

LAPORAN PENELITIAN

Pengisian poin A sampai dengan poin G mengikuti template berikut dan tidak dibatasi jumlah kata atau halaman namun disarankan ringkas mungkin. Dilarang menghapus/memodifikasi template ataupun menghapus penjelasan di setiap poin.

A. HASIL PELAKSANAAN PENELITIAN

Tuliskan secara ringkas hasil pelaksanaan penelitian yang telah dicapai sesuai tahun pelaksanaan penelitian. Penyajian meliputi data, hasil analisis, dan capaian luaran (wajib dan atau tambahan). Seluruh hasil atau capaian yang dilaporkan harus berkaitan dengan tahapan pelaksanaan penelitian sebagaimana direncanakan pada proposal. Penyajian data dapat berupa gambar, tabel, grafik, dan sejenisnya, serta analisis didukung dengan sumber pustaka primer yang relevan dan terkini.

A. Jenis dan Rancangan Penelitian

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian acak lengkap.

Jenis penelitian yang dilakukan adalah eksperimen, karena pada penelitian ini dilakukan perlakuan untuk memanipulasi obyek penelitian disertai adanya kontrol. Design penelitian menggunakan rancangan acak lengkap, yaitu rancangan dengan beberapa perlakuan yang disusun secara random untuk seluruh unit percobaan.

B. Variabel Penelitian

Dalam penelitian ini, variabel yang digunakan :

1. Variabel bebas : Konsentrasi ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L)
2. Variabel tergantung : Persentase penghambatan tirosinase oleh ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.)
3. Variabel terkontrol : Suhu penyimpanan, pelarut dan panjang gelombang pada spektrofotometer UV-Vis.

C. Definisi Variabel Operasional

Ekstrak etil asetat kulit buah manggis adalah ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang diperoleh dengan cara merendam serbuk simplisia dengan pelarut etil asetat selama tiga hari disertai pengadukan, kemudian filtrat yang dihasilkan dari proses maserasi tersebut diuapkan hingga diperoleh ekstrak kering berupa serbuk kulit buah manggis.

Konsentrasi yang digunakan pada penghambatan tirosinase pada ekstrak etil asetat kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yaitu 80, 90, 100, 110 dan 120 µg/ml.

Persentase penghambatan tirosinase dinyatakan dengan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi larutan inhibitor yang dibutuhkan untuk menghambat 50% aktivitas tirosin-tirosinase. Aktivitas tirosinase merupakan aktivitas penghambatan yang ditentukan dengan tirosinase. Inhibitor tirosinase mereduksi bahan yang dapat menyebabkan oksidasi dopakuinon. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas penghambatan terhadap tirosinase makin tinggi.

Suhu penyimpanan (temperatur) pada penelitian ini adalah 25°C. Pengaturan temperatur ini dilakukan untuk menguji aktivitas terhadap enzim tirosinase, karena kerja dari enzim sangat spesifik sehingga mampu untuk menghambat.

Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO, karena DMSO merupakan pelarut yang kepolarannya sangat tinggi ketika di larutkan dengan ekstrak.

Waktu yang diperlukan untuk sampel agar mampu bereaksi dengan enzim adalah 10 menit. Sedangkan waktu yang diperlukan untuk mereaksikan substrat dengan enzim yaitu 20 menit. Hal ini dilakukan karena kerja enzim sangat spesifik, sehingga perubahan sedikit saja pada kondisi kerjanya, dapat mempengaruhi aktivitas enzim.

Panjang gelombang yang digunakan pada aktivitas penghambatan tirosinase ini menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 480 nm.

D. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan selama 7 bulan dari bulan mei hingga bulan nopember 2020. Tempat penelitian di Laboratorium Farmasi Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran Unissula, dan departemen biologi Fakultas Farmasi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

E. Metode

1. Bahan

Bahan yang dipakaipada penelitian ini adalah mushroom tyrosinase 4187IU/mg (*Sigma-aldrich*), *L*-Tyrosine (dihydroxy phenyl alanine) (*Sigma-aldrich*), kojic acid (*Sigma-aldrich*), dimethylsulfoxide extra pure (Acros® organic, Geel, Belgium), etil asetat teknis (*Bratachem*), sampel kulit manggis yang diperoleh dari perkebunan buah manggis daerah Bogor.

