

Kombinasi Ekstrak Kulit Buah Nanas dan Mangga yang Memiliki Aktivitas Antioksidan dan Inhibisi Tirosinase

Krismayadi¹, Shelly Taurhesia¹, Siti Umrah Noor¹

Artikel Penelitian

Abstract: The peel of pineapple (*Ananas comosus* (L.) Merr.) and mango (*Mangifera indica* L.) contain polyphenolics that have antioxidant activity and tyrosinase inhibitor. Both of these activities are useful for skin lightening treatments. The purpose of this study was to determine the value of the antioxidant and tyrosinase inhibitor activity of each pineapple peel extract (EKBN) and mango peel extract (EKBM), and their combination with a ratio of 2:1; 1:1; 1:2. The combination that gives the best value for antioxidant activity and tyrosinase inhibitor may be made for cosmetic preparations. The antioxidant activity of each extract and its combination was determined by the DPPH method, after the antioxidant IC₅₀ value was obtained, then the tyrosinase enzyme inhibitory activity was tested. The results showed that EKBN; EKBM; the combination of EKBN and EKBM with a ratio of 2:1, 1:1, 1:2 has antioxidant activity with IC₅₀ values: 618.42 ppm, 10.29 ppm, 30.73 ppm, 20.20 ppm and 18.04 ppm, has tyrosinase inhibitory activity with IC₅₀ of 5,019.98 ppm, 930.85 ppm, 1.992.31 ppm, 2,070.89 ppm and 2.839.75 ppm, respectively. There is a correlation between the IC₅₀ of the combined extract and its weight. the combination of EKBN and EKBM, 1:2 gave the best antioxidant activity results with an IC₅₀ value of 18.04 ppm (very strong) and the combination of EKBN and EKBM, 2:1 gave tyrosinase inhibitory activity with an IC₅₀ value of tyrosinase 1.992.31 ppm. The combination of EKBN and EKBM, 1:2 may be developed further as cosmetic preparations such as serum, liquid spray, and others.

Keywords: waste of fruit peel, *Ananas comosus* (L.) Merr, *Mangifera indica* L, antioxidant, tyrosinase inhibitor

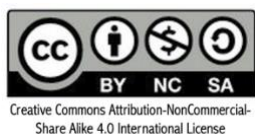
Abstrak: Kulit buah nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr.) dan kulit buah mangga (*Mangifera indica* L.) mengandung senyawa polifenol yang memiliki aktivitas antioksidan dan penghambat tirosinase. Kedua aktivitas tersebut bermanfaat untuk pencerah kulit. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan dan penghambat tirosinase dari masing-masing ekstrak kulit buah nanas (EKBN) dan ekstrak kulit buah mangga (EKBM), serta kombinasinya dengan rasio 2:1; 1:1; 1:2. Kombinasi yang memberikan nilai terbaik untuk aktivitas antioksidan dan penghambat tirosinase berpotensi untuk dibuat sediaan kosmetiknya. Aktivitas antioksidan masing-masing ekstrak dan kombinasinya ditentukan dengan metode DPPH, setelah diperoleh nilai IC₅₀ antioksidan, kemudian dilakukan uji aktivitas inhibisi enzim tirosinase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa EKBN; EKBM; kombinasi EKBN dan EKBM dengan rasio 2:1, 1:1, 1:2 memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ berturut-turut: 618,42 ppm, 10,29 ppm, 30,73 ppm, 20,20 ppm dan 18,04 ppm, sedangkan aktivitas penghambat tirosinase dengan nilai IC₅₀ berturut-turut 5.019,98 ppm, 930,85 ppm, 1.992,31 ppm, 2.070,89 ppm dan 2.839,75 ppm. Terdapat korelasi kuantitatif antara IC₅₀ ekstrak kombinasi dengan bobotnya. kombinasi EKBN dan EKBM, 1:2 memberikan hasil aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC₅₀ 18,04 ppm (sangat kuat) dan kombinasi EKBN dan EKBM, 2:1 memiliki aktivitas penghambat tirosinase dengan nilai IC₅₀ tirosinase 1.992,31 ppm. Kombinasi EKBN dan EKBM, 1:2 berpotensi untuk dikembangkan lebih lanjut menjadi sediaan kosmetik seperti serum, spray liquid, dan lainnya.

