

Original Research

**FORMULASI, UJI STABILITAS DAN AKTIVITAS INHIBITOR ENZIM TIROSINASE
SEDIAAN KRIM DARI EKSTRAK BUAH HARENDONG (*Melastoma affine* D. Don)**

**FORMULATION, STABILTY TEST AND ENZYME ACTIVITY TEST TYROSINASE
OF CREAM PEPARATIONS FROM HERENDONG FRUIT EXTRACT(*Melastoma
affine* D. Don)**

Zuraida Sagala^{1*} Kurnia Telaumbanua²

¹Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta, Indonesia, 14350

²Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta, Indonesia, 14350

*E-mail : zoerasagala@gmail.com

Diterima: 01/09/2020

Direvisi: 05/09/2020

Disetujui: 27/10/2020

Abstrak

Salah satu cara untuk mencegah atau menghambat pembentukan melanin adalah dengan melakukan penghambatan aktivitas tirosinase (Lloyd, 2011). Enzim tirosinase adalah enzim yang berperan dalam pembentukan pigmen kulit atau dikenal dengan proses melanogenesis. Dalam proses melanogenesis, enzim tirosinase berperan sebagai katalis pada dua reaksi yang berbeda yaitu proses hidrosilasi tirosin menjadi dihidroksi-fenilalanin (L-DOPA) dan oksidasi L-DOPA menjadi DOPA kuinon. Tirosinase pada jaringan kulit diaktifasi oleh radiasi sinar UV matahari sehingga mempercepat proses produksi melanin (Fais *et al.* 2009).. penelitian ini dilakukan untuk mengetahui stabilitas, efektivitas sediaan krim dari ekstrak etanol buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don) sebagai inhibitor enzim tirosinase sehingga dapat digunakan sebagai bahan kosmetika pemutih atau pencerah kulit wajah. Hasil Krim dengan varian ekstrak etanol buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don) stabil secara fisik dan diformulasikan dengan uji organoleptis, homogenitas, viskositas, uji mekanik, pH, cycling test, dan uji iritasi. Sediaan krim tipe M/A dari ekstrak etanol buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don) mempunyai aktivitas inhibitor enzim tirosinase yang cukup kuat/ sedang dengan nilai IC50 masing-masing yaitu F1 (1%) sebesar 526,192 ppm, F2 (1,5%) sebesar 317,534 ppm dan F3 (2%) sebesar 128,523 ppm.

Kata kunci: Foemulasi, uji stabilitas, uji aktivitas, enzim tirosinase, buah herenong(*Melastoma affine* G.Don)

Abstract

One way to prevent or inhibit melanin formation is by inhibiting tyrosinase activity (Lloyd, 2011). Tyrosinase enzyme is an enzyme that plays a role in the formation of skin pigments or known as melanogenesis. In the process of melanogenesis, the enzyme tyrosinase acts as a catalyst in two different reactions, namely the hydroxylation process of tyrosine to dihydroxy phenylalanine (L-DOPA) and oxidation of L-DOPA to quinone DOPA. Tyrosinase in skin tissue is activated by solar UV radiation so that it accelerates the process of melanin production (Fais et al. 2009). This study was conducted to determine the stability, effectiveness of cream preparations from ethanol extracts of Harendong fruit (*Melastoma affine* D. Don) as tyrosinase enzyme inhibitors so it can be used as a cosmetic ingredient for whitening or skin lightening. Results Cream with variants of Harendong (*Melastoma affine* D. Don) ethanol extract was physically stable and formulated with organoleptic test, homogeneity, viscosity, mechanical test, pH, cycling test, and irritation test. Type M / A cream preparations from ethanol extract of Harendong fruit (*Melastoma affine* D. Don) have a strong / moderate tyrosinase enzyme inhibitor activity with IC50 values of F1 (1%) of 526,192 ppm, F2 (1.5%) amounted to 317,534 ppm and F3 (2%) amounted to 128,523 ppm.

