

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN INHIBISI ENZIM TIROSINASE EKSTRAK ETANOL BUAH GANDARIA (*Bouea macrophylla* Griff.) SECARA *IN VITRO*

Dhyneu Dwi Jayantie^{1,2*}, Yunahara Farida¹, Shelly Taurhesia¹

¹Fakultas Farmasi Universitas Pancasila, Jakarta, Indonesia

²Program Studi Farmasi Fakultas Sains, Farmasi dan Kesehatan, Universitas Mathla'ul Anwar, Banten, Indonesia

*Email: dhyneudj@gmail.com

Received: 11/01/2022 , Revised: 09/02/2022 , Accepted: 15/02/2022, Published: 28/02/2022

ABSTRAK

Radikal bebas merupakan penyebab masalah kulit, salah satunya adalah hiperpigmentasi yaitu disebabkan oleh adanya peningkatan aktivitas enzim tirosinase. Ekstrak etanol 70% buah gandaria (*Bouea macrophylla* Griff.) memiliki senyawa fenolik, tanin, vitamin C, flavonoid, flavonol, serta antosianin yg bisa menangkal radikal bebas serta mengurangi risiko permasalahan kulit. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan serta inhibisi enzim tirosinase ekstrak etanol buah *B. macrophylla* secara *in vitro*. Pada pembuatan ekstrak buah *B. macrophylla*, pelarut yang digunakan nya adalah etanol 70% dengan metode maserasi, skrining fitokimia, uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, serta inhibisi enzim tirosinase memakai substrat L-DOPA. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah *B. macrophylla* memiliki kategori sangat kuat dengan nilai IC₅₀ 47,064 µg/mL, serta inhibisi enzim tirosinase paling tinggi diperoleh dengan nilai 47,529%.

Kata kunci : Antioksidan, Gandaria (*Bouea macrophylla*), *in vitro*, Tirosinase.

ABSTRACT

Free radicals are the cause of skin problems, one of which is hyperpigmentation, which is caused by an increase in the activity of the tyrosinase enzyme. The 70% ethanol extract of gandaria fruit (*Bouea macrophylla* Griff.) has phenolic compounds, tannins, vitamin C, flavonoids, flavonols, and anthocyanins which can ward off free radicals and reduce the risk of skin problems. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity and tyrosinase enzyme inhibition of the ethanolic extract of *B. macrophylla* fruit *in vitro*. In the manufacture of *B. macrophylla* fruit extract, the solvent used was 70% ethanol by maceration method, phytochemical screening, antioxidant activity test using the DPPH method, and tyrosinase enzyme inhibition using L-DOPA as a substrate. The antioxidant activity of the ethanolic extract of *B. macrophylla* fruit has a very strong category with an IC₅₀ value of 47.064 g/mL, and the highest tyrosinase enzyme inhibition was obtained with a value of 47.529%.

Keywords: Antioxidant, Gandaria (*Bouea macrophylla*), *in vitro*, Tirosinase.

PENDAHULUAN

Kulit merupakan organ terbesar yang menutupi tubuh dan mencegah penetrasi penetrasi asing masuk ke dalam tubuh (Neupane *et al.*, 2020). Warna kulit berkaitan dengan keberadaan beberapa biokrom yang berkontribusi pada pertahanan terhadap radiasi. Pigmen terpenting yang menentukan warna kulit adalah melanin (Solano., 2020). Melanin adalah molekul pigmen yang menghasilkan warna, berperan penting dalam melindungi kulit dari radiasi sinar UV, dan menghilangkan bahan kimia beracun. Akumulasi melanin berlebihan dapat menyebabkan hiperpigmentasi kulit seperti melasma, bintik-bintik gelap dan penuaan (Kong *et al.*, 2020). Pencegahan pembentukan melanin dengan cara menghambat aktivitas enzim tirosinase merupakan salah satu pencegahan hiperpigmentasi (Goenka & Toussaint., 2020).

Enzim tirosinase mengkatalisis langkah pembatas laju dalam sintesis melanin dengan mengkatalisis hidroksilasi L-tirosin menjadi L-DOPA dan mengubahnya menjadi Dopakinon (Goenka & Toussaint., 2020). Aktivitas tirosinase menurun baik dengan mengikat logam tembaga (Cu), disisi aktif enzim

menggunakan inhibitor tirosinase langsung atau dengan mengurangi produk Dopakinon menggunakan antioksidan (Kong *et al.*, 2020).

