nurdin (2009). Dari hasil pengujian pada senyawa bioaktif ekstrak aseton kulit batang *A. heterophyllum* diperoleh informasi bahwa aktivitas inhibitor yang menghambat sebanyak 50% (IC_{50}) terjadi pada konsentrasi inhibitor 5,57 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak aseton diperoleh dengan cara fraksinasi *crude metanol*. Oleh karena itu, dapat dikatakan senyawa bioaktif yang terlarut dalam pelarut aseton memiliki efektifitas yang lebih tinggi dibandingkan senyawa bioaktif yang terdapat dalam ekstrak metanol. Hal itu menunjukkan bahwa kemurnian ekstrak kulit batang *A. heterophyllum* akan mempengaruhi aktivitas senyawa bioaktif dalam menghambat reaksi tirosin-tirosinase.

Proses inhibisi reaksi enzimatik terbagi ke dalam dua tipe yaitu inhibisi yang bersifat *reversible* dan inhibisi yang bersifat *irreversible*. Inhibisi *reversible* umumnya bersifat dapat balik yang berarti proses inhibisi dapat dikembalikan pada keadaan semula sebelum penambahan inhibitor dilakukan. Sedangkan inhibisi *irreversible* biasanya berlangsung dalam proses destruksi atau modifikasi suatu gugus fungsi dalam molekul enzim.⁸⁾ Untuk mempelajari jenis inhibisi yang terjadi pada reaksi tirosin-tirosinase, maka dapat dilihat dari kurva yang terdapat pada Gambar 2.

Penentuan Jenis Inhibisi

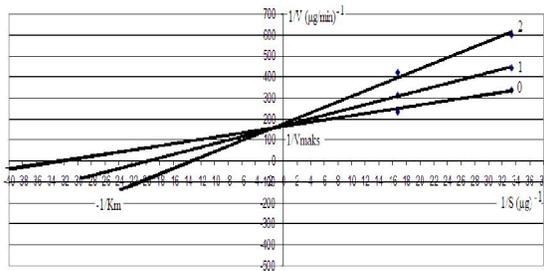


Gambar 2. Aktivitas Katalitik Tirosinase pada Berbagai Konsentrasi (0,032 g/mL dan 0,049 g/mL) dengan adanya Inhibitor dalam Berbagai Konsentrasi (Kurva 0 = tanpa inhibitor; kurva 1 = konsentrasi 150 $\mu\text{g/mL}$; kurva 2 = konsentrasi 300 $\mu\text{g/mL}$)

Gambar 2 menunjukkan aktivitas katalitik tirosinase pada berbagai konsentrasi dengan adanya inhibitor dalam berbagai konsentrasi. Dari gambar tersebut, terlihat bahwa adanya inhibitor, mempengaruhi aktivitas katalitik tirosinase. Semakin besar konsentrasi inhibitor, aktivitas tirosinase semakin menurun. Namun, tirosinase masih dapat memperlihatkan aktivitas katalitiknya saat aktivitas inhibitor berlangsung. Hal itu terlihat dari nilai absorbansi reaksi tersebut yang masih bisa teramati, walaupun aktivitas inhibisi sedang berlangsung. Adanya aktivitas tirosinase, menunjukkan bahwa tirosinase masih dapat berikatan dengan substrat (L-tirosin) yang tersisa walaupun harus bersaing dengan inhibitor untuk berikatan dengan substrat. Hal itu menunjukkan bahwa proses inhibisi yang terjadi dalam penelitian ini adalah inhibisi yang bersifat *reversible*.⁹⁾ Inhibisi *reversible* dapat berupa inhibisi *competitive*, *non competitive* dan *uncompetitive*. Pada penelitian ini, perlu adanya analisis lebih lanjut dari data absorbansi yang didapat untuk mengetahui jenis inhibisi yang lebih spesifik. Salah satunya dengan menentukan tetapan Michaelis-Menten (K_M) dan laju maksimumnya (V_{maks}). Dengan mengetahui nilai K_M dan V_{maks} sebelum dan sesudah adanya inhibitor, maka dapat dengan mudah mengetahui jenis inhibisi reversibel yang lebih spesifik karena setiap jenis inhibisi memiliki ciri khas terutama pada nilai K_M dan V_{maks} -nya.¹⁰⁾ Penentuan Harga K_M dan V_{maks} dipengaruhi oleh konsentrasi substrat. Semakin besar konsentrasi substrat, maka laju reaksi enzimatik akan semakin cepat hingga pada akhirnya akan tercapai titik batas. Jika titik batas telah dilampaui, maka laju reaksi hanya akan meningkat sedemikian kecil dengan bertambahnya konsentrasi substrat dan tidak akan pernah mencapai laju maksimum. Pada batas laju maksimum (V_{maks}), enzim menjadi jenuh oleh substrat, sehingga pada suatu saat penambahan konsentrasi substrat tidak memberikan pengaruh lagi terhadap laju reaksi.⁶⁾ Untuk menentukan K_M dan V_{maks} , terlebih dahulu harus ditentukan daerah konsentrasi substrat yang optimum.