2. Alat

Alat yang dipakai dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas seperti *beaker glass*, erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, pipet volume, pipet tetes (pyrex), timbangan analitik (SHIMADZU AUW220D), pH meter (*Metrohm*), Bejana Maserasi, Mikropipet (Eppendorf), Oven (Memmert®), Spektrofotometer UV-Vis (Apel), dan Timbangan analitik (Sortorius).

F. Prosedure Penelitian

Kegiatan yang dilakukan adalah pembuatan ekstrak kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L) dengan pelarut etil asetat dan uji penghambatan tirosinase dari ekstrak etil asetat kulit buah manggis tersebut, meliputi (sartika, 2015):

1. Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan adalah kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) yang diperoleh dari kawasan perkebunan Manggis di daerah Bogor pada bulan Januari 2020. Sampel yang telah terkumpul dicuci, diiris tipis-tipis dengan potongan melintang dan dikeringkan dengan cara dibiarkan di tempat teduh terbuka. Selanjutnya kulit buah manggis dikeringkan dengan oven pada suhu 65 derajat celcius kemudian digiling hingga didapatkan serbuk dan disimpan pada tempat tertutup rapat.

2. Proses maserasi dan ekstraksi

Serbuk kulit manggis sebanyak 4 kilogram direndam menggunakan pelarut etil asetat dalam botol kaca dengan perbandingan 1 : 15, selama 3 x 24 jam, kemudian dilakukan penyaringan. Residu yang diperoleh kembali diekstraksi dengan etil asetat selama 2 hari. Filtrat dari ekstraksi I dan II digabungkan, Kemudian pelarut pada filtrat hasil maserasi diuapkan menggunakan *vaccum rotary evaporator* pada suhu 50°C hingga terbentuk ekstrak kering berujud serbuk. Ekstrak bentuk serbuk yang diperoleh kemudian ditimbang.

3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan dapar fosfat pH 6,8 sebanyak 0,9 mL dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan sebanyak 0,1 mL enzim tirosinase 0,93 u/ mL lalu ditambahkan 2 mL larutan substrat L-Tirosin 1,3 mM, kemudian dihomogenkan. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan serapannya diukur pada panjang gelombang 450 - 485 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

4. Uji Aktivitas Inhibitor Tirosinase

Uji Aktivitas Inhibitor Tirosinase sesuai dengan (Lukitaningsih, 2014) dengan modifikasi, menggunakan mushroom tyrosinase sebagai enzim, L-Tirosin sebagai substrat dan asam kojic sebagai kontrol pembanding. Sampel serbuk ekstrak etil asetat kulit manggis seberat 50 µL dilarutkan dalam DMSO dicampur dengan 100µL dari 200 IU/mL mushroom tyrosinase dan 100µL *phosphate buffered saline* (pH 6.8). Campuran larutan tersebut di inkubasi pada suhu ruang selama 10 menit selanjutnya ditambahkan larutan L-1,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) 7.6 mM, kemudian diinkubasi kembali pada suhu ruang selama 20 menit. Dopakrom (A) yang terbentuk diukur menggunakan spektroskopi UV/ Vis pada panjang gelombang 480 nm. DMSO digunakan sebagai blangko (B), *phosphate buffered saline* digunakan sebagai kontrol warna sebagai pengganti enzim tirosinase (C). Prosentase inhibisi tirosinase dihitung sebagai persen inhhibisi aktivitas tirosinase dan dihitung dengan rumus sebagai berikut :

$$\text{Inhibisi Tirosinase (\%)} = \frac{\{B-(A-C)\}}{B} \times 100 \%$$

Sebagai standard inhibisi digunakan asam Kojic acid dan semua pemeriksaan dilakukan masing-masing tiga kali.

G. Hasil Penelitian

1. Hasil Ekstraksi Ekstrak etil asetat

Tabel 1. menunjukkan hasil ekstraksi kulit manggis dengan penyari etil asetat diperoleh dari simplisia sebanyak 4 kg gram yang diekstraksi dengan etil asetat 60 liter (1:15) dan didapatkan 254 gram serbuk ekstrak kering sehingga didapat rendemen sebesar 6,35 %.

Hasil Ekstraksi Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis			
Jenis Ekstrak	Beart Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	% Rendemen
Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis	4000	254	6,35

Tabel 1 . Hasil Ekstraksi Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis

2. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Pengujian Aktivitas Antitirosinase

Hasil Pengukuran Panjang Gelombang	Panjang Gelombang
Konsentrasi (ppm)	(nm)
0.4170	480
0.3702	475
0.3210	470
0.2567	465
0.2003	460

Tabel 2. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang

Tabel 2, memperlihatkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum pengujian aktivitas antitirosinase, pada berbagai panjang gelombang, dan didapatkan hasil absorban tertinggi pada panjang 480 nm.

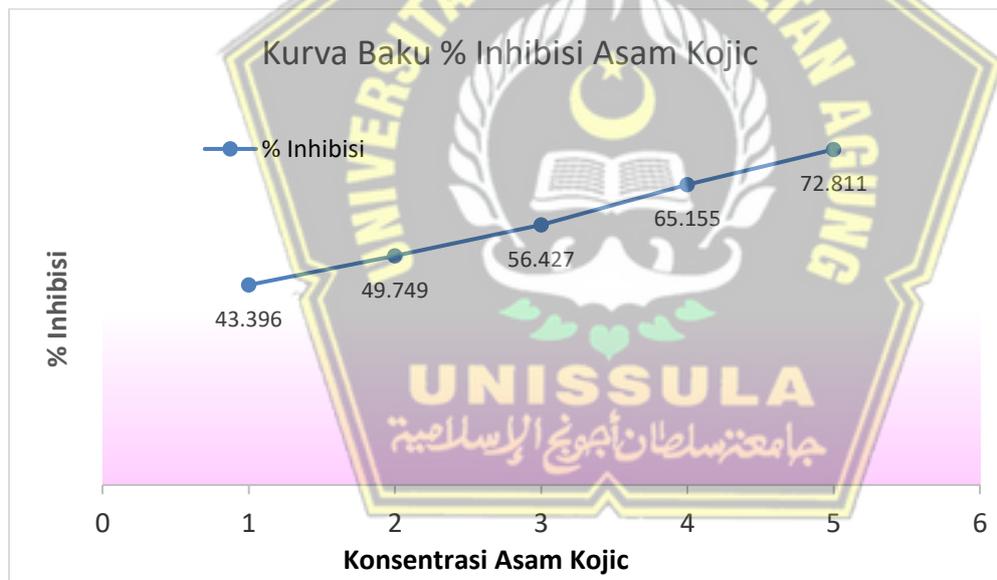
3. Hasil Pengujian Aktivitas Antitirosinase Asam Kojik sebagai Pembanding

TABEL STANDAR ASAM KOJIC

Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi		
1	0.417	43.396	a =	35.2369
2	0.370	49.749	b =	7.4236
3	0.321	56.427	r =	0.9981
4	0.257	65.155	IC50	1.9887
5	0.200	72.811	blangko	0.7367

Tabel. 3 Hasil Uji Aktivitas Inhibitor Kontrol Pembanding Asam Kojic

Memperlihatkan hasil pengujian aktivitas antitirosinase dari asam kojic, pada berbagai konsentrasi dengan persamaan linear $Y = a + bx$ / $Y = 35,2369 + 7,4236x$ maka didapat nilai IC50 1,9887 $\mu\text{g/mL}$. Dari persamaan tersebut didapatkan nilai r (0,9981) mendekati 1 yang artinya data tersebut tersebar normal.