Kata kunci: limbah kulit buah, *Ananas comosus* (L.) Merr, *Mangifera indica* L, antioksidan, penghambat tirosinase

¹ Fakultas Farmasi,
Universitas Pancasila
Jl. Srengseng Sawah,
Jagakarsa, Jakarta

Korespondensi:

Krismayadi
krismayadikrismayadi199@gmail.
com



Pendahuluan

Radiasi ultraviolet, polusi udara, stres psikologis, alkohol, asap rokok, dan paparan bahan kimia mampu menginduksi pembentukan radikal bebas yang disebut *reactive oxygen spesies (ROS)*, sehingga dalam jangka panjang dapat menyebabkan permasalahan pada kulit diantaranya adalah penuaan dini (1)

Senyawa ROS merupakan produk samping dari metabolisme normal tubuh yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi oksidasi yang memicu kerusakan membrane, modifikasi protein, kerusakan DNA dan sel. Pada dasarnya efek buruk ROS dapat dikendalikan oleh senyawa antioksidan (2), yaitu senyawa yang memiliki kemampuan untuk mengakhiri reaksi oksidasi berantai radikal bebas (3).

Seiring perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi khususnya dibidang kosmetika, maka Kulit buah yang selama ini menimbulkan masalah limbah, terutama limbah agroindustry ternyata memiliki manfaat sebagai sumber senyawa bioaktif alami, dengan kelebihan/keuntungan diantaranya adalah: mudah didapat, berlimpah dan berkelanjutan-hayati (4). Kulit buah nanas (*Ananas comosus (L.) Merr.*) dan kulit buah mangga (*Mangifera indica L.*) merupakan contoh limbah hortikultura yang belum dimanfaatkan secara optimal untuk produk yang bernilai tinggi, seperti sumber bahan baku obat dan kosmetik, sumber serat pangan, serta manfaat lainnya.

Kulit buah nanas kaya akan kandungan polifenol, Flavonoid, vitamin A dan C serta Tannin. Sedangkan kulit buah mangga kaya akan Flavonol, galotanin, Vitamin C, Karotenoid dan serat makanan (5)(6)

Penelitian Devi dkk (2018) menunjukkan bahwa Ekstrak Kulit Buah Nanas (EKBN) memiliki IC_{50} antioksidan sebesar 266,02 ppm (7), dan Penelitian Dela Vrianty dkk (2019) menunjukkan bahwa Ekstrak buah nanas memiliki IC_{50} penghambat tirosinase sebesar 62,27 ppm (8). Penelitian Samart Sai-Ut dkk (2015) atas Ekstrak Kulit Buah Mangga (EKBM) menunjukkan bahwa IC_{50} antioksidannya adalah 69,72 mg/100g dan IC_{50} penghambat tirosinasenya adalah 170 mg/ml (9).

Peneliti berharap kombinasi EKBN dan EKBM memiliki aktivitas antioksidan dan penghambat tirosinase yang lebih baik dari masing-masing ekstrak tunggalnya sehingga kombinasi kedua ekstrak yang sesuai berpotensi dikembangkan menjadi sediaan perawatan wajah yang bermanfaat sebagai pencerah.

Bahan dan Metode

Penelitian ini menggunakan metode eksperimen dalam memilih kombinasi EKBN dan EKBM yang memiliki IC_{50} antioksidan dan IC_{50} inhibisi tirosinase terbaik.

Bahan

Kulit buah nanas (Palembang) dan mangga (Harum manis) yang diperoleh dari pasar tradisional di daerah Bogor, etanol 70%, air suling, metanol, 1,1 difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), asam askorbat, L-DOPA, L-tyrosine, asam kojat, dan lainnya.

Alat

Neraca analitik, *waterbath*, *rotary evaporator*, *oven*, Spektrofotometer UV-Vis, *refrigerator*, *microtiter plate*, *microplate reader*, Erlenmeyer, kaca arloji, tabung reaksi, mikropipet, *beaker glass*, spatula, dan lainnya.

Cara Kerja

Determinasi Buah nanas dan mangga dilakukan di Kantor pusat riset biologi (LIPI) Cibinong-Bogor. Persiapan simplisia meliputi pengeringan kulit buah, dan dihaluskan.

Ekstraksi Serbuk simplisia dimaserasi dengan pelarut etanol 70% (1:10) selama 3x24 jam pada suhu ruangan 15-30°C, diaduk sesekali. Filtrat hasil ekstraksi kemudian disaring dan dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40-50°C, sehingga diperoleh ekstrak kental EKBN dan EKBM.

Skrining Fitokimia: EKBN dan EKBM diuji kandungan fitokimianya meliputi flavonoid, fenolik, alkaloid, triterpenoid, steroid, tanin, saponin dan glikosida (10).

Karakterisasi ekstrak kental meliputi organoleptic, kadar air, kadar abu, kadar abu tak larut asam, kadar sari air dan kadar sari alcohol.

Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH = 1,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (11). Sebanyak 20 mg ekstrak tunggal (EKBN dan EKBM) dilarutkan dengan 10 ml methanol sebagai larutan induk, selanjutnya dibuat seri larutan dengan konsentrasi, 1.000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ppm. Kemudian untuk asam askorbat sebagai kontrol positif dibuat seri konsentrasi 40 ; 20 ; 10 ; 5 ; 2,5 ppm.

Kombinasi EKBN dan EKBM dengan ratio 1:1, dibuat dengan melarutkan 100 mg kombinasi ekstrak dengan 10 ml methanol sehingga diperoleh seri larutan dengan konsentrasi 10.000 ; 5.000 ; 2.500 ; 1.250 ; 625 ; 312,5 ppm, dan kombinasi EKBN dan EKBM dengan ratio 2:1, 1:2, dibuat dengan melarutkan 150 mg kombinasi ekstrak dengan 10 ml methanol sehingga diperoleh seri larutan dengan konsentrasi 15.000 ; 7.500 ; 3.750 ; 1.875 ; 937,5 ; 468,75 ppm

Kedalam seri larutan masing-masing ditambahkan 1 ml DPPH dan 2 ml methanol, diinkubasi pada ruang gelap selama 30 menit. Kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 517 nm.. Aktivitas antioksidan sampel oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH dapat diketahui melalui perhitungan persentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol}-\text{Abs. sample}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs. Kontrol dan Abs. Sampel merupakan nilai Abs yang telah dikurangi dengan Abs. Blanko kontrol/sampel

Nilai IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier $Y = a + bX$.

X = konsentrasi sampel

Y = prosentase inhibisi

Korelasi antara IC_{50} antioksidan (ppm) ekstrak kombinasi dengan bobotnya (mg) dianalisis secara kuantitatif.

Uji Aktivitas Penghambat Tirosinase

Pengujian aktivitas Penghambat tirosinase dilakukan dengan mengikuti metode Aprillia

Kurniasari dan kawan-kawan (2018) dengan modifikasi (12). Sebanyak 200 mg ekstrak dilarutkan dalam DMSO sampai konsentrasi 20.000 ppm, kemudian diencerkan dengan buffer fosfat dan diperoleh seri larutan dengan konsentrasi, 10.000 ; 5.000 ; 2.500 ; 1.250 ; 625 ; 312,5 ppm. Asam kojat sebagai kontrol positif dibuat seri konsentrasi 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ppm.

Kombinasi EKBN dan EKBM dengan ratio 2:1, 1:1, 1:2 dibuat dengan melarutkan 200 mg kombinasi ekstrak sehingga diperoleh seri larutan dengan konsentrasi 20.000 ; 10.000 ; 5.000 ; 2.500 ; 1.250 ; 625 ; 312,5 ppm,

Dalam pelat tetes 96 sumur. Sebanyak 70 μ L ekstrak tunggal dan kombinasi seri pengenceran diatas masing-masing digabungkan dengan 30 μ L enzim tirosinase. Selama 10 menit pelat diinkubasi, kemudian ditambahkan 110 μ L L-Tirosin 2 mM atau L-DOPA 2 mM dan diinkubasi selama 30 menit.

Kemudian serapan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 515 nm. Aktivitas penghambat tirosinase sampel dapat diketahui melalui perhitungan persentase inhibisi dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs.kontrol}-\text{Abs. sample}}{\text{Abs. kontrol}} \times 100\%$$

Keterangan:

Abs. Kontrol dan Abs. Sampel merupakan nilai Abs yang telah dikurangi dengan Abs. Blanko kontrol/sampel

IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier $Y = a + bX$.

X = konsentrasi sampel

Y = prosentase inhibisi

Efek sinergis, aditif atau antagonisme ditentukan berdasarkan nilai *Combination Indeks (CI)* menggunakan rumus (13):

$$CI = (D)1 / (Dm)1 + (D)2 / (Dm)2$$

Tergantung nilai CI yang diperoleh, bila

- CI = 1 dikatakan efek additif
- CI > 1 dikatakan Efek antagonis
- CI < 1 dikatakan efek sinergis

Keterangan :

(Dm)1 = nilai IC₅₀ ekstrak A.

(Dm)2 = nilai IC₅₀ Ekstrak B.

(D)1 dan (D)2 adalah nilai IC₅₀ dari kombinasi ekstrak A dan Ekstrak B.

Analisis Data

Perbedaan IC₅₀ antioksidan dan penghambat tirosinase antara EKBN, EKBM, Kombinasi ekstrak, kelompok control, dianalisis menggunakan *Kruskal Wallis test* atau Anova.