Antioksidan memblokir proses oksidasi dengan menetralkan radikal bebas, dengan demikian antioksidan menjadi teroksidasi. Antioksidan bekerja dengan cara pemutusan rantai molekul radikal. Antioksidan mencegah reaksi oksidasi dengan mengurangi proses inisiasi dengan membersihkan radikal-radikal awal, antioksidan dapat menggagalkan reaksi oksidasi agar tidak berlangsung terus menerus, dan dapat mencegah oksidasi dengan menstabilkan radikal logam transisi seperti tembaga dan besi (Atta *et al.*, 2017). Sumber antioksidan dari bahan alam salah satunya adalah tumbuhan tumbuhan gandaria (Rajan & Bhat., 2017).

Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff.) termasuk Famili *Anacardiaceae* yang tersebar luas di Asia Tenggara termasuk Malaysia, Indonesia, Laos, Thailand, dan Myanmar (Rajan & Bhat., 2017). Kandungan metabolit sekunder dari buah *B. macrophylla* adalah senyawa fenolik, tanin, vitamin C, flavonoid, flavonol, dan antosianin (Rajan & Bhat., 2017). Buah *B. macrophylla* juga mengandung minyak atsiri jenis senyawa hidrokarbon terpen

(delta-kadinen, α -terpineol, β -terpineol, neral, santolinatrien, eugenol, α -copaen, isogermacren D, valencen, gamma-cadinen, seline-3,7(11)-diene, globulol, cubeban-11-ol, copaborneol, gamma-eudesmol, α -muurolol, aristolon) alkohol (linalool oxide, artemisia alkohol, 1 - hexadecanol) ester (*Z*-Butanoic acid, 3-hexenyl ester) asam (*caprylic acid*, *nonanoic*, *dodecanoic acid*, *myristic acid* (Rajan & Bhat 2017). Senyawa asam amino esensial dari buah *B. macrophylla* yaitu, isoleusin, leusin, penis alanin, metionin, treonin, valin, histidin, lisin, triptofan, sedangkan senyawa asam amino non esensial dari buah *B. macrophylla* yaitu, alanin, prolin, cistein, tirosin, asam aspartat, serin, asam glutamat, glisin, dan arginin (Rajan *et al.*, 2014).

Beberapa penelitian membuktikan bahwa tumbuhan *B. macrophylla* memiliki kemungkinan sebagai sumber antioksidan. Pada jus buah *B. macrophylla* aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 36,4 mg/mL (Lolaen *et al.*, 2013). Ekstrak metanol buah *B. macrophylla* IC₅₀ sebesar 16,29 ppm (Rajan & Bhat., 2016). Ekstrak kulit buah *B. macrophylla* memiliki nilai IC₅₀ 44,394 ppm (Indriani *et al.*, 2018). Ekstrak biji *B. macrophylla* memiliki IC₅₀ 1,757 g/mL (Indriani *et al.*, 2018). Fraksi aktif ekstrak etil asetat batang *B. macrophylla* dilaporkan

memiliki IC₅₀ sebesar 2,13 ppm (Rudiana *et al.*, 2019). Ekstrak etanol kulit batang *B. macrophylla* IC₅₀ 20,03 g/mL, nilai IC₅₀ ekstrak etanol daun gandaria sebesar 55,83 g/mL (Andina & Musfirah., 2017). Dilihat dari data hasil penelitian yang telah dilakukan peneliti sebelumnya tentang tumbuhan *B. macrophylla* sebagai sumber antioksidan yang sangat baik. Oleh karna itu penulis tertarik untuk menganalisis aktivitas antioksidan dan inhibisi enzim tirosinase ekstrak etanol buah *B. macrophylla* secara *in vitro*.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Dalam penelitian, menggunakan alat-alat gelas laboratorium (Pyrex), ayakan mesh 40 (ABM), rotary evaporator (Buchi), timbangan analitik (Scout Pro), oven (Memmert), tanur listrik (Muffle Furnace) GC FID Headspace (Experis), ICP-OES (AVIO), multiwell plate reader (ELISA) (Bio-Rad), dan spektrofotometer UV- VIS (Shimadzu).

Dalam penelitian bahan yang digunakan adalah sampel buah mentah *B. macrophylla*, asetat anhidrida (CH₃CO)₂O, asam sulfat (H₂SO₄ 2N), asam klorida (HCl 2N), amil alkohol (C₅H₁₂O), besi (III) klorida (FeCl₃ 1 %), akuadest (H₂O), asam

kojat ($C_6H_6O_4$), Vitamin C ($C_6H_8O_6$), etanol 70% (C_2H_5OH), metanol (CH_3OH), dimetil sulfoksida (C_2H_6OS), pita magnesium (Mg), hidrogen peroksida (H_2O_2 30%), timah (II) klorida ($SnCl$ 2%), asam klorida pekat (HCl 4%), pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, dapar posfat, air suling panas bebas klorida, serbuk DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) , enzim tirosinase, dan substrat L-DOPA.

Jalannya Penelitian

Tahapan – tahapan yang dilakukan dalam penelitian dilakukan dalam yaitu menentukan tanaman, ekstraksi menggunakan metode maserasi. Dilakukan uji fitokimia, uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH, dan penghambatan enzim tirosinase ekstrak etanol buah *B. macrophylla* secara *in vitro*.

1. Persiapan Sampel

Pembuatan Simplisia Buah *B. macrophylla* Sebanyak 10 kg buah *B. macrophylla* dipisahkan dari kotoran kemudian dibakar hingga bersih, sampel ditiriskan dan diiris kecil-kecil, bijinya dibuang, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari. Setelah kering, sampel dihaluskan, kemudian diayak menggunakan ayakan mesh 40 (Ripaldo., 2020).

1.1. Ekstraksi Buah *B. macrophylla*

Ekstraksi buah *B. macrophylla* menggunakan proses maserasi, mengikuti

metode Ripaldo & Sagala., 2020 yang dimodifikasi.

1.2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia meliputi uji kualitatif alkaloid (Pereaks Mayer dan Wagner), flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan steroid. Skrining fitokimia mengikuti prosedur penelitian skrining fitokimia pada (Konda *et al.*, 2020).

2. Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

2.1. Pembuatan Larutan DPPH 0.5 mM

Serum DPPH (BM: 349.32) 0,009858 g diencerkan dengan metanol sebagai campuran 50 mL.

2.2. Pembuatan Blanko

Disiapkan tabung, kemudian masukan 0,6 mL larutan DPPH 0,5 mM dimasukan ke dalam tabung, ditambahkan 2,4 mL metanol, kemudian dihomogenkan, diinkubasi pada suhu selama 30 menit selanjutnya serapannya diukur pada 515 nm.

2.3. Uji Aktivitas Antioksidan

Metode radikal bebas DPPH digunakan dalam pengujian Uji aktivitas antioksidan dengan mengikuti metode Charissa dkk, 2016 yang dimodifikasi. Metode DPPH digunakan karena metode DPPH cocok untuk senyawa – senyawa fenolik karena Hidrogen dari gugus OH

yang terikat pada benzene sehingga metode DPPH cocok untuk menguji aktivitas antioksidan untuk senyawa – senyawa fenolik atau aromatik.

3. Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Tirosinase

Sebanyak 1 g ekstrak diencerkan dengan 100 mL dimetil sulfoksida. Larutan stok ekstrak 10.000 ppm, ditambahkan dapar fosfat 50 mM pH 6,5. Konsentrasi ekstraks adalah 31,25; 62.5; 125; 250; 500; 1000; dan 2000ppm. Kontrol positif yang digunakan pada konsentrasi 7.875; 15,75; 31.25; 62.5; 125; 250; dan 500ppm. Terdapat perbedaan konsentasi antara ekstrak dengan kontrol positif karena kontrol positif asam kojat merupakan senyawa tunggal. . 70 µL dari setiap pengenceran ekstrak ditambahkan 30 µL enzim tirosinase. Kemudian inkubasi pada suhu 37°C selama 5 menit, kemudian substrat 12 mM L-DOPA 110 µL dicampur kedalam *micro plate*. Larutan diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar sebelum absorbansi diukur pada Panjang gelombang 510 nm dengan menggunakan *micro plate reader* (ELISA) (Batubara *et al.*, 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Preparasi Sampel dan Ekstraksi

Sampel tumbuhan *B. macrophylla* dideterminasi di Lembaga Ilmu

Pengetahuan (LIPI) Pusat Penelitian Konservasi Tumbuhan dan Kebun Raya – LIPI Bogor dan menyatakan bahwa tumbuhan gandaria (*Bouea macrophylla* Griff) yang termasuk famili *anacardiaceae* dengan nomor surat B-1615/IPH.3./KS/XII/2020.

Hasil ekstraksi sampel buah *B. macrophylla* dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Sampel

Massa Sampel (g)	Ekstrak Kental (g)	% Rendemen
1000	200,7	20,07

Sebanyak 10 kg sampel mentah *B. macrophylla* disortasi basah bertujuan untuk memisahkan kotoran dari benda asing lalu dikeringkan Kemudian dihaluskan hingga didapat serbuk simplisia (Wathan *et al.*, 2020). Hasil serbuk tanaman simplisia buah *B. macrophylla* didapatkan sebanyak 1 kg berwarna kuning kecoklatan. Metode maserasi dipilih untuk mencegah terjadinya penguraian zat aktif yang terkandung dalam sampel karena pemanasan, sehingga metode maserasi dapat digunakan untuk menyari bahan yang tidak tahan panas atau rusak karena pemanasan (Mutmainnah *et al.*, 2018). Etanol 70% digunakan sebagai pelarut untuk pembuatan ekstrak. Sifat etanol yang memiliki polaritas yang lebar dari mulai senyawa non polar sampai polar merupakan alasan utama. Dan jika