Pengukuran yang didasarkan pada persamaan Michaelis-Menten, masih sangat sederhana. Nilai K_M dapat diperoleh dengan menggunakan prosedur kurva sederhana. Akan tetapi sulit untuk menentukan nilai V_{maks} dengan tepat dari kurva Michaelis-Menten, karena hanya berupa dugaan dan tidak pernah diketahui nilai sebenarnya. Nilai K_M dan V_{maks} pada saat sebelum dan sesudah adanya inhibitor yang lebih tepat, dapat diperoleh dengan memetakan data yang sama dengan cara yang berbeda, yaitu menggunakan persamaan Lineweaver-Burk yang merupakan kebalikan dari persamaan Michaelis-Menten.⁶⁾

Berdasarkan penelitian, diperoleh kurva Lineweaver-Burk seperti yang terlihat pada Gambar 3 berikut ini.



Gambar 3. Kurva Lineweaver-Burk aktivitas tirosinase terhadap L-Tirosin pada berbagai konsentrasi inhibitor (kurva 0 = tanpa inhibitor; kurva 1 = konsentrasi 150 µg/mL; kurva 2 = konsentrasi 300 µg/mL) pada suhu 37°C, pH 6,5 dan konsentrasi tirosinase sebesar $3,2 \times 10^{-9}$ µg/mL.

Berdasarkan hasil analisis pada Gambar 3 dapat diketahui nilai V_{maks} yang sama untuk setiap kurva sebesar 0,00625 µg/min, sedangkan nilai K_M yang diperoleh sebesar 0,027 µg untuk kurva tanpa inhibisi (kurva 0); 0,053 µg untuk nilai K_I pada saat konsentrasi inhibitor 150 µg /mL (kurva 1); 0,081 µg untuk nilai K_I pada saat konsentrasi inhibitor 300 µg /mL (kurva 2). Dari data dapat disimpulkan bahwa nilai konstanta disosiasi Michaelis-Menten (K_M) yang diberikan semakin meningkat dengan bertambahnya konsentrasi inhibitor (senyawa bioaktif ekstrak kulit batang *A. heterophyllum*), sedangkan nilai V_{maks} tidak mengalami perubahan. Nilai K_M merupakan nilai yang menunjukkan pada konsentrasi substrat berapa dihasilkan setengah kecepatan maksimum, sedangkan nilai V_{maks} menunjukkan kecepatan maksimum yang secara bertahap akan dicapai pada konsentrasi substrat yang tinggi.⁶⁾

Nilai K_M yang semakin meningkat dengan bertambahnya konsentrasi inhibitor dan nilai V_{maks} yang tidak mengalami perubahan menandakan bahwa tipe inhibisi yang ditunjukkan adalah inhibisi yang bersifat *competitive*.¹⁰⁾ Pada gambar juga terlihat bahwa proses inhibisi menurun dengan meningkatnya kadar substrat pada konsentrasi inhibitor tetap. Hal itu sesuai dengan ciri-ciri yang dimiliki oleh tipe inhibisi *competitive*. Oleh karena itu, berdasarkan reaksi tersebut dapat diketahui bahwa jenis inhibisi yang diberikan oleh ekstrak metanol kulit batang *A. heterophyllum* adalah *reversible* yang *competitive*. Data kinetika dan jenis inhibisi dari ekstrak metanol kulit batang *A. heterophyllum* dapat dilihat pada Tabel 2 berikut ini.