Keywords: Foemulation, stability test, activity test, tyrosinase enzyme, herenong fruit (*Melastoma affine* G.Don)

PENDAHULUAN

Kulit merupakan jaringan permukaan tubuh yang lentur dan elastis, sebagai perlindungan tubuh dan untuk ekskresi. Kulit terdiri atas lapisan epidermis, lapisan dermis, dan hipodermis (Aiache, 1993: 444). warna kulit manusia ditentukan oleh berbagai pigmen kulit, diantaranya karoten, melanin, oksihemoglobin dan hemoglobin. Namun yang paling berperan adalah pigmen melanin (Soepardiman, 2010: 289). Hiperpigmentasi merupakan gangguan pada pigmen kulit yang disebabkan oleh peningkatan proses melanogenesis sehingga menyebabkan penggelapan warna pada kulit (cayce *et al*, 2004). Melanin merupakan pigmen yang melindungi kulit dari paparan sinar UV (Erdmann dan Barciszewski, 2010). Namun produksi melanin yang meningkat atau berlebih akan menyebabkan abnormalitas pigmentasi kulit serta menimbulkan permasalahan estetika pada kulit. Salah satu cara untuk mencegah atau menghambat pembentukan melanin adalah dengan melakukan penghambatan aktivitas tirosinase (Lloyd, 2011). Enzim tirosinase adalah enzim yang berperan dalam pembentukan pigmen kulit atau dikenal dengan proses melanogenesis. Dalam proses melanogenesis, enzim tirosinase berperan sebagai katalis pada dua reaksi yang berbeda yaitu proses hidrosilasi tirosin menjadi dihidroksi-fenilalanin (L-DOPA) dan oksidasi L-DOPA menjadi DOPA kuinon. Tirosinase pada jaringan kulit diaktifasi oleh radiasi sinar UV matahari sehingga mempercepat proses produksi melanin (Fais *et al*. 2009). Kosmetika pemutih kulit adalah salah satu jenis produk kosmetika yang mengandung bahan aktif yang bekerja dengan cara menghambat pembentukan pigmen melanin atau menghilangkan melanin yang sudah terbentuk sehingga akan memberikan warna kulit yang lebih putih. Kosmetika pemutih biasanya mengandung zat aktif pemutih seperti Asam askorbat,

Hidrokuinon, Asam kojat, Merkuri dan lain-lain. Penggunaan produk kosmetika pemutih ini dapat memberikan dampak positif kepada penggunaannya diantaranya yaitu kulit menjadi putih bersih dan bersinar. Namun karena keterbatasan pengetahuan tentang produk kosmetika pemutih membuat masyarakat tidak tahu dampak negatif yang mungkin timbul jika produk tersebut digunakan secara berlebihan (Pangaribuan, 2017). Asam kojat adalah inhibitor yang memiliki efek inhibisi dan kestabilan yang paling besar dalam suatu produk kosmetik untuk mencegah hiperpigmentasi kulit. Namun penggunaan asam kojat sebagai bahan pemutih mengandung resiko tinggi karena asam kojat bersifat rsinogenik (Miyazawa *et al.* 2006). Asam Askorbat sering digunakan sebagai antioksidan karena kemampuannya menekan proses *o-dopaquinone* menjadi *dopa*, sehingga menghambat pembentukan melanin (Kameyama, dkk., 1996). Hidrokuinon secara luas digunakan sebagai bahan pemutih yang efektif namun sering terjadi iritasi kulit, dermatitis dan peningkatan insiden okronosis (Nico, dkk., 2009). Sedangkan pemakaian krim merkuri dalam jangka panjang dapat menyebabkan kulit menjadi biru kehitaman dan memicu timbulnya kanker (Pangaribuan, 2017). Ada banyak tanaman herbal yang dapat dimanfaatkan sebagai kosmetika pemutih yang mempunyai khasiat dan keamanan yang tidak perlu diragukan lagi. Salah satu tanaman yang diduga dapat digunakan sebagai tanaman obat dan kosmetik adalah tanaman Harendong (*Melastoma affine* D. Don). Tanaman ini tumbuh sebagai tanaman liar sehingga mudah didapat dan penelitian terkait uji aktivitas inhibitor tirosinase sediaan krim dari ekstrak buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don) masih jarang dilakukan (Syafitri, dkk., 2014).

METODE

Bahan

Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don) enzim *tyrosinase* (Sigma-Aldrich, USA), substrat L-DOPA (Sigma-Aldrich, USA), Aquades, Aquades bebas CO₂, KH₂PO₄ (Merck Jerman), NaOH (Merck Jerman), Etanol 96% (Brataco), asam stearat (Brataco, Indonesia), setil alkohol (Brataco, Indonesia), trietanolamin (Brataco, Indonesia), gliserin (Cognis, Indonesia), metil paraben (Brataco, Indonesia), propil paraben (Brataco, Indonesia), butil hidroksi toluen (Brataco, Indonesia), dan propilen glikol (Brataco, Indonesia).

Prosedur Pengerjaan

a. Ekstraksi

Ekstraksi buah Harendong menggunakan metode maserasi menurut Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia (2004). Maserasi adalah metode ekstraksi dengan perendaman sampel dengan pelarut tertentu. Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan pelarut etanol 96%. Sebanyak 500 gram buah harendong yang telah menjadi bentuk simplisia ditambahkan pelarut dengan perbandingan 1:10, dimasukkan ke dalam Labu Erlenmeyer 500 ml, lalu didiamkan selama 24 jam pada maserator yang dilengkapi *shaker*. Maserat dipisahkan dan proses diulang dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan dipisahkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40-50°C sampai diperoleh ekstrak kental buah Harendong.

b. Evaluasi stabilitas krim

Sediaan krim yang telah dibuat dilakukan uji evaluasi dan stabilitasnya selama 28 hari yang dilakukan pada suhu rendah (4°C), suhu kamar (25°C) dan suhu tinggi (40°C). meliputi Uji Organoleptis, Uji Homogenitas, Pengukuran pH, Uji Viskositas / Kekentalan, *Cycling test*, *Centrifugal test* / uji mekanik, Uji Iritasi.

c. Uji Aktivitas inhibitor tirosinase

Sampel krim diambil sebanyak 0,3 gr kemudian diekstraksi dengan penambahan 10 ml buffer. Sampel krim disentrifugasi untuk memisahkan filtrat dengan basis krim. Larutan filtrat ditampung untuk diuji aktivitasnya sebagai inhibitor tirosinase. larutan sampel diambil sebanyak 70 µl dari berbagai konsentrasi yaitu 20, 40, 60, 80, 100 dan 200 µg/ml dimasukkan ke dalam 96 *well-microplate*, ditambahkan 30 µl larutan tirosinase 333 Unit/ml. *Plate* dikocok perlahan. Kemudian ditambahkan 110 µl 2 mM Larutan L-Tyrosin. Campuran diinkubasi pada suhu 25-30°C selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 510 nm menggunakan *microplate reader* (Batubara *et al.* 2010).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi

Proses ekstraksi pada penelitian ini menggunakan cara dingin yaitu dengan metode maserasi. Metode ini mempunyai beberapa kelebihan dibanding metode ekstraksi lainnya yaitu merupakan metode ekstraksi yang paling sederhana, tidak memerlukan peralatan yang rumit, relatif murah dan menghindari kerusakan komponen senyawa yang tidak tahan panas (Indriani, 2007). Prinsip maserasi adalah pelarutan zat aktif hingga tercapai keseimbangan konsentrasi didalam dan diluar sel (Depkes, 2000). Adapun hasil ekstraksi memiliki karakteristik sebagai berikut

Uji Karakteristik Ekstrak Etanol 96% Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don)

Organoleptis :

- a. Bentuk Kental
- b. Warna Coklat Kemerahan
- c. Bau Khas Buah Harendong

Rendemen	14,22%
Susut Pengeringan	9,5%
Kadar Air	1,28%
Kadar Abu	1,0%

Hasil evaluasi stabilitas krim

Tabel 4. Hasil Evaluasi Bentuk/Penampilan Sediaan Krim

Formula	Kondisi	Waktu	Bentuk/Penampilan		
			4°C	25°C-30°C	40°C
I	Awal	Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
	Krim	Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
III	Krim	Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah

Minggu 2 Tidak Tidak Tidak
 berubah berubah berubah

Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah

Tabel 5. Hasil Pengamatan Warna Sediaan Krim

Formula	Kondisi	Waktu	Warna		
	Awal		4°C	25°C-30°C	40°C
I	Coklat muda	Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
II	Coklat kemerahan	Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
III	Coklat tua	Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah

Tabel 6. Hasil Pengamatan Aroma/Bau Sediaan Krim

Formula	Kondisi	Waktu	Aroma		
			4°C	25°C-30°C	40°C
I	Awal	Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
	Bau Khas Ekstrak buah Harendong	Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
III		Minggu 3	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 4	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 1	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah
		Minggu 2	Tidak berubah	Tidak berubah	Tidak berubah

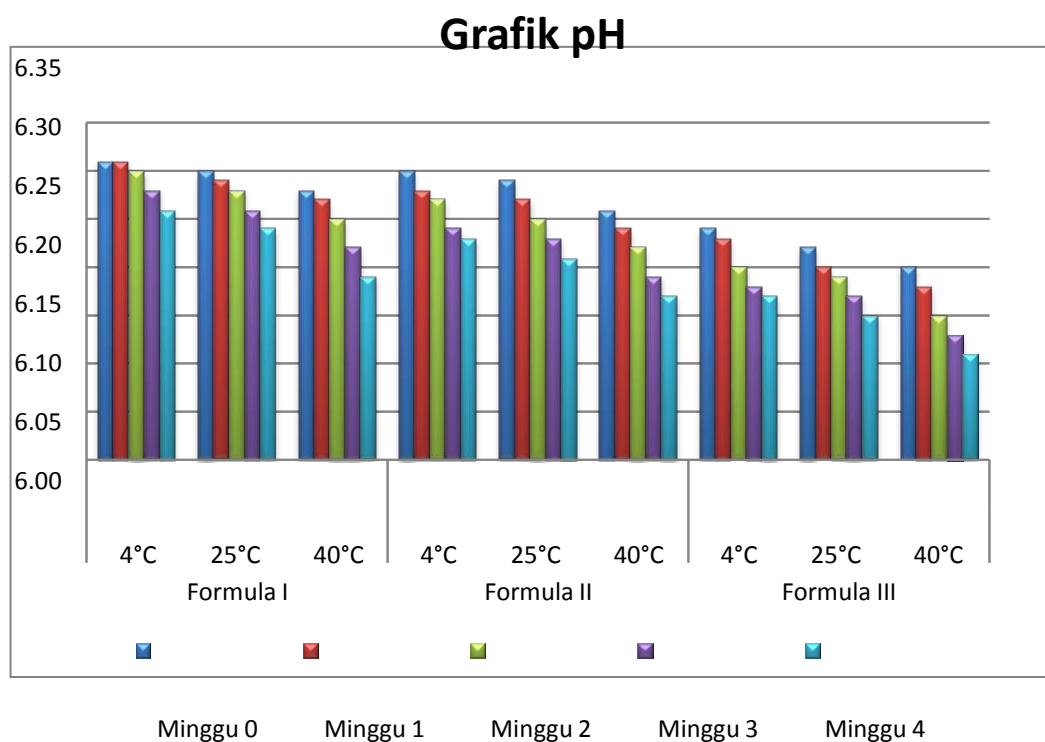
Tabel 7. Hasil Pengamatan Homogenitas

Formula	Kondisi	Waktu (Minggu)			
		1	2	3	4
I	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
II	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen
III	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen	Homogen

4.4.1. Uji pH Sediaan Krim

Tabel 8. Hasil Pengamatan pH Sediaan krim

Formula	Suhu	pH (4,50 - 7.00)				
		Minggu 0	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
Formula I	4°C	6,31	6,31	6,30	6,28	6,26
	25°C	6,30	6,29	6,28	6,26	6,24
	40°C	6,28	6,27	6,25	6,22	6,19
Formula II	4°C	6,30	6,28	6,27	6,24	6,23
	25°C	6,29	6,27	6,25	6,23	6,21
	40°C	6,26	6,24	6,22	6,19	6,17
Formula III	4°C	6,24	6,23	6,20	6,18	6,17
	25°C	6,22	6,20	6,19	6,17	6,15
	40°C	6,20	6,18	6,15	6,13	6,11

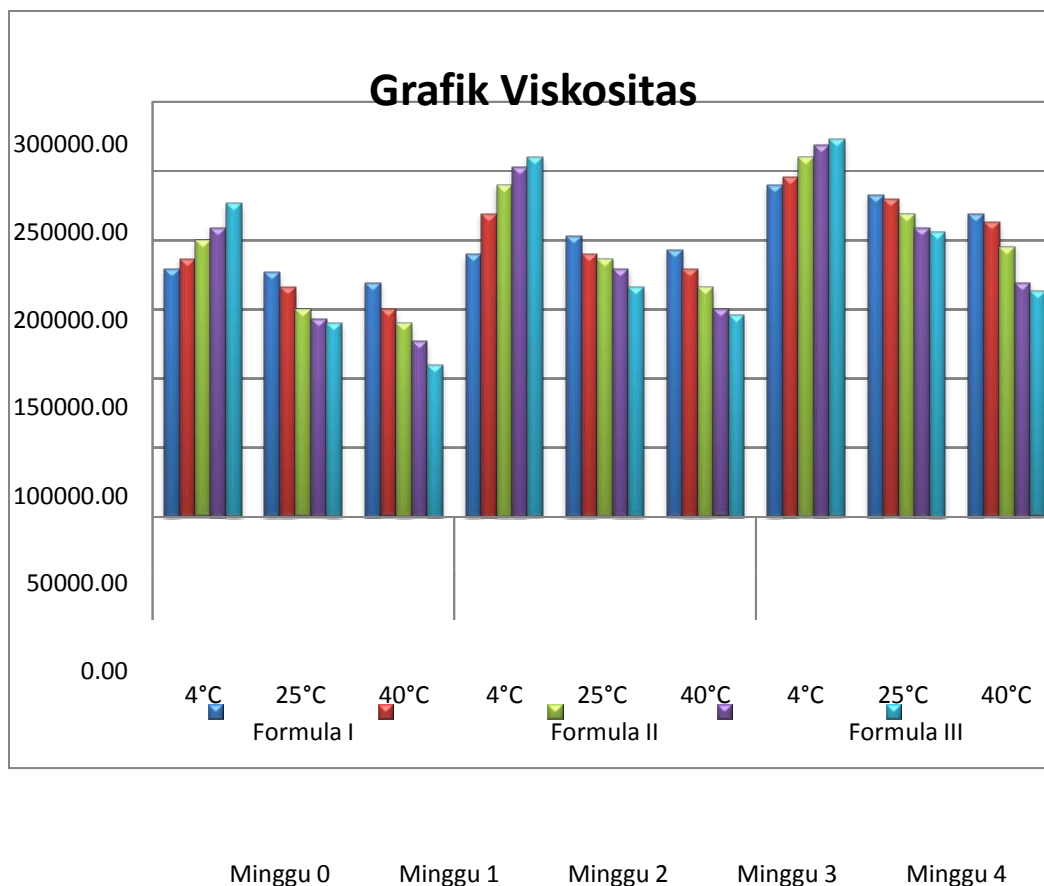


Gambar 5. Grafik Uji pH Sediaan Krim

4.4.1. Uji Viskositas / Kekentalan Sediaan Krim

Tabel 9. Hasil Pengamatan Viskositas Sediaan Krim

Formula	Suhu	Viskositas (cps)				
		Minggu 0	Minggu 1	Minggu 2	Minggu 3	Minggu 4
Formula I	4°C	180000,00	186666,67	200000,00	210000,00	226667,67
	25°C	176666,67	166666,67	150000,00	143333,33	140000,00
	40°C	170000,00	150000,00	140000,00	126666,67	110000,00
Formula II	4°C	190000,00	220000,00	240000,00	253333,33	260000,00
	25°C	203333,33	190000,00	186666,67	180000,00	166666,67
	40°C	193333,33	180000,00	166666,67	150000,00	146666,67
Formula III	4°C	240000,00	246666,67	260000,00	270000,00	273333,33
	25°C	233333,33	230000,00	220000,00	210000,00	206666,67
	40°C	220000,00	213333,33	196666,67	170000,00	163333,33



Gambar 6. Grafik Uji Viskositas Sediaan Krim

4.4.1. Uji Sentrifugasi (Mekanik)

Tabel 10. Hasil Pengamatan Uji Mekanik

Formula	Uji Mekanik
I	Tidak Terjadi Pemisahan Fase
II	Tidak Terjadi Pemisahan Fase
III	Tidak Terjadi Pemisahan Fase

Tabel 11. Hasil Pengamatan *Cycling Test*

Ekstrak	Warna	Warna	Pemisahan Fase
1%	Coklat muda	Coklat muda	Tidak terjadi pemisahan
1,5%	Coklat kemerahan	Coklat kemerahan	Tidak terjadi pemisahan

Krim

Pe
ng
a
m
at
an

Kondisi Awal
Siklus ke-6

2% Coklat tua Coklat tua Tidak terjadi pemisahan

Tabel 12. Hasil Pengamatan Uji Iritasi

Sukarelawan	Gejala								
	Gatal			Merah			Bengkak		
	F1	F2	F3	F1	F2	F3	F1	F2	F3
Intan	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Watty	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Suci	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mauliah	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Diah	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kamelia	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Priska	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Falinda	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Mitha	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Feni	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Rahmat	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Riris	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Solehatun	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Kristin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Wahyu	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ruth	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dwi	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Shinta	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Alex	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ketrin	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan: (-) tidak timbul reaksi iritasi

(+) timbul reaksi iritasi

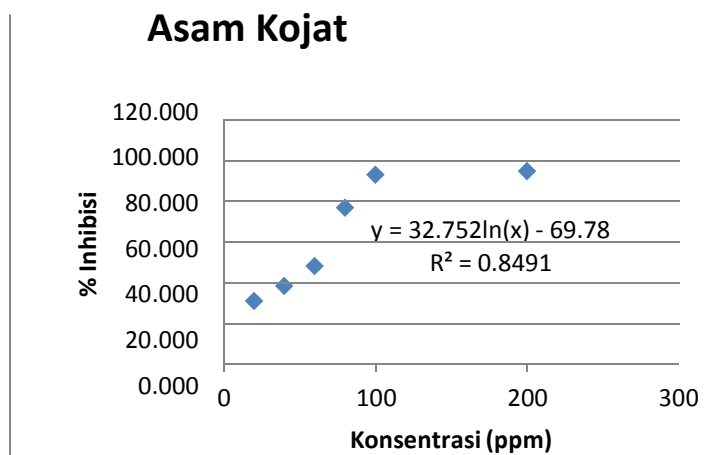
Uji Aktivitas inhibitor enzim tirosinase

Pengujian asam kojat sebagai kontrol positif dilakukan untuk memastikan bahwa metode yang digunakan yaitu dengan membandingkan nilai IC50 yang didapat dengan nilai IC50 dari hasil studi literatur. IC50 adalah konsentrasi suatu inhibitor yang dibutuhkan untuk menghambat setengah dari aktivitas enzim dalam kondisi teruji (Chang, 2009). Asam kojat dipilih sebagai kontrol positif karena asam kojat merupakan senyawa yang digunakan secara luas sebagai pemutih sampai saat ini (Moon *et al*, 2010). Selain itu asam kojat memiliki kestabilan yang paling besar dalam produk kosmetik (Miyazawa dan Tamura, 2007).

Tabel 13. Persentase Penghambatan Aktivitas Enzim Tirosinase oleh Asam Kojat Dengan Substrat L-Tyrosine

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata % inhibisi	IC50
200	98,100	
100	96,364	
80	80,165	38,512
60	51,488	
40	41,736	
20	34,380	

Gambar 7. Kurva Penghambatan Aktivitas Enzim Tyrosinase Oleh Asam Kojat Dengan Substrat L-Tyrosine



Dalam beberapa penelitian yang dilakukan untuk menemukan senyawa baru inhibitor tirosinase, asam kojat sering digunakan sebagai kontrol positif pada waktu yang sama untuk dibandingkan kekuatan inhibisinya (Chang, 2012). Berdasarkan hasil pengujian didapat IC50 asam kojat dengan substrat L-Tyrosine sebesar 38,512 ppm (Tabel 13). Asam kojat menunjukkan penghambatan secara kompetitif dengan kemampuannya membentuk khelat logam tembaga pada situs aktif enzim tirosinase (Chang, 2009). Semakin tinggi konsentrasi asam kojat yang digunakan, maka semakin tinggi kemampuan inhibisinya. Kemampuan inhibisi yang tinggi ditandai dengan penurunan pembentukan dopakrom dan penurunan intensitas warna yang terbentuk.

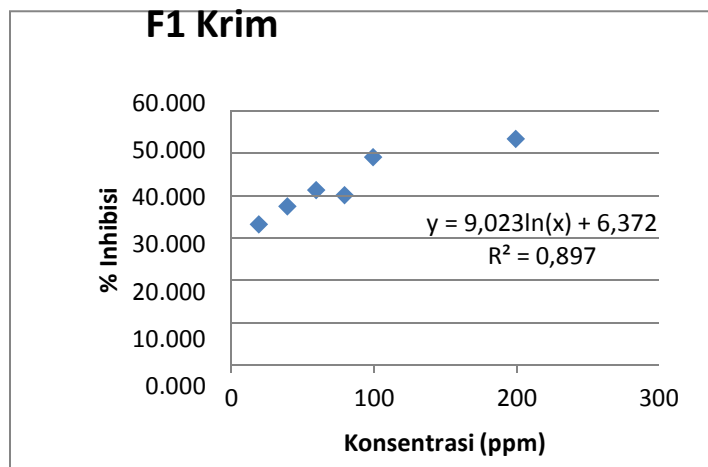
4.5.1. Uji Penghambatan Aktivitas Enzim Tirosinase Sediaan Krim Ekstrak