dibanding dengan pelarut lain terkait toksisitas, maka etanol 70% tidak toksik (Mutmainnah *et al.*, 2018). Agar senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak tidak rusak, maka penguapan dilakukan dengan *rotary evaporator* untuk memperoleh ekstrak kental yang baik karena suhunya yang dapat diatur (Mutmainnah *et al.* , 2018). Ekstrak kental buah *B. macrophylla* yang didapatkan sebanyak 200,7 g dan memiliki persen rendemen 20,07% (Tabel 1). Tingginya hasil dari ekstraksi berupa ekstrak kental dapat dilihat dari hasil

rendemen suatu sampel. Banyaknya kandungan senyawa aktif yang terkandung didalam sampel dapat dilihat dari semakin banyaknya jumlah rendemen yang dihasilkan (Hasnaeni dkk., 2019).

2. Skrining Fitokimia

Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol 70% buah *B. macrophylla* dapat dilihat pada Tabel 2. Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol buah *B. macrophylla* yaitu fenolik, tannin, alkaloid, saponin, flavonoid dan steroid.

Tabel 2. Hasil Skrining Fitokimia

Pengujian	Pereaksi	Pengamatan	Hasil
Alkaloid	Mayer Wagner	Menghasilkan endapan putih Menghasilkan endapan coklat	Positif Alkaloid
Flavonoid	Pita Mg + HCl + amil alkohol	Warna jingga dilapisan amil alkohol	Positif Flavonoid
Tanin	FeCl ₃	Warna hijau kehitaman	Positif Tanin
Steroid dan Triterpenoid	Asetat anhidrat + H ₂ SO ₄	Warna hijau	Positif Steroid
Saponin	H ₂ O + HCl	Buih tidak hilang	Positif Saponin
Fenolik	FeCl ₃	Warna biru kehitam	Positif Fenolik

3. Uji Aktivitas Antioksidan

Adanya perubahan intensitas warna menjadi kuning dari semula warna ungu merupakan prinsip aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis sehingga akan diketahui nilai IC₅₀. Radikal bebas yang dapat diredam sebanyak 50% oleh senyawa uji dapat didefinisikan sebagai

nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ yang semakin kecil maka dapat dinyatakan bahwa aktivitas peredaman radikal bebas yang makin tinggi. Alat yang digunakan pada pengukuran aktivitas antioksidan yaitu spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 515 nm (Wahid *et al.*, 2017).

Aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah *B. macrophylla* dilakukan secara

triplo, pengukuran serapan dilakukan setelah inkubasi selama 30 menit. Tujuan dilakukan inkubasi selama 30 menit agar reaksi antara larutan sampel dengan larutan DPPH berlangsung sempurna (Handayani dkk., 2020). Sebagai pembandingnya menggunakan Vitamin C sebagai kontrol positif karena bekerja sebagai antioksidan sekunder yaitu mencegah terjadinya reaksi berantai, antioksidannya sangat tinggi, Vitamin C mudah didapat dan lebih polar dari vitamin yg lain (Damaris dkk., 2020).

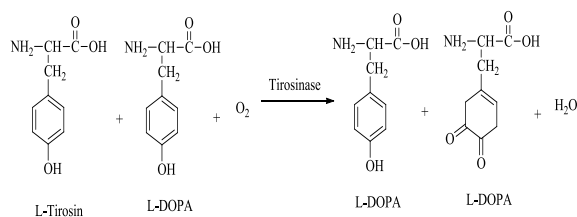
Aktivitas antioksidan ekstrak etanol buah *B. macrophylla* memiliki nilai IC_{50} 47,064 ppm sedangkan Kontrol positif vitamin C didapatkan IC_{50} 5,845 ppm Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah *B. macrophylla* dan vitamin C memiliki sifat antioksidan kategori sangat kuat karena $IC < 50$. Daya aktivitas antioksidannya dapat dilihat dari nilai IC_{50} , semakin kuat daya aktivitas antioksidan maka semakin kecil nilai IC_{50} nya Vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak etanol buah *B. macrophylla* memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah Hal ini dikarenakan ekstrak terdiri dari beberapa campuran senyawa sedangkan vitamin C merupakan senyawa murni (Mokoginta dkk., 2020). Dengan demikian, ekstrak

etanol buah *B. macrophylla* merupakan jenis tumbuhan yang memiliki kemampuan antioksidan yang sangat kuat karena pengaruh dari senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol buah *B. macrophylla* (Bahriul dkk., 2014).

4. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Tirosinase

Pengujian aktivitas penghambatan enzim tirosinase dilakukan untuk mengetahui kemampuan senyawa bioaktif pada ekstrak etanol buah *B. macrophylla* terhadap aktivitas penghambatan enzim tirosinase Aktivitas inhibitor tirosinase dilakukan secara *in vitro* berdasarkan penurunan jumlah dopakrom yang merupakan hasil oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase. Warna jingga tua hingga merah menunjukkan adanya dopakrom yang terbentuk. Jika aktivitas tirosinase terhambat maka intensitas warna dopakrom akan menurun sehingga absorbansi dapat diukur menggunakan *microplate reader* (ELISA) pada panjang maksimum 510 nm (Tristiyanti et al., 2020). Metode ELISA (*Enzyme linked Immunosorbent Assay*) merupakan analisis kuantitatif dan kualitatif yang sangat sensitif dan selektif terhadap antigen reaksi antibodi yang menggunakan substrat reaksi dengan enzim. Reaksi dinyatakan positif apabila menghasilkan

produk yang berwarna. untuk menghasilkan produk berwarna (Sakamoto *et al.*, 2018). Tirosinase adalah dua reaksi utama dalam biosintesis melanin, yaitu hidroksilasi L-tirosin menjadi L-dopa dan oksidasi L-dopa menjadi dopakuinon, kemudian dopakuinon akan berpolimerisasi membentuk dopakrom yang kemudian menjadi melanin. .Penghambatan tirosinase sangat penting sebagai agen depigmentasi pada gangguan hiperpigmentasi, penghambatan tirosinase akan menghambat pembentukan melanin atau reaksi pencoklatan (Petrillo *et al.*, 2016).



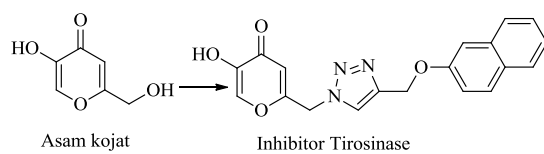
Gambar 1. Mekanisme Pengujian Inhibisi Tirosinase (Rohmat dkk., 2019).

Penghambatan enzim tirosinase ekstrak etanol buah *B. macrophylla* dilakukan secara triplo, substrat yang digunakan L-DOPA karena berdasarkan reaksi yaitu pengujian yang dihasilkan produk dopakrom dimana nilai serapan dapat diukur dengan metode spektrofotometri UV-VIS optimum (Umrah Noor and Magdalena 2018). Pelarut yang digunakan dalam pengenceran untuk deret konsentrasi pada uji enzim tirosinase ekstrak

etanol buah *B. macrophylla* yaitu DMSO (*Dimethylsulfoxide*). DMSO yang digunakan adalah 0,01%, apabila lebih dari konsentrasi tersebut maka diduga akan mengganggu reaksi pengujian kegiatan enzim tirosinase tersebut. Larutan dapar dengan pH 6,5 yang digunakan karena pH ini adalah pH optimum pada reaksi katalisis enzim tirosinase. Sampel uji diinkubasi pada ruangan 37°C selama 30 menit dan ketika inkubasi enzim selama 30 menit telah diklaim relatif untuk dapat bekerja. Pengujian aktivitas inhibitor enzim tirosinase menggunakan *microplate reader* (ELISA) karena mempunyai sifat sensitifitas yang tinggi, kecepatan deteksi yang tinggi, serta sangat akurat. Asam kojat digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif. Kontrol positif yang digunakan merupakan inhibitor enzim tirosinase dengan daya hambat dan kestabilan yang tinggi pada suatu kosmetik pencerah kulit, dan juga memiliki kemampuan untuk mengkelat logam tembaga pada *active site* enzim tirosinase (Purnamasari & Sagala., 2020). Akan tetapi penggunaan asam kojat secara berlebihan dapat menyebabkan alergi pada kulit manusia (Kurniasari 2018).

Nilai penghambatan aktivitas enzim tirosinase ekstrak etanol buah *B. macrophylla* konsentrasi 2000 ppm

merupakan konsentrasi tertinggi yang memiliki penghambatan terhadap persen penghambatan L-DOPA 47,529% Asam kojat yang digunakan sebagai kontrol konsentrasi positif 500 ppm merupakan konsentrasi tertinggi yang memiliki penghambatan terhadap persen penghambatan L-DOPA 95,569%. Peningkatan kemampuan inhibisi yang dihasilkan, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, yang ditandai dengan penurunan pembentukan dopakrom serta penurunan intensitas rona yang terbentuk (Sagala & Telaumbanua., 2020). Tujuan diperolehnya data dalam bentuk presentase untuk mengetahui skala perbandingan aktivitas enzim pada setiap konsentrasi sampel (Syamsuri et al., 2020).



Gambar 2. Dugaan Reaksi Inhibisi Enzim Tirosinase Dengan Asam Kojat (Ashooriha et al., 2019).

Asam kojat memiliki struktur aktif dengan tirosin (ligan) adanya gugus hidroksi yang merupakan tempat untuk mengikat ion tembaga dari tirosinase dan membentuk kompleks dengan logam (Ashooriha et al., 2019).

Ekstrak etanol buah *B. macrophylla* memiliki senyawa metabolit sekunder yang dapat menjadi penghambat enzim tyrosinase. Flavonoid adalah salah satu turunan polifenol yang tersebar di berbagai buah, daun, biji pada suatu tanaman. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antivirus, antiinflamasi, antioksidan dan antikanker (Owalobi et al., 2020). Mentransfer electron pada radikal bebas, menghambat oksidasi, mengaktifkan antioksidan enzimatik dan mengikat katalik logam merupakan efek perlindungan flavonoid dalam sistem biologi. Fungsi dari flavonoid juga sebagai antioksidan untuk menangkap radikal bebas, dan salah satunya adalah melagenesis yang diakibatkan oleh ROS dapat dihambat dan dinetralisasi. (Sholikha et al., 2020). Senyawa fenolik seperti flavonoid dapat bertindak sebagai inhibitor tirosinase pada reaksi enzimatik. Untuk masuk ke dalam sisi aktif enzim, terjadi kompetisi antara inhibitor dengan substrat karena struktur pada flavonoid memiliki penghambatan dengan substrat. (Cichorek et al., 2013). Senyawa fenolik seperti flavonoid memiliki aktivitas menghambat proses produksi melanin berlebih dan juga dapat bertindak sebagai substrat alternatif untuk enzim tirosinase. Senyawa flavonoid menunjukkan suatu

enzim yang baik dengan pembentukan dopakrom dapat mencegah. Semakin banyak dopakrom yang dihasilkan maka penghambatan enzim tirosinase tidak terjadi, sebaliknya apabila penghambatan enzim tirosinase terjadi maksimal maka artinya dopakrom tidak terbentuk (Mustika *et al.*, 2020).

Reaksi penghambatan enzim tirosinase oleh flavonoid, fenolik, dan steroid dapat disebabkan oleh interaksi gugus OH dari senyawa-senyawa tersebut dengan radikal bebas yang terdapat pada sisi aktif enzim atau pada ion tembaga (Cu) yang merupakan *active site* enzim tirosinase. Jumlah gugus hidroksil berperan penting pada proses penghambatan aktivitas enzim tirosinase (Mustika *et al.*, 2020).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dan pembahasan maka bisa dirancah konklusi bahwa ekstrak etanol butir *B. macrophylla* mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, steroid, serta fenolik. Nilai IC_{50} untuk aktivitas antioksidan dari *B. macrophylla* yaitu 47,064 ppm yang membuktikan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan dengan kategori sangat kuat.

Aktivitas inhibisi enzim tirosinase ekstrak etanol buah *B. macrophylla* berbanding lurus dengan konsentrasi rata-rata persen inhibisi berturut turut pada konsentrasi 31,25; 62,5; 125; 250; 500; 1000 dan 2000 ppm adalah 13,442; 13,673; 16,667; 21,911; 22,122; 41,953 dan 47,529%. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, semakin besar inhibisi yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

- Andina, Lisa, and Yaumi Musfirah. 2017. "Total Phenolic Content of Cortex And Leaves of *Ramania (Bouea Macrophylla* Griffith) and Antioxidant Activity Assay by DPPH Method." *Rjpbcs* 8(1): 134–40.
- Ashooriha, Morteza et al. 2019. "1,2,3-Triazole-Based Kojic Acid Analogs as Potent Tyrosinase Inhibitors: Design, Synthesis and Biological Evaluation." *Bioorganic Chemistry* 82(October 2018): 414–22. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.069>.
- Atta, Emad M, Nawal H. Mohamed, and Ahmed A. M. Abdelgawad. 2017. "Antioxidants: An Overview on the Natural and Synthetic Types." *European Chemical Bulletin* 6(8):