Hasil dan Diskusi

Hasil determinasi

Berdasarkan hasil determinasi kantor pusat riset biologi, dengan nomor surat: B-433/V/DI.05.01/10/2021. menunjukkan bahwa tumbuhan nanas yang digunakan adalah jenis *Ananas comosus* (L.) Merr. Suku Bromeliaceae, dan tumbuhan mangga yang digunakan adalah jenis *Mangifera indica* L. suku Anacardiaceae.

Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut pada proses maserasi kulit buah nanas dan mangga, karena dapat menarik senyawa polar seperti flavonoid dan polifenol lebih baik dibandingkan dengan etanol 96%. Selain jenis pelarut, proses pengadukan dan suhu ekstraksi juga mempengaruhi kualitas ekstrak yang dihasilkan (14).

Hasil skrining fitokimia

Seperti yang dikatakan Li.T dkk (2014) bahwa kulit buah nanas kaya akan kandungan flavonoid, fenol, dan tannin, dan hasil penelitian Samart Sai-ut dkk (2015) mengatakan bahwa kulit buah mangga kaya akan flavonoid, fenol, tannin dan glikosida (5,9). Hasil skrining fotokimia EKBN dan EKBM seperti dalam **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak

| Pemeriksaan | EKBN | EKBM |
|--------------|------|------|
| Flavonoid | + | + |
| Fenolik | + | + |
| Alkaloid | + | + |
| Triterpenoid | + | + |
| Steroid | - | - |
| Tannin | + | + |
| Saponin | + | + |
| Glikosida | + | + |

Adanya senyawa flavonoid, fenolik dan tannin berpotensi memiliki aktivitas antioksidan, yang mendonorkan elektron bebas pada atom oksigennya didalam gugus hidroksil atau atom hidrogen yang dapat mereduksi reaktivitas senyawa radikal bebas menjadi stabil (15).

Hasil Uji karakterisasi ekstrak

Hasil karakterisasi ekstrak dapat dilihat dalam **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Ekstrak

| Pemeriksaan | Hasil EKBN | Hasil EKBM |
|-----------------------------|--------------------------|-----------------|
| Warna | Coklat | Hijau tua |
| Rasa | kemerahan Sangat asam | Tidak berasa |
| Bau | Khas | Khas |
| Bentuk | Kental | Kental |
| Kadar air | 19,13% | 19,77% |
| Kadar abu | 3,30% | 2,80% |
| Kadar abu tak larut asam | 0,07% | 0,70% |
| Kadar sari air | 70,66% | 75,32% |
| Kadar sari alkohol | 61,52% | 7,49% |

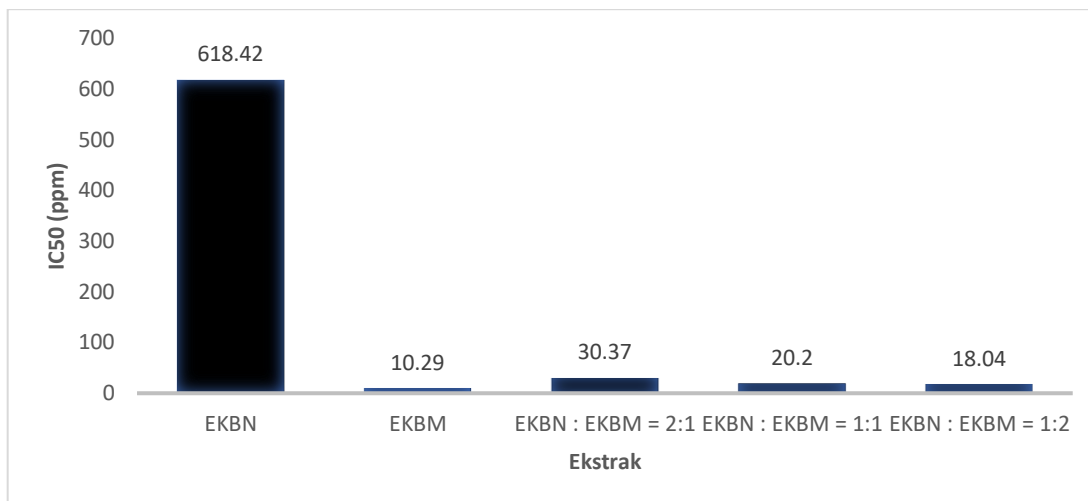
Hasil Uji aktivitas antioksidan

Aktivitas antioksidan diklasifikasikan berdasarkan nilai IC₅₀ (16):