Gambar 1. Persen Inhibisi Kontrol Pembanding Asam Kojic

4. Hasil Pengujian Aktivitas Antitirosinase Ekstrak etil asetat kulit manggis

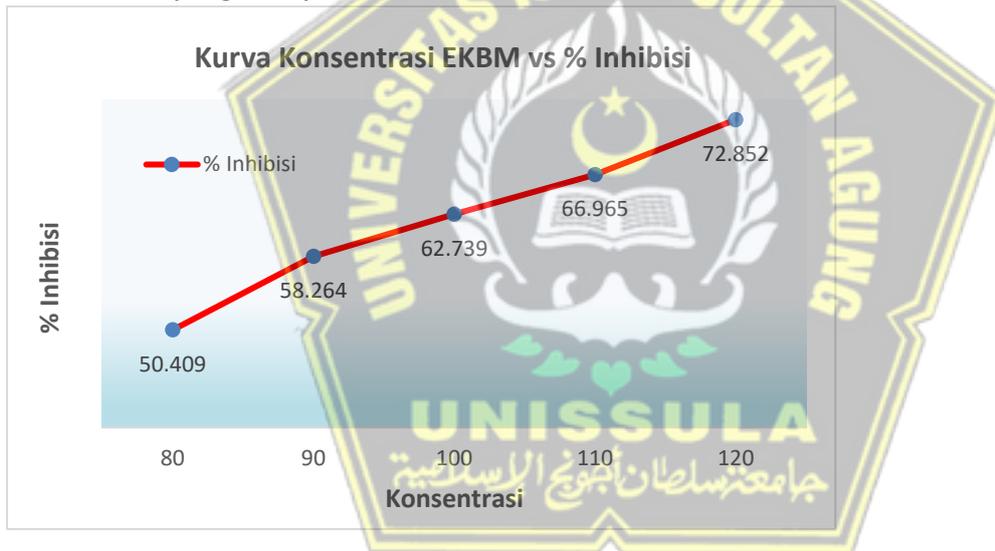
TABEL TIROSINASE EKSTRAK KULIT BUAH MANGGIS (EKBM)

Konsentrasi	Absorbansi				% Inhibisi			
	I	II	III	Rerata	I	II	III	Rerata
80	0.365	0.367	0.364	0.365	50.455	50.183	50.590	50.409
90	0.307	0.307	0.308	0.307	58.328	58.273	58.192	58.264
100	0.273	0.275	0.276	0.275	62.929	62.726	62.563	62.739
110	0.242	0.242	0.246	0.243	67.137	67.151	66.608	66.965
120	0.200	0.200	0.200	0.200	72.852	72.852	72.852	72.852

a : 8.6602
 b : 0.5359
 r : 0.9934
 IC50 : 77.1468
 blanko : 0.7367

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Inhibitor Ekstrak etil asetat Kulit Buah Manggis

Memperlihatkan hasil pengujian aktivitas antitirosinase dari ekstrak etil asetat kulit buah manggis pada berbagai konsentrasi, dengan persamaan linear $Y = a + bx$ / $Y = 8,6602 + 0,5359x$ maka didapat nilai IC50 77,1468 $\mu\text{g/mL}$. Dari persamaan tersebut didapatkan nilai r (0,9934) mendekati 1 yang artinya data tersebut tersebar normal.



Gambar 2. Persen Inhibisi Ekstrak Kulit Buah Manggis

Pembahasan

Kulit buah manggis (*Garcinia mangostana* L.) mengandung xanton, merupakan zat warna fenol kuning dimana gerakan kromatografinya menyerupai flavonoid. Penelitian menunjukkan kulit buah manggis memiliki aktivitas farmakologi dan antioksidan (Putri, 2015). Senyawa yang mempunyai kemampuan antioksidan kuat juga memiliki aktivitas antitirosinase (Abidin Z., 2019).

Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi dengan pelarut etil asetat yang merupakan pelarut dengan densitas yang lebih rendah dari pada air yang memiliki toksisitas rendah. Etil

asetat juga mempunyai karakteristik semi polar sehingga dapat mengekstrak senyawa xanthone dengan kandungan α -mangostin dari kulit buah manggis (Pratiwi L, 2014).

Pemilihan pelarut etil asetat pada penelitian ini mengacu pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Hassan, 2015) dan (Arif NJ, 2014) yang menunjukkan hasil, ekstrak etil asetat kulit manggis mempunyai aktivitas antioksidan dan kemampuan menghambat tirosinase paling tinggi dibanding pelarut yang lain. Banyaknya hasil ekstraksi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1.

Pengujian inhibisi enzim tirosinase dilakukan dengan cara *in vitro* menggunakan substrat L-tirosin. Asam kojic digunakan sebagai pembanding, karena merupakan salah satu inhibitor tirosinase yang digunakan sebagai bahan kosmetik pencerah kulit.

Inhibitor tirosinase berikatan secara kovalen dengan enzim tirosinase, yang menyebabkan enzim tirosinase tidak berikatan dengan substratnya (L-Tirosin) sehingga tidak terjadi pembentukan dopakhrom.

Pada uji penentuan panjang gelombang maksimum dan didapatkan absorbansi tertinggi pada panjang gelombang 480 nm.

Uji inhibitor tirosinase dilakukan terhadap pembanding asam kojic dan sampel ekstrak, dengan berbagai variasi konsentrasi untuk mendapatkan persen IC50-nya. Hasil pengujian pembanding asam kojic dapat dilihat pada tabel 3, dengan hasil IC50 1,9887 $\mu\text{g/mL}$, sedangkan Hasil pengujian ekstrak etil asetat kulit buah manggis dapat dilihat pada tabel 4, dengan hasil IC50 77,1468 $\mu\text{g/mL}$. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat kulit buah manggis mempunyai aktivitas menghambat tirosinase namun asam kojic mempunyai kemampuan yang lebih baik dalam menghambat tirosinase.

Asam kojic mempunyai kemampuan penangkal radikal bebas yang sangat aktif karena mudah teroksidasi dengan cara memberikan atom hidrogennya dan membentuk radikal bebas askorbil yang relatif stabil. Radikal substrat akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi pada tahap propagasi. Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang substrat menghasilkan hidroperoksida dan radikal substrat baru (Kurniasari, 2017)

Ekstrak dengan kemampuan aktivitas inhibitor tirosinase akan menurunkan intensitas warna coklat sedangkan ekstrak yang tidak memiliki aktivitas inhibitor dan kontrol (tidak ditambahkan ekstrak) memiliki warna coklat keunguan. Warna coklat keunguan merupakan warna dari dopakrom yang terbentuk yang akan digunakan sebagai ukuran kemampuan penghambatan (Kurniasari, 2017)

B. STATUS LUARAN

Tuliskan jenis, identitas dan status ketercapaian setiap luaran wajib dan luaran tambahan (jika ada) yang dijanjikan. Jenis luaran dapat berupa publikasi, perolehan kekayaan intelektual, hasil pengujian atau luaran lainnya yang telah dijanjikan pada proposal. Uraian status luaran harus didukung dengan bukti kemajuan ketercapaian luaran sesuai dengan luaran yang dijanjikan. Lengkapi keterangan jenis luaran yang dijanjikan serta unggah bukti dokumen ketercapaian luaran wajib dan luaran tambahan melalui Sippmas.

Jenis luaran Artikel Publikasi pada Jurnal Sains Medika dalam proses penyusunan target submit akhir bulan Januari

C. PERAN MITRA

Tuliskan realisasi kerja sama dan kontribusi Mitra baik in-kind maupun in-cash (untuk Penelitian Terapan dan Penelitian Pengembangan). Bukti pendukung realisasi kerja sama dan realisasi kontribusi mitra dilaporkan sesuai dengan kondisi yang sebenarnya. Bukti dokumen realisasi kerja sama dengan Mitra dilampirkan bersama laporan ini.

Penelitian ini belum melibatkan penelitian mitra karena merupakan penelitian dasar.

D. KENDALA PELAKSANAAN PENELITIAN .

Tuliskan kesulitan atau hambatan yang dihadapi selama melakukan penelitian dan mencapai luaran yang dijanjikan, termasuk penjelasan jika pelaksanaan penelitian dan luaran penelitian tidak sesuai dengan yang direncanakan atau yang dijanjikan.

1. Pengadaan reagen harus menunggu lama karena harus import dan adanya pandemi covid 19.
2. Status lockdown laboratorium tempat penelitian oleh karena pandemi covid 19 sehingga proses penelitian menjadi lebih lama dari jadwal yang sudah direncanakan.
3. Harga reagen atau kit penelitian yang mahal.

E. KESIMPULAN DAN SARAN

Tuliskan dan uraikan kesimpulan dari pelaksanaan dan hasil penelitian yang sudah dilaksanakan dalam bentuk poin (1., 2., dst). Tuliskan dan uraikan saran untuk kemungkinan dilanjutkannya penelitian berikutnya, baik oleh peneliti yang bersangkutan maupun oleh peneliti lainnya dalam bentuk poin (1., 2., dst).

Kesimpulan

1. Ekstrak etil asetat kulit buah manggis mempunyai aktivitas inhibitor tirosinase sehingga dapat dikatakan merupakan bahan alam (*natural product*) yang berpotensi untuk digunakan dalam formulasi krim pencerah kulit.
2. Aktivitas inhibitor tirosinase ekstrak etil asetat kulit buah manggis lebih rendah dari asam kojic.

Saran

Pada penelitian selanjutnya disarankan untuk :

1. Melakukan identifikasi kandungan senyawa bioaktif dari kulit buah manggis secara kualitatif dan kuantitatif
2. Melakukan uji anti oksidan untuk melihat tingkat kekuatannya.

F. DAFTAR PUSTAKA

Penyusunan Daftar Pustaka berdasarkan sistem nomor sesuai dengan urutan pengutipan. Hanya pustaka yang disitasi pada laporan kemajuan yang dicantumkan dalam Daftar Pustaka.

- Abidin, Z., Khaeriah, U., Zuhrina, Pratama, M., & Baits, M. (2019). Tyrosinase Inhibitor Activity Measurement of CUde and Purified Extract of Moringa Leaves (*Moringa Oleifera L.*). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology*.
- Arif, N. J., Yahya, A., Hamid, M. H., Yaakob, H., & Zulkifli, R. M. (2014). Deelopment of Lightening Cream from Mangostee Pericarp Extract with Olivolil Emulsifier. *International Converence on Education, Research and Innovation*.
- Hassan, W. N., Zulkifli, R. M., Basar, N., Ahmad, F., & Yunus, A. M. (2015). Antioxidant and tyrosinase inhibition activities of x- mangostin and Gracinia mangostana Linn. pericarp extracts. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*.
- Kurniasari, A., Anwar, E., & Djajadisastra, J. (2017). Potensi Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma cacao Linn*) sebagai Inhibitor Tيروسينase untuk Produk Pencerah Kulit. *Jurnal Kefarmasian Indonesia*.
- Lukitaningsih, E., & Holzgrabe, U. (2014). Bioactive Compounds In Bengkoang (*Pachyrhizus eosus*) As Antioxidant and Tyrosinase Inhibiting Agents. *Indonesian J Pharm*.
- Pratiwi, L., Fudholi, A., Martien, R., & Pramono, S. (2016). Ethanol Extract Acetate Extract, Ethyl Acetate Fraction, and n- Heksan Fraction Mangosteen Peels (*Garcinia mangostana L.*) As Source of Bioactive Substance Free Radical Scavengers. *Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*.
- Putri, P. I. (2015). Effectivity of Xanthone of Mangosteen (*Gracinia Mangostana L.*) Rind as Anticancer. *J Majority*.
- Sartika, D., Chadijah, S., & Ilyas, A. (2015). *Analisis Antioksidan Ekstrak Etil Asetat Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostana L.) Dengan Metode DPPH (1,1 difenil-2-pikrilhidrazil)*. Makassar: Jurusan Kimia, Fakultas Sains Dan Teknologi, UIN Alauddin Makassar.