- 365.
- Batubara, Irmanida et al. 2010. "Potency of Indonesian Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioksidan Agent." *Journal of Biological Sciences* 10(2): 138-44.
- Bahriul, P., Rahman, N., & dan Diah, A. W. M. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) Dengan Menggunakan 1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil. *Jurnal Akademika Kimia*. 3 (3) : 143-149.
- Charissa, M., Djajadisastra, J., & Elya, B. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Tirosinase serta Uji Manfaat Gel Ekstrak Kulit Batang Taya (*Nauclea subdita*) terhadap Kulit. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*. 6 (2) : 98-107.
- Cichorek, Mirosława, Małgorzata Wachulska, Aneta Stasiewicz, and Agata Tyimińska. 2013. "Skin Melanocytes: Biology and Development." *Postepy Dermatologii i Alergologii* 30(1): 30-41.
- Damanis, F. V. M., Wewengkang, D. S., & Antasionasti, I. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol *Ascidian Herdmania momus* Dengan Metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). *PHARMACON*. 9 (3) : 464- 469.
- Fadlilaturrahmah., Wathan, N., Firdaus, A. R., & Saufy Arishandi. 2020. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan dan Kadar Flavonoid Daun Kareho (*Callicarpa Longifolia* Lam). *PHARMA XPLORE*. 5 (1) : 23-33.
- Goenka, Shilpi, and Jimmy Toussaint. 2020. "Citrate-Coated Platinum Nanoparticles Exhibit a Primary Particle-Size Dependent Effect on Stimulating Melanogenesis in Human Melanocytes." *Cosmetics* 7(4): 1-15.
- Handayani, S., Najib, A., Wisdawati., & Khoiriyah, A. 2020. Aktivitas Antioksidan *Caulerpa lentillivera* J. Agardh Dengan Metode Perendaman Radikal Bebas 1,1-dhyphenyl-2-picrylhydrazil. *Jurnal Kesehatan*. 13 (1) : 61-70.
- Hasnaeni., Wisdawati., & Usman, S. 2019. Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Rendemen Dan Kadar Fenolik Ekstrak Tanaman Kayu Beta-Beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika* (Galenika Journal of Pharmacy). 5 (2) : 175-182.
- Indriani, Vinny, Novita Eka Kartab Putri Tobing, and Laode Rijai. 2018. "Formulasi Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System (SNEDDS)

- Ekstrak Biji Ramania (*Bouea Macrophylla* Griff) Dengan Asam Oleat (Oleic Acid) Sebagai Minyak Pembawa.” *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences* 8(November 2018): 276–84.
- Konda, Josepin P et al. 2020. “Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Biji Langsung (*Lansium Domesticum* Var. *Pubescens*) Dan Duku (*Lansium Domesticum* Var. *Domesticum*) Dengan Metode DPPH.” *Jurnal Ilmiah Sains* 20(2): 113.
- Kong, Saerom et al. 2020. “Milk Protein-Derived Antioxidant Tetrapeptides as Potential Hypopigmenting Agents.” *Antioxidants* 9(11): 1–12.
- Kurniasari, Aprillia, Effionora Anwar, and Joshita Djajadisastra. 2018. “Potensi Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma Cacao* Linn) Sebagai Inhibitor Tirosinase Untuk Produk Pencerah Kulit.” *Jurnal Kefarmasian Indonesia*.
- Lolaen, Landy A Ch, Fatimawali, and Gayatri Citraningtyas. 2013. “Uji Aktivitas Antioksidan Kandungan Fitokimia Jus Buah Gandaria (*Bouea Macrophylla* Griffith).” *Jurnal ilmiah Farmasi* 2(02): 1–8.
- Mustika, Rina, Siti Hindun, and Nurul Auliasari. 2020. “Potensi Tanaman Sebagai Pencerah Wajah Alami.” *Jurnal Sains dan Kesehatan* 2(4): 558–62.
<https://jsk.farmasi.unmul.ac.id>.
- Mutmainnah. 2018. “Mutmainnah.” *Lantanida Journal, Vol. 6 No. 1 (2018) 1-102* 6(1): 1–11.
- Mutmainnah, Nurul, Sitti Chadijah, and Muhammad Qaddafi. 2018. “penentuan suhu dan waktu optimum penyeduhan batang teh hijau (*Camelia Sinensis* L.) Terhadap kandungan antioksidan kafein, tanin dan katekin.” *Lantanida Journal* 6(1): 1.
- Neupane, Rabin et al. 2020. “Alternatives to Biological Skin in Permeation Studies: Current Trends and Possibilities.” *Pharmaceutics* 12(2).
- Owolabi, J. O., Fabiyi, O. S., Adelakin, L. A., & Ekwerike, M. C. 2020. Effects of Skin Lightening Cream Agents – Hydroquinone and Kojic Acid, on the Skin of Adult Female Experimental Rats. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*. 2020 (13) : 283-289.
- Petrillo, Amalia et al. 2016. “Tyrosinase Inhibition and Antioxidant Properties of *Asphodelus Microcarpus* Extracts.” *BMC Complementary and Alternative*