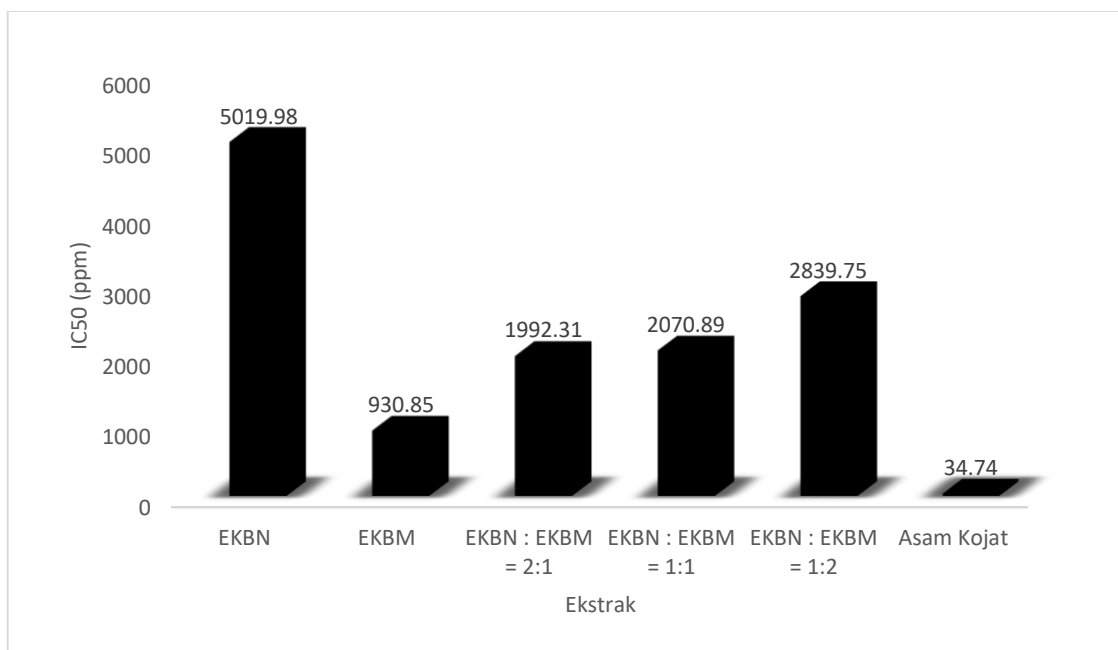
- IC₅₀ < 50 ppm = sangat kuat
- IC₅₀ berada pada 50-100 ppm = kuat
- IC₅₀ 100-150 ppm = sedang, dan
- IC₅₀ > 150 ppm = lemah

Gambar 1 menunjukkan bahwa EKBN memiliki aktivitas antioksidan yang sangat lemah (618,42 ppm) dan lebih kecil dibandingkan hasil penelitian Devi Anggraini dkk (2018) yang menggunakan pelarut air untuk mengekstraksi, dan diperoleh IC₅₀ aktivitas antioksidan EKBN adalah 266,02 ppm. Hikmawanti dkk (2021) menerangkan bahwa aktivitas antioksidan ekstrak dipengaruhi oleh tingkat polaritas pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi, (17).

Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan EKBM adalah 10,29 ppm, yaitu lebih kuat dibandingkan dengan penelitian Samart Sai-Ut dkk (2015).



Gambar 1. Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak tunggal dan kombinasi EKBN dan EKBM dengan ratio 2:1; 1:1 dan 1:2



Gambar 2. IC₅₀ Penghambat Tirosinase EKBN, EKBM dan Kombinasinya

Semua kombinasi ekstrak juga menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat (<50 ppm), dan yang terbaik diperoleh dari kombinasi EKBN dan EKBM dengan perbandingan 1:2.

Pada kombinasi ekstrak diatas, EKBM dengan nilai IC₅₀ 10,29 ppm merupakan ekstrak dominan, dibandingkan EKBN yang memiliki nilai IC₅₀ 618,42 ppm. Peneliti mencoba membuat korelasi kuantitatif antara bobot kombinasi ekstrak (mg) dengan IC₅₀ antioksidannya. Kekuatan Relatif Ekstrak Dominan (KRED) adalah angka yang

menunjukkan kekuatan antioksidan suatu ekstrak dominan terhadap ekstrak pasangannya. KRED menjelaskan korelasi kuantitatif antara IC₅₀ antioksidan dengan perbandingan bobot dari dua ekstrak yang dikombinasikan. Seperti dapat dilihat dalam **Tabel 3** bahwa Nilai (C) diperoleh dