



PENGARUH EKSTRAK KOMBINASI DAN MIKROEMULSIFIKASI TERHADAP AKTIVITAS HAMBATAN TIROSINASE DAN ANTIOKSIDAN DARI KULIT BATANG NANGKA (*Artocarpus heterophyllus L.*) DAN KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*)

Oleh

Stella Giovanni¹, Ratna Djamil², Deni Rahmat³

Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Pancasila 12460 Jakarta Indonesia

Alamat surat: Petojo Selatan IX/25, 10150, Jakarta Pusat, Indonesia.

Telepon: +62816945758

E-mail: 2ratnadjamilffup@gmail.com

Abstrak

Kulit batang nangka mengandung flavonoid antara lain *artocarpanone* dan kulit buah delima kaya tannin antara lain *ellagic acid* memiliki kemampuan penghambatan tirosinase dan antioksidan secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan (AO) dari ekstrak kulit batang nangka, ekstrak kulit buah delima, kombinasi ekstrak kulit batang nangka dan kulit buah delima dan ekstrak mikroemulsi kulit batang nangka, ekstrak mikroemulsi kulit buah delima dan ekstrak kombinasi mikroemulsi (MCE) kulit batang nangka (*Artocarpus heterophyllus L.*) dan kulit buah delima (*Punica granatum L.*) memiliki efek mencerahkan kulit secara alami untuk depigmentasi. Ekstrak kulit kental batang nangka diperoleh dengan maserasi kinetik dengan etanol 96% dan ekstrak kering kulit buah delima dengan maserasi kinetik panas etanol 50%. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas penghambatan tirosinase dan aktivitas antioksidan nya dengan metode inhibisi enzim tirosinase dan metode DPPH. Hasil dari skrining fitokimia simplisia kulit batang nangka mengandung alkaloid, saponin, tannin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, glikosida; dari simplisia kulit buah delima mengandung saponin, tannin, fenolik, flavonoid, glikosida. Parameter mutu dari simplisia kulit batang nangka antara lain kadar air 7,25%, kadar sari larut air 8,6%, kadar sari yang larut etanol 5,85%, kadar abu total 8,6%, kadar abu tidak larut asam 0,97%. Hasil uji parameter mutu pada simplisia kulit buah delima antara lain kadar air 9,46%, kadar sari larut air 39,06%, kadar sari larut etanol 14,33%, kadar abu total 3,56%. Hasil uji parameter mutu dari ekstrak kulit batang nangka kadar air 9,82%, kadar abu 0,59%, sisa pelarut etanol 104,64 ppm, total flavonoid 0,33% IC₅₀ tirosinase 254,2ppm, IC₅₀ antioksidan 61,1 ppm dan pada ekstrak kering kulit buah delima kadar air 6,99%, kadar abu 0,59%, sisa pelarut etanol 70,41 ppm, kadar tanin 40,64%, IC₅₀ tirosinase 294,2 ppm, IC₅₀ antioksidan 45,9 ppm, cemaran logam pada masing-masing ekstrak Pb<0,357 ppm, Cd <0,002 ppm. Pada kombinasi ekstrak mengalami peningkatan IC₅₀ tirosinase 56,7 ppm, IC₅₀ antioksidan 43,5 ppm. Pada ekstrak mikroemulsi kulit batang nangka IC₅₀ tirosinase 23,4 ppm, IC₅₀ antioksidan 66 ppm dan ekstrak mikroemulsi kulit buah delima IC₅₀ tirosinase 61,4 ppm dan IC₅₀ antioksidan 10,8 ppm dan kombinasi ekstrak mikroemulsi dengan nilai IC₅₀ tirosinase 33 ppm dan IC₅₀ antioksidan 18,3 ppm. Hasil ukuran partikel pada mikroemulsi kombinasi ekstrak 120,5 nm, Pdi 0,4, *zeta potential* -35 mV, hasil TEM berbentuk sferis. Kesimpulan: inhibitor tirosinase dari ekstrak kombinasi menunjukkan efek sinergis. Ekstrak mikroemulsi memiliki pengaruh yang signifikan disbanding ekstrak. Aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan memiliki efek sinergis

Kata Kunci: Antioksidan, Inhibit Tirosinase, Mikroemulsi, Kulit Batang Nangka, Kulit Buah Delima, Pencerah Kulit, *Punica Granatum L*, *Artocarpus Heterophyllus L*.



PENDAHULUAN

Hiperpigmentasi adalah salah satu masalah kulit yang paling umum (1). Jenis hiperpigmentasi dapat berupa melasma, lentiginos, nevus, ephelis, freckles, *post-inflammatory hyperpigmentation* (PIH) dan age spot (2)(3). Penyebab hiperpigmentasi termasuk UV, hormone, kontrasepsi oral, obat epilepsy, obat peradangan jangka panjang. Produk pencerah kulit komersial umumnya mengandung senyawa yang menghambat enzim tyrosinase dan mekanisme lain yang menargetkan pencerah kosmetik adalah modulasi MC1R, menghambat *Reactive Oxygen Species* (ROS), penghambatan transfer melanosomes, atau dengan peningkatan penyebaran melanin (4)(5)(6).

Penggunaan kosmetik berbahan alami akhir-akhir ini semakin meningkat sejalan dengan peraturan dan larangan penggunaan bahan kimia kosmetik karena efeknya yang buruk bagi kulit. Indonesia kaya akan keanekaragaman hayati yang dapat digunakan sebagai bahan aktif kosmetik alami. Banyak tanaman memiliki penghambat tyrosinase dan antioksidan (7).

Salah satu bahan tumbuhan yang berpotensi sebagai pencerah alami antara lain kulit batang nangka (8)(9)(10) dan kulit buah delima (11)(12). Penelitian ini dikondisikan untuk focus pada evaluasi penghambatan tyrosinase dan antioksidan dari kombinasi ekstrak kulit batang nangka dan ekstrak kulit buah delima. Selain itu juga dilakukan evaluasi pengaruh pengurangan ukuran partikel dalam bentuk mikroemulsi terhadap peningkatan aktivitas.

Penelitian tersebut merupakan penelitian terkait aktivitas inhibitor enzim tyrosinase pada kulit batang nangka dan kulit buah delima (15). Enzim tyrosinase merupakan kunci utama dalam proses melanogenesis (16), yang memicu proses pigmentasi (17)(18). Kedua bahan ekstrak tumbuhan ini dapat dikombinasikan sebagai agen depigmentasi alami dengan mekanisme penghambatan

tyrosinase, diharapkan efek sinergis dari kombinasi ekstrak tersebut.

Pendekatan teknologi mikroemulsi dengan ukuran 20-200 nm, spontan (19), lebih stabil dibandingkan dengan jenis emulsi lainnya termasuk nano

METODE PENELITIAN

Kulit batang nangka dimaserasi dengan etanol 96% dan kulit buah delima dimaserasi dengan etanol 50% dan ekstraksi refluks 70°C dan dilakukan optimalisasi kombinasi ekstrak dalam bentuk mikroemulsi. Uji aktivitas antioksidan dan penghambatan tyrosinase ekstrak kulit batang nangka (JE), ekstrak kulit buah delima (PE), ekstrak kombinasi (CE) dan ekstrak mikroemulsi JE (MJE), mikroemulsi PE (MPE), dan MCE diuji secara *in vitro* menggunakan ELISA untuk menguji penghambatan tyrosinase dan DPPH untuk antioksidan.

Sampel

Kulit nangka dan kulit buah delima diperoleh dari Balai Penelitian Tanaman Rempah dan Obat Indonesia (BALITRO) di Bogor, Jawa Barat, Indonesia. Kulit batang nangka memiliki nomor identifikasi taksonomi tumbuhan 837/IPH.1.01/If.07/VIII/2020. Kulit buah delima memiliki nomor identifikasi taksonomi tumbuhan 667/IPH.1.01/If.07/VI/2020.

Bahan kimia dan reagen

Ethanol 96% (Brataco), HCL (Merck), DMSO (Merck), KH₂PO₄ (Brataco), Aquadest (Brataco), NaOH, L-Tyrosine (Sigma - Aldrich), Enzim Tyrosinase T3824-25 KU (Sigma- Aldrich), Kojic acid (Sigma-Aldrich), Transcutol CG (Gattefossè), PEG 40 HCO (Clariant), propylene glycol (Dow chemical pacific), PEG 400 (Dow Chemical).

Uji senyawa pada bahan tanaman kering. Pengujian kelas senyawa dilakukan berdasarkan metode yang dikembangkan oleh Harborne (20). Uji ini meliputi uji alkaloid, saponin, tanin, fenolat, flavonoid, triterpenoid, glikosida.



Ekstraksi. Ekstraksi kulit batang nangka dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan larutan etanol 96% dengan perbandingan 1:20 selama 2 jam dan diulang sebanyak 3 kali, hasilnya disaring dan ekstrak yang diperoleh dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary evaporator* menjadi ekstrak kental. Ekstraksi kulit buah delima dilakukan dengan metode maserasi panas 60-70°C menggunakan pelarut etanol 50% dengan perbandingan 1:10 selama 2 jam dan diulang sebanyak 3 kali. Hasilnya disaring dan etanol dipisahkan dari ekstraknya menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak cair bebas etanol. Kemudian diasamkan hingga mencapai pH 2. Endapan yang terbentuk dipisahkan dan dikeringkan dengan *freeze drying*. Ekstrak kulit buah nangka diuji kadar flavonoid totalnya, sedangkan ekstrak kulit buah delima diuji kadar taninnya. Setelah itu, kedua ekstrak dievaluasi kualitasnya.

Penentuan kadar flavonoid total kulit batang nangka/ Ekstrak etanol kulit batang nangka.

Pengukuran kandungan flavonoid total pada ekstrak kulit batang nangka dilakukan dengan menggunakan metode aluminium klorida (AlCl₃) dan spektrofotometer UV-Vis menurut Chang (21). Penyerapan diukur pada 434,2 nm. Untuk mengetahui kadar flavonoid pada kulit batang nangka diambil 5,0 g ekstrak ditambah 25 ml metanol, ekstrak diaduk selama 25 jam dengan kecepatan 200 rpm. Selanjutnya dilakukan penyaringan dan filtrat yang diperoleh ditambahkan 25 ml metanol. Larutan uji disiapkan dengan mengambil 1 ml ekstrak dan kemudian menambahkan hingga 10 ml etanol dalam labu ukur. 0,5 ml larutan digunakan sebagai larutan uji. Setiap pengukuran absorbansi dibandingkan dengan blanko. Tes dilakukan dalam tiga kali lipat. Kadar flavonoid dapat dihitung dengan menggunakan rumus:

$$c \times V \times f \times 10^{-6} \times 100\%$$

Informasi:

F : jumlah flavonoid dengan metode AlCl₃

c : kesetaraan quercetin (µm/ml)

V : volume total ekstrak

f : faktor pengenceran

m : berat sampel (g)

Penentuan kandungan tanin ekstrak kulit buah delima. Penentuan kadar tanin dilakukan dengan menggunakan metode yang dikembangkan dengan metode Cunniff, 1996 (22)

Persiapan Reagen Folin-Denis. Ditambahkan 100 g natrium tungstat, 20 g asam fosfomolibdat dan 50 ml asam fosfat 85% ke dalam 750 ml air suling. Kemudian larutan direfluks selama 3 jam sebelum didinginkan dan disesuaikan menjadi 1 L dengan air suling.

Membuat larutan Na₂CO₃ jenuh Anhidrat. Ditambahkan 35 gram Na₂ CO₃ anhidrat ke dalam 100 ml destilasi suhu 70-80°C, diaduk hingga larut.

Pembuatan larutan standar. Ditambahkan 100 mg asam tanat ke dalam labu takar 100 ml berisi air suling, ratakan dan homogenkan. Standar asam tanat, 1 ml = 1 mg asam tanat. Larutan disiapkan untuk setiap analisis.

Kurva standar. Ditambahkan 2 ml reagen Folin Denis ke dalam labu ukur 100 ml yang diisi dengan 50-70 ml air suling. Kemudian larutan baku asam tanat di ambil dengan pipet masing-masing 0,1, 0,2, 0,4, 0,6, 0,8, dan 1 ml, tambahkan 5 ml Na₂ CO₃ jenuh dan ditepatkan hingga 100 ml dengan akuades. Larutan dihomogenkan dan dibiarkan selama 40 menit, kemudian diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada 725 nm.

Persiapan sampel. Ditambahkan 2 g sampel ke dalam labu didih 500 ml kemudian ditambahkan 350 ml akuades, larutan kemudian direfluks selama 3 jam. Hasilnya didinginkan, disaring dan dipindahkan secara kuantitatif ke dalam labu ukur 500 ml dan ditepatkan dengan akuades kemudian dihomogenkan. Sebanyak 2 ml filtrat dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml dan ditambahkan 2 ml reagen Folin Denis, dan 5 ml Na₂CO₃ jenuh. Larutan di atur dengan akuades yang dihomogenkan dan dibiarkan selama 40 menit, kemudian diukur



absorbansinya menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 725 nm.

Kandungan tanin dihitung dengan persamaan berikut:

$$\text{Kandungan Tanin (\%)} = (X \times F_p \times 1000) / B \times 100\%$$

X = jumlah tanin dalam sampel (mg), X didapat dari persamaan regresi linier $Y = a + b X$

B = berat sampel (g)

Formulasi Mikroemulsi Ekstrak

Tabel 1. Formulasi Mikroemulsi JE dan PE.

	F1(%)	F2(%)
Ekstrak PE	20	
Ekstrak JE		20
PEG 400	20	20
PEG 40 HCO	20	20
Transcutol CG	20	20
Propilen Glikol	20	20

Pembuatan mikroemulsi kombinasi ekstrak mengikuti formula seperti yang tercantum pada tabel 1.

Tabel 2 Formula Optimasi Ekstrak Kombinasi Mikroemulsi

	F1(%)	F2(%)
Ekstrak PE	10	10
Ekstrak JE	10	10
PEG 400	20	15
PEG 40 HCO	20	25
Transcutol CG	20	20
Propylene glycol	20	20

Sejumlah ekstrak sesuai persentasenya dilarutkan dalam PEG 400 kemudian diaduk secara manual dan ditambahkan PEG 40 HCO dan transcutol. Campuran kemudian diaduk dengan pengaduk pada suhu 75°C selama 30 menit dan ditambahkan propilen glikol kemudian diaduk dengan pengaduk selama 30 menit, dan disonikasi pada suhu 40°C 50 rpm selama 30 menit. F2 memiliki larutan yang homogen dan transparan.

Uji Aktivitas Pemulungan DPPH dengan Vitamin C sebagai kontrol positif Antioksidan.

Persiapan larutan DPPH (100 µg/ml)

5 mg DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) dilarutkan dalam etanol hingga 50 ml.

Persiapan kontrol positif sebagai Vitamin C

Larutan vitamin C 100 ppm, ditimbang 2,5 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol PA hingga 25 mL

Vitamin C 100 ppm kemudian diencerkan menjadi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Masing-masing dilarutkan dalam etanol hingga 10 ml

Pengukuran dengan panjang gelombang 515 nm, dan ditentukan persamaan regresi linier antara konsentrasi dan % inhibisi.

Persiapan sampel

Contoh Ekstrak dan Ekstrak Mikroemulsi Ekstrak sebanyak 25 mg dilarutkan dengan etanol hingga 25 ml.

Buatlah larutan kombinasi ekstrak (1:1) 100 ppm dengan bobot 12,5 mg PE/JE serta ekstrak dicampur dan dilarutkan dengan etanol PA hingga 25 ml.

100 ppm kemudian diencerkan menjadi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Masing-masing dilarutkan dalam etanol hingga 10 ml.

Contoh Ekstrak Kombinasi dan Mikroemulsi Kombinasi

Perhitungan sampel kombinasi ekstrak/mikroemulsi yang harus ditimbang dengan kombinasi 1:1

$$\text{Ekstrak buah delima (PE)} = x \ 25 \text{ mg} = 12,5 \text{ mg}$$

$$\text{Ekstrak Nangka (JE)} = x \ 25 \text{ mg} = 12,5 \text{ mg}$$

Kombinasi 100 ppm kemudian diencerkan menjadi 40 ppm, 80 ppm, 120 ppm, 160 ppm, dan 200 ppm. Masing-masing dilarutkan etanol hingga 10 ml. dan setelah 30 menit, absorbansi diukur pada 515nm dengan spektrofotometer UV-Visible. DPPH (Free Radical Scavenging Capacity Assay) menurut formula yang sama dengan penghambat tirosinase.



Uji Penghambatan Tirosinase dengan Asam Kojat sebagai Kontrol Positif (10)

Uji penghambatan tirosinase didasarkan pada metode yang dilaporkan oleh Arung dengan sedikit modifikasi.

Pembuatan buffer fosfat 0,1M pH 6,8

Kalium dihidrogen fosfat (BM: 136,09) ditimbang sebanyak 1,3609 g, kemudian dilarutkan dalam 100 ml akuades. Sebanyak 22,4 ml larutan NaOH 0,2M ditambahkan ke dalam larutan dan ditambahkan aquadest hingga tepat 200 ml. pH diukur hingga mencapai pH 6,8 (23).

Persiapan larutan substrat L-tirosin 2 mM

18,2 mg L-tirosin dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml yang dilarutkan dalam buffer fosfat 0,1M pH 6,8. Volume ditepatkan menjadi 100 ml kemudian disonikasi selama 5 menit dengan konsentrasi 2,5 mM kemudian dipipet sebanyak 8 ml 2,5 mM tambahkan aquadest 10 ml.

Persiapan larutan enzim tirosinase

Tirosinase ditimbang dengan hati-hati sebanyak 0,0859 mg dilarutkan dalam 0,1 M dapar fosfat pH 6,8 dalam labu ukur 10 ml dengan konsentrasi 496 U/ml, kemudian dipipet sebanyak 3,357 ml hingga 5 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 333 U/ml.

Persiapan larutan kontrol positif asam kojat

5 mg dan dilarutkan dengan larutan dapar fosfat 0,1 M, pH 6,8 dalam labu ukur 10 ml, diperoleh konsentrasi 500 µg/ml. kemudian diambil dengan menggunakan pipet 2 ml larutan kojic acid dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan diencerkan dengan larutan dapar fosfat. Kemudian larutan asam kojat diencerkan hingga diperoleh konsentrasi asam kojat 2,5 µg/ml, 5 µg/ml, 10 µg/ml, 20 µg/ml, 50 µg/ml.

Uji larutan sampel asam kojat

Sebanyak 80µL larutan buffer fosfat 0,1M, pH 6,8, 40µL larutan asam kojat, 40µL larutan L-tirosin dan 40µL larutan enzim tirosinase dimasukkan ke dalam 96 sumur pelat mikrotiter. Setiap sampel dibuat blanko dimana larutan enzim tirosinase tidak ditambahkan.

Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C diukur pada panjang gelombang 510 nm.

Persiapan larutan sampel uji

Ekstrak diambil sebanyak 20 mg dilarutkan dalam 5 ml DMSO (dimethyl sulfoxide) sehingga konsentrasi mencapai 4000 g/ml kemudian dengan larutan buffer fosfat 0,1 M pH 6,8 diperoleh larutan dengan konsentrasi 37,5 µg/ml, 75 µg/ml, 125 µg/ml, 250 µg/ml, 500 µg/ml, 1000 µg/ml, 2000 µg/ml. Kombinasi ekstrak 10 mg ekstrak kulit batang nangka dan 10 mg ekstrak kulit buah delima diambil, kemudian keduanya dilarutkan dalam 5 ml DMSO. Prosedur selanjutnya mengikuti persiapan larutan sampel ekstrak tunggal. Untuk ekstrak mikroemulsi gabungan, 20 mg mikroemulsi ekstrak gabungan ditimbang dan dilarutkan dalam 5 ml DMSO. Ikuti pembuatan larutan sampel ekstrak.

Pengujian larutan sampel uji.

Total 120 µl larutan buffer fosfat 0,1 M, pH 6,8, 40 µl larutan sampel, 40 µl larutan L-tirosin 2 mM, 40 µl larutan enzim tirosinase 333U/ml dalam pelat mikrotiter 96 sumur. Dan diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C dan dibaca absorbansinya dengan ELISA reader dengan panjang gelombang 510 nm dan dihitung daya hambatnya dengan rumus sebagai berikut :

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

A = Nilai absorbansi tanpa penambahan inhibitor (larutan buffer fosfat 0,1 M pH 6,8, larutan L-tirosin 2mM, larutan tirosinase). A mewakili perbedaan absorbansi sampel kontrol antara sampel dan tanpa tirosinase.

B = Nilai absorbansi dengan penambahan inhibitor (larutan penyangga fosfat 0,1M, larutan L-tirosin, larutan sampel, dan larutan tirosinase). B mewakili perbedaan sampel uji antara sampel dengan dan tanpa tirosinase.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Kulit batang Nangka (JE). Rendemen nangka 12,2%, DER-Native 8,2. Hasil skrining fitokimia mengandung alkaloid,



saponin, tanin, fenolat, flavonoid, triterpenoid, dan glikosida. Parameter uji mutu ekstrak yaitu kadar flavonoid total 0,33%, kadar air 9,82%, kadar abu 0,59%, sisa pelarut etanol 104,7 ppm, cemaran logam Pb, Cd tidak terdeteksi dan pH 5,96.

Tabel 3. Karakterisasi Ekstrak Kulit Batang Nangka dan Ekstrak Kulit Buah Delima

Parameter Uji Mutu	Ekstrak Kulit Batang Nangka (JE)	Ekstrak Kulit Buah Delima (PE)
Kadar Air (%)	9,82	6,99
Kadar Abu (%)	0,59	0,59
Sisa Pelarut (ppm)	104,64	70,41
Cemaran logam berat (ppm)	Tidak Terdeteksi (%)	Tidak Terdeteksi (%)
pH	5,96	4,22
Total Flavonoid (%)	0,33	
Kadar Tanin (%)		40,64

Ekstrak Kulit Buah Delima (PE). Hasil kulit delima 8%, DER-native 12,5. Hasil skrining fitokimia bahan tumbuhan kering mengandung glikosida, saponin, tanin, fenolik, triterpenoid, dan flavonoid. Parameter mutu ekstrak kulit buah delima meliputi: kadar tanin 40,64%, kadar air 6,99%, kadar abu 0,59%, sisa pelarut etanol 70,41 ppm, cemaran logam Pb dan Cd tidak terdeteksi dan pH 4,22.

Formula Ekstrak Mikroemulsi. Hasil karakterisasi formula mikroemulsi kombinasi ekstrak dengan perbandingan ekstrak 1:1 dapat dilihat pada tabel 2.

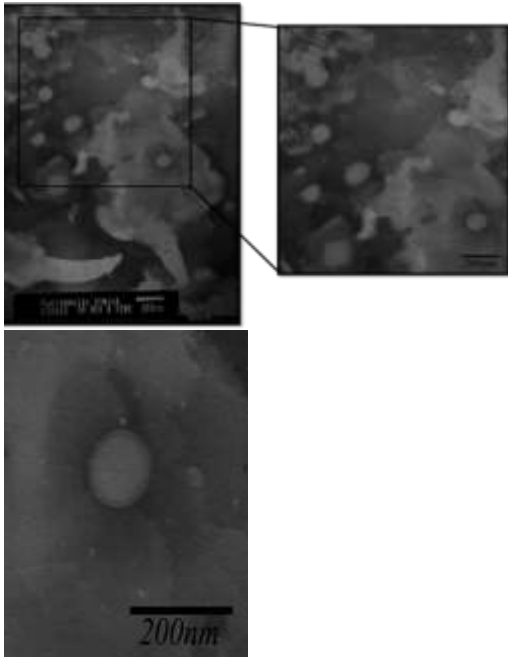
Tabel 4. Ringkasan ekstrak IC₅₀ dan ekstrak mikroemulsi

No	Sample	IC ₅₀ (µg/mL) Aktivitas Hambatan Tirosinase		IC ₅₀ (µg/mL) Aktivitas Antioksidan	
		Ekstra k	Ekstrak Mikroemu lsi	Ekstra k	Ekstrak Mikroemu lsi
1	Asam Kojat / Asam askorbat (kontrol positif)	35,9	35,9	4,58	4,58
2	Ekstrak kulit Batang Nangka (JE)	254,2	23,4	61,1	66
3	Ekstrak Kulit Buah Delima (PE)	294,18	61,4	45,9	10,8
4	Kombina si Ekstrak	56,67	33	43,5	18,3

Tabel 5. Hasil Ukuran Partikel (PSA) dan Poly Disperity Index (PdI) Ekstrak Kombinasi Mikroemulsi

Paramet er	Mikroemu lsi Formula 1	Mikroemulsi on Formula 2
PSA	120.5 nm	214.1 nm
PdI	0.382 nm	0.419 nm

Hasil tersebut menunjukkan bahwa mikroemulsi yang memenuhi syarat adalah formula F1 dimana ukuran partikel dibawah 200 nm, *Polydispersity Index* (PdI) dibawah 0,8. Nilai zeta potensial mikroemulsi Formula 1 adalah -35mV, memenuhi persyaratan lebih dari ±30 mV. Analisis TEM menunjukkan bahwa partikel mikroemulsi berbentuk bulat, dengan ukuran di bawah 200 nm. dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil TEM. Bentuk bola dan konfirmasi ukuran partikel di bawah 200 nm.

Aktivitas penghambatan tirosinase dan aktivitas antioksidan

Hasil uji daya hambat tirosinase menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang nangka (JE) memiliki IC_{50} 254,2 ppm, sedangkan ekstrak kulit buah delima yang kaya tanin memiliki IC_{50} sebesar 294,2 ppm. Sedangkan aktivitas penghambatan tirosinase kombinasi ekstrak menunjukkan peningkatan sekitar 5-6 kali lipat dengan nilai IC_{50} sebesar 56,7 ppm. Hasil ini menunjukkan adanya efek sinergis pada kombinasi ekstrak kulit nangka dan kulit buah delima.

Pada mikroemulsi terjadi peningkatan aktivitas penghambatan tirosinase sekitar 2-5 kali lipat. Nilai IC_{50} ekstrak mikroemulsi kulit batang nangka sebesar 23,4 ppm, untuk ekstrak mikroemulsi kulit buah delima kaya tanin sebesar 61,4 ppm. Sedangkan kombinasi ekstrak mikroemulsi IC_{50} sebesar 33 ppm. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ketiga mikroemulsi tergolong inhibitor kuat. Hasil ini menunjukkan efek pengurangan ukuran partikel.

Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan JE memiliki IC_{50} 61,1 ppm, dan pada PE 45,9, dan kombinasi 43,5 ppm. Pada bentuk ekstrak mikroemulsi, JE memiliki IC_{50} 77,54 ppm, PE memiliki IC_{50} 12,45 ppm, dan kombinasi 23,59 ppm. Ekstrak kulit buah delima (PE) lebih kuat dalam aktivitas antioksidan, dan ekstrak kulit bengkuang lebih kuat dalam aktivitas penghambat tirosinase. Inhibitor tirosinase dan antioksidan memiliki keterkaitan dalam mencerahkan kulit dengan menghambat produksi melanin.

Biosintesis melanin terutama tergantung pada aktivitas tirosinase dan radiasi UV (26), ketika terkena radiasi ultraviolet, kulit manusia menghasilkan spesies oksigen reaktif (ROS), yang tingkat kerusakan ROS yang diinduksi ke sel epidermis dapat menyebabkan pelepasan penginduksi pigmentasi endokrin oleh memobilisasi hormon perangsang α -melanosit di epidermis dan merangsang melanosit untuk menghasilkan melanin (27) dan menghasilkan pigmen. Dengan kombinasi mikroemulsi kulit batang nangka dan ekstrak kulit buah delima memiliki kombinasi sinergis untuk depigmentasi dengan inhibitor tirosinase kuat (tirosinase enzim pertama dalam konversi tirosin menjadi melanin, dan menentukan pigmen dan antioksidan kuat (sebagai ROS scavenging menghambat stimulasi melanosit), dan dengan bentuk mikroemulsi penetrasi sistem pengiriman baik.

Diskusi

Asam kojat IC_{50} sebagai kontrol positif dengan L-tirosin sebagai substrat sebesar 35,9 ppm, dan antioksidan IC_{50} sebagai kontrol asam askrobat positif 4,58.

Ekstrak kulit batang nangka dan ekstrak kulit buah delima menunjukkan adanya efek sinergis dari kedua ekstrak tersebut. Dan pada pengurangan ukuran partikel (mikroemulsi) menunjukkan peningkatan aktivitas baik pada penghambatan tirosinase maupun aktivitas antioksidan. Dalam bentuk ekstrak, penghambatan aktivitas tirosinase sedang, sedangkan dalam bentuk mikroemulsi



penghambatan aktivitas tirosinase kuat dalam antioksidan baik aktivitas kuat dalam ekstrak PE maupun mikroemulsi.

Aktivitas penghambat tirosinase kombinasi ekstrak menunjukkan peningkatan 5-6 kali lipat, yang menunjukkan efek sinergis. Setelah terbentuk pada mikroemulsi terjadi peningkatan aktivitas penghambatan tirosinase 2-5 kali lipat, pada mikroemulsi JE, mikroemulsi PE, dan MCE. Dalam aktivitas antioksidan IC₅₀ lebih kuat 2-3 kali dalam bentuk mikroemulsi PE dan MCE

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Sholikha M, Wulandari A. Phytochemical Screening And Tyrosinase Inhibition Activity Of Leaves *Cassia siamea* L. J Midpro [Internet]. 2020 Dec 1;12(2):198. Available from: <http://jurnalkesehatan.unisla.ac.id/index.php/midpro/article/view/240>
- [2] Mohiuddin AK. Skin Lightening & Management of Hyperpigmentation. 2019;2(2).
- [3] Ogbechie-Godec OA, Elbuluk N. Melasma: an Up-to-Date Comprehensive Review. *Dermatol Ther (Heidelb)*. 2017;7(3):305–18.
- [4] Desmedt B, Courselle P, De Beer JO, Rogiers V, Grosber M, Deconinck E, et al. Overview of skin whitening agents with an insight into the illegal cosmetic market in Europe. *J Eur Acad Dermatol Venereol*. 2016;30(6):943–50.
- [5] Couteau C, Coiffard L. Overview of skin whitening agents: Drugs and cosmetic products. *Cosmetics*. 2016;3(3).
- [6] Wang Y, Hao M-M, Sun Y, Wang L-F, Wang H, Zhang Y-J, et al. Synergistic Promotion on Tyrosinase Inhibition by Antioxidants. *Molecules* [Internet]. 2018 Jan 4;23(1):106. Available from: <http://www.mdpi.com/1420-3049/23/1/106>
- [7] Batubara I, Darusman LK, Mitsunaga T, Rahminiwati M, Djauhari E. Potency of Indonesian medicinal plants as tyrosinase inhibitor and antioxidant agent. Vol. 10, *Journal of Biological Sciences*. 2010. p. 138–44.
- [8] Prakash O, Kumar R, Mishra A, Gupta R. *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit)_ An overview Prakash O, Kumar R, Mishra A, Gupta R - *Phcog Rev*. 2009;(6):353–8.
- [9] Nguyen HX, Nguyen NT, Nguyen MHK, Le TH, Do TN, Hung TM, et al. Tyrosinase inhibitory activity of flavonoids from *Artocarpus heterophyllous*. *Chem Cent J*. 2016;10(1):4–9.
- [10] Arung ET, Shimizu K, Kondo R. Inhibitory effect of artocarpanone from *Artocarpus heterophyllus* on melanin biosynthesis. *Biol Pharm Bull*. 2006;29(9):1966–9.
- [11] Yoshimura M, Watanabe YW, Kasai K, Amakoshi JY, Oga TK. Inhibitory Effect of an Ellagic Acid-Rich Pomegranate Extract on Tyrosinase Activity and Ultraviolet-Induced Pigmentation. 2005;69(12):2368–73.
- [12] Gil MI, Tomas-Barberan FA, Hess-Pierce B, Holcroft DM, Kader AA. Antioxidant activity of pomegranate juice and its relationship with phenolic composition and processing. *J Agric Food Chem*. 2000;48(10):4581–9.
- [13] Wang HM, Chen CY, Wen ZH. Identifying melanogenesis inhibitors from *Cinnamomum subavenium* with in vitro and in vivo screening systems by targeting the human tyrosinase. *Exp Dermatol*. 2011;20(3):242–8.
- [14] Sharma S-YS, Vinay K. Sharma, Niti. Mushroom Tyrosinase: Recent Prospects. *J Agric Food Chem*. 2003;(51):2837–53.
- [15] Zheng ZP, Cheng KW, To JTK, Li H, Wang M. Isolation of tyrosinase inhibitors from *Artocarpus heterophyllus*



- and use of its extract as antibrowning agent. *Mol Nutr Food Res.* 2008;52(12):1530–8.
- [16] Masum MN, Yamauchi K, Mitsunaga T. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources as skin-lightening agents. Vol. 7, *Reviews in Agricultural Science.* 2019.
- [17] Nurrochmad A, Wirasti W, Dirman A, Lukitaningsih E, Rahmawati A, Fakhruddin N. Effects of Antioxidant, Anti-Collagenase, Anti-Elastase, Anti-Tyrosinase of The Extract and Fraction From *Turbinaria decurrens* Bory. *Indones J Pharm* [Internet]. 2018 Dec 17;29(4):188. Available from: <http://indonesianjpharm.farmasi.ugm.ac.id/index.php/3/article/view/1422>
- [18] Chang T. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. 2009;(Figure 1):2440–75.
- [19] Azeem A, Rizwan M, Ahmad F, Iqbal Z, Khar R, Aqil M, et al. Emerging Role of Microemulsions in Cosmetics. *Recent Pat Drug Deliv Formul.* 2008 Feb 1;2:275–89.
- [20] Harborne, J.B 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisa Tumbuhan.* (Kosasih Padmawinata). ITB. Bandung. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan.* 2nd ed. ITB; 1987.
- [21] Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colometric methods. *J Food Drug Anal.* 2002;10(3):178–82.
- [22] cuniff p. official methods of analysis of AOAC international. 16th ed. USA; 1996.
- [23] Noor SU, Faridah, Magdalena P. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Tirosinase In-Vitro Krim Ekstrak Akar Manis (*Glycyrrhiza glabra* L.). *J Ilmu Kefarmasian Indonesia.* 2018;16(2):150–8.
- [24] Alamsyah N, Djamil R, Rahmat D. Antioxidant activity of combination banana peel (*Musa paradisiaca*) and watermelon rind (*Citrullus vulgaris*) extract in lotion dosage form. *Asian J Pharm Clin Res.* 2016;9:300–4.
- [25] Üstündağ Okur N, Çağlar EŞ, Pekcan AN, Okur ME, Ayla Ş. Preparation, optimization and in vivo anti-inflammatory evaluation of hydroquinone loaded microemulsion formulations for melasma treatment. *J Res Pharm.* 2019;23(4):662–70.
- [26] Soyata A, Chaerunisaa AY. Whitening Agent: Mekanisme, Sumber dari Alam dan Teknologi Formulasinya. *Maj Farmasetika.* 2021;6(2):169.doi:10.24198/mfarmasetika.v6i2.28139.
- [27] Wang Y, Hao M-M, Sun Y, et al. Synergistic Promotion on Tyrosinase inhibition by antioxidants. *Molecules.* 2018;23(1):106.doi:10.3390/molecules23010106