- Medicine* 16(1): 1–9.
<http://dx.doi.org/10.1186/s12906-016-1442-0>.
- Purnamasari, Dini Rizky, and Zuraida Sagala. 2020. “Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-Christi* L.) Secara in Vitro.” *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal* 5(1): 35–44.
- Putri, N. E. K. 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Kulit Buah Ramania (*Bouea macrophylla* Griff) dengan Metode DPPH. *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*. 7 (1) : 28-31
- Rajan, Nithiya Shanmuga, and Rajeev Bhat. 2017. “Volatile Constituents of Unripe and Ripe Kundang Fruits (*Bouea Macrophylla* Griffith).” *International Journal of Food Properties* 20(8): 1751–60.
<https://doi.org/10.1080/10942912.2016.1218892>.
- Rajan, Nithiya Shanmuga, Rajeev Bhat, and A. A. Karim. 2014. “Preliminary Studies on the Evaluation of Nutritional Composition of Unripe and Ripe ‘Kundang’ Fruits (*Bouea Macrophylla* Griffith).” *International Food Research Journal* 21(3): 949–54.
- Ripaldo, firganta. 2020. “uji aktivitas inhibitor enzim tirosinase dan uji antioksidan ekstrak etanol buah harendong (*Melastoma Malabathricum* L.) Secara in vitro.” *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal* 5(1): 114–29.
- Rudiana, Tarso et al. 2019. “Characterization of Antioxidative Fraction of Plant Stem *Bouea Macrophylla* Griff.” *Journal of Physics: Conference Series* 1341(7).
- Rohmat, A., Kardono, L., & Lotulung, D. P. 2019. Isolasi dan Bioinhibitor Aktivitas Enzim Tirosinase Dari Ekstrak Etil Asetat Padi Hitam (*Oryza Sativa* L Indica). *Borneo Journal of Phamascientech*. 3 (2) : 153-159.
- Sagala, Zuraida, and Kurnia Telaumbanua. 2020. “Formulasi, Uji Stabilitas Dan Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Sediaan Krim Dari Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma Affine* D.Don).” *Indonesia Narutal Research Pharmaceutical Journal* 5(2): 149–73.
- Sakamoto, Seiichi et al. 2018. “Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for the Quantitative/Qualitative Analysis of Plant Secondary Metabolites.” *Journal of Natural Medicines* 72(1): 32–42.

- <https://doi.org/10.1007/s11418-017-1144-z>.
- Shanmuga Rajan, Nithiya, and Rajeev Bhat. 2016. "Antioxidant Compounds and Antioxidant Activities in Unripe and Ripe Kundang Fruits (*Bouea Macrophylla* Griffith)." *Fruits* 71(1): 41–47.
- Sholikha, Munawarohthus, Amelia Febriani, and Ajeng Wahyuningrum. 2020. "Formulasi Gel Ekstrak Lobak (*Raphanus Sativus* L .) Sebagai Antioksidan Dan Inhibitor Tirosinase." *Jurnal Ilmu Kefarmasian* 13(1): 15–20.
- Solano, Francisco. 2020. "Photoprotection and Skin Pigmentation: Melanin-Related Molecules and Some Other New Agents Obtained from Natural Sources." *Molecules* 25(7): 1–18.
- Syamsuri, S., Khaerani, and Hasrawati. 2020. "pengujian aktivitas inhibitor enzim tirosinase ekstrak n-heksan dari umbi wortel (*Daucus Carrota* L.)." *Jurnal Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alaudin Makassar* 8(2): 1–8.
- Tristiyanti, Deby, Ledianasari, and Silva Oktaviani. 2020. "Inhibitory Activity of Tyrosinase Enzyme on Lotion Contains Pear (*Pyrus Pyrifolia* (Burm.F) Nakai) Rind Extract." 26: 88–91.
- Umrah Noor, Siti, and Pamela Magdalena. 2018. "Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Tirosinase In-Vitro Krim Ekstrak Akar Manis (*Glycyrrhiza Glabra* L.) (In Vitro Enzyme Tyrosinase Inhibitory Activity Test on Liquorice Root Extract Cream (*Glycyrrhiza Glabra* L.)." *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*.
- Wahid, Anang, M Diah, and Minarni Rama. 2017. "uji aktivitas antioksidan ekstrak air dan ekstrak etanol daun kelor (*Moringa Oleifera* LAM) Antioxidant Activity Tests of Water and Ethanol Extracts of Moringa (*Moringa Oleifera* LAM) Leaves." 6(May): 125–31.
- Wathan, Nashrul, Akhmad Rezeki Firdaus, and Saufy Arishandi. 2020. "antioksidan dan kadar flavonoid daun kareho (*Callicarpa Longifolia* Lam) The effect of extraction method on antioxidant activity and flavonoid levels of kareho leaves (*Callicarpa Longifolia* Lam)." *Pharma Xplore* 5(1): 23–33.