Tabel 2. Kinetika dan Konstanta Inhibisi Ekstrak Metanol Kulit Batang *A. heterophyllum*

| Konstanta | Ekstrak Kulit Batang <i>A. heterophyllum</i> |
|------------------------------------|--|
| IC ₅₀ | 103,29 µg/mL |
| K _M | 0,027 µg |
| V _{maks} | 0,00625 µg/min |
| Inhibisi | Reversible |
| Tipe Inhibisi | Competitive |
| K _I saat [I]= 150 µg/mL | 0,053 µg |
| K _I saat [I]= 300 µg/mL | 0,081 µg |

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian mengenai penentuan aktivitas dan jenis inhibisi ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllum* sebagai inhibitor tirosinase dapat ditarik kesimpulan bahwa:

- § Ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllum* memiliki efektifitas sebagai inhibitor pada reaksi tirosin-tirosinase, ditunjukkan dari nilai IC₅₀ yang diperoleh sebesar 103,29 µg/mL.
- § Ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllum* menunjukkan aktivitas inhibisi tirosinase dengan harga K_M (tetapan Michaelis-Menten) = 0,027 µg; K_I = 0,053 µg pada konsentrasi inhibitor 150 µg/mL; K_I = 0,081 µg pada konsentrasi inhibitor 300 µg/mL), sedangkan untuk harga V_{maks} (laju maksimum) tetap yaitu sebesar 0,00625 µg/min sehingga dapat dikatakan bahwa proses inhibisi yang terjadi pada reaksi tirosin-tirosinase adalah inhibisi *reversible* dengan jenis inhibisi *competitive*.

DAFTAR PUSTAKA

- You Jung Kim, Jae Kyung No, Ji Hyeon Lee, and Hae Young Chung. (2005). "4,4'-Dihydroxybiphenyl as a New Potent Tyrosinase Inhibitor". *Biol. Pharm. Bull.*, **28** (2), 323-327.
- Miyazawa, Mitsuo and Naotaka Tamura. (2006). "Inhibitory Compound of Tyrosinase Activity from the Sprout of *Polygonum*

- hydropiper* L. (Benitade)". *J. Biol. Pharm. Bull.*, **30** (3), 595-597.
- Andra. (2006). Solusi Baru untuk Hiperpigmentasi [Online]. Tersedia: <http://www.majalah-farmacia.com/default.asp>. [20 November 2008].
- Shimizu K., Kondo R., Sakai K., Lee SH., and Sato H. (1998). "The Inhibitory components from *Artocarpus Incisus* on Melanin Biosynthesis". *Planta Med.*, **64** (5), 408-412.
- Arung, E.T., Kuniyoshi Shimizu, and Ryuichiro Kondo. (2006). "Inhibitory Effect of Artocarpanone from *Artocarpus heterophyllus* on Melanin Biosynthesis". *J. Biol. Pharm. Bull.*, **29** (9), 1966-1969.
- Lehninger, A.L. 1982. (penerjemah Maggy Thenawijaya). *Dasar-dasar Biokimia* (jilid 1). Jakarta: Erlangga.
- Fitrie, A.A. (2004). *Histologi Dari Melanosit*. [Online]. Tersedia: <http://library.usu.ac.id/download/fk/histologi-alya2.pdf>. [23 September 2008]
- Wirahadikusumah, M. (1981). *Biokimia Proteina, Enzima & Asam Nukleat*. Bandung : ITB.
- Isao Kubo, Qing-Xi Chen, Ken-Ichi Nihei, José S. Calderon, and Carlos L.Céspedes. (2003). "Tyrosinase Inhibition Kinetics of Anisic Acid". *Z. Naturforsch.*, **58c**, 713-718.
- Iswari, R.S. dan Yuniastuti, A. (2006). *Biokimia*. Yogyakarta : Graha Ilmu