Etanol Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don)

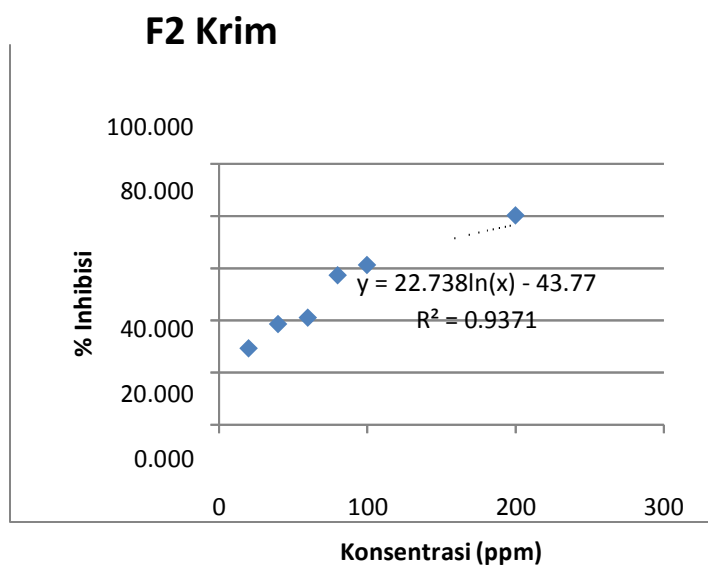
Tabel 14. Persentase Penghambatan Aktivitas Enzim Tirosinase Sediaan Krim Ekstrak Etanol Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don)

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Rata-rata % inhibisi	IC50
F I (1%)	200	55,093	526,192
	100	50,753	
	80	41,725	
	60	42,940	
	40	39,063	
	20	34,838	
F II (1,5%)	200	80,151	317,534
	100	61,169	
	80	57,234	
	60	41,030	
	40	38,542	
	20	29,167	
F III (2%)	200	89,008	128,523
	100	91,157	
	80	53,637	
	60	50,744	
	40	40,331	
	20	33,389	

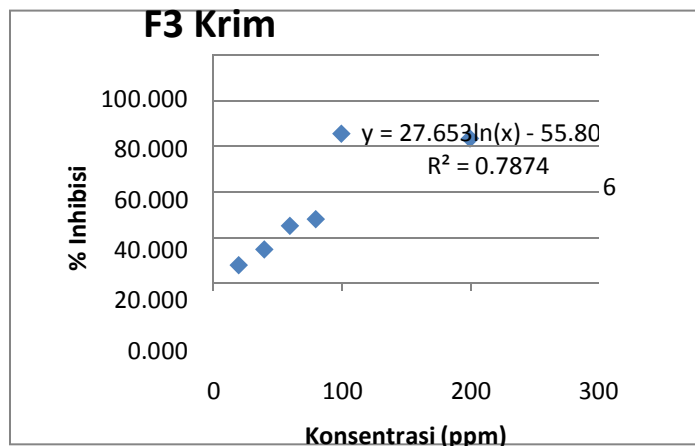
Gambar 8. Kurva Penghambatan Aktivitas Enzim Tirosinase Krim F1 (1%)



Gambar 9. Kurva Penghambatan Aktivitas Enzim Tirosinase Krim F2 (1,5%)



Gambar 10. Kurva Penghambatan Aktivitas Enzim Tirosinase Krim F3 (2%)



Uji penghambatan aktivitas enzim tirosinase sediaan krim ekstrak buah Harendong dilakukan untuk melihat kemampuan sediaan krim ekstrak buah Harendong sebagai inhibitor enzim tirosinase. Berdasarkan hasil yang diperoleh pada tabel 14 maka dapat dilihat F3 memiliki daya penghambatan aktivitas enzim tirosinase yang lebih tinggi dibandingkan dengan F1 dan F2. Hal ini dikarenakan konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam sediaan krim F3 lebih besar dibandingkan dengan F1 dan F2. Sehingga dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka persen inhibisinya semakin meningkat dan IC50 menurun.

Buah Harendong dapat berperan sebagai inhibitor enzim tirosinase karena adanya kandungan senyawa flavonoid. Mekanisme penghambatan yang terjadi adalah penghambatan kompetitif untuk oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase dan bagian 3-hidroksi-4-keto dari struktur flavonoid yang berperan sebagai pengkhelat logam tembaga (Cu) dari struktur enzim tirosinase. Pada umumnya satu molekul enzim tirosinase mengandung dua atom Cu yaitu CuA dan CuB yang terikat dengan asam amino histidin (Chang, 2009). Logam Cu berperan sebagai kofaktor pada aktivitas enzim tirosinase. Kemampuan katalitik enzim tirosinase menjadi berkurang dengan hilangnya Cu dari situs aktif enzim, sehingga dopakrom tidak terbentuk.

Tabel 15. Nilai Potensi Penghambatan Enzim Tirosinase (IC50) (Batubara et al, 2010)

Nilai IC50	Potensi Hambat
≤ 100	Paling kuat
100-450	Sedang
450-700	Lemah

Nilai IC50 sediaan krim ekstrak etanol buah Harendong dengan substrat L-Tyrosin pada F1 sebesar 526,192 ppm, F2 sebesar 317,534 ppm dan F3 sebesar 128,523 ppm menandakan bahwa

sediaan krim tersebut berpotensi cukup kuat atau sedang sebagai inhibitor enzim tirosinase dibandingkan dengan asam kojat. Hal ini sebanding dengan hasil pengujian IC50 ekstrak etanol buah Harendong yang juga memiliki potensi cukup kuat atau sedang dengan nilai IC50 yaitu sebesar 192,157 ppm. keamanan adalah pertimbangan utama dalam pemilihan senyawa sebagai inhibitor tirosinase. Penggunaan asam kojat mulai dibatasi karena menyebabkan iritasi kulit dan kemampuannya masuk ke aliran darah sistemik, sehingga dapat menimbulkan gangguan pada kelenjar tiroid (SCCP EC, 2008). Oleh karena itu, sediaan krim dari ekstrak etanol buah Harendong dengan kandungan senyawa alami yaitu flavonoid masih memiliki peluang untuk dikembangkan sebagai inhibitor tirosinase.

SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. Krim dengan varian ekstrak etanol buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don) stabil secara fisik dan diformulasikan dengan uji organoleptis, homogenitas, viskositas, uji mekanik, pH, cycling test, dan uji iritasi.
2. Sediaan krim tipe M/A dari ekstrak etanol buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don) mempunyai aktivitas inhibitor enzim tirosinase yang cukup kuat/ sedang dengan nilai IC50 masing-masing yaitu F1 (1%) sebesar 526,192 ppm, F2 (1,5%) sebesar 317,534 ppm dan F3 (2%) sebesar 128,523 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Kepada Zuraida Sagala, S.Si., M.Si selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran selama penelitian sehingga peneliti menyelesaikan skripsi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Aiche, J.M. (1993). *Farmasetika 2 Biofarmasi*. Edisi ke-2. Penerjemah: Dr.Widji Soeratri. Surabaya: Penerbit Airlangga University Press. Hal. 444
2. Batubara I, Darusman LK, Mitsunaga T, Rahmniwati M, Djauhari E. 2010. *Potency of Indonesia medicinal plants as tyrosinase inhibitors anf antioxidant agent*. Journal of Biologi Science, 10: 38-144.
3. Cayce, K. A., Amy, J. M., & Steven, R. F. (2004). Hyperpigmentation: An Overview of the Common Afflictin. *Dermatol Nurs* 16(5) :401-416.
4. Chang T. 2009. *An updated review of tyrosinase inhibitor*. International Journal of molecular science: 2440-2476.
5. Departemen Kesehatan RI, 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9-11,16.
6. Fais, A., Corda, M, Era, B., Fadda, M.B., Quezada, E., Santana., Picciau, C., et al. 2009.

7. Nico S, Jana V, Stan P. 2009. The hunt for Natural skin whitening agents. *Int. J. Mol. Sci.* 10: 5326-5349.
8. Soepardiman. 2010. Kelainan Rambut. Dalam: Djuanda, Adhi, dk. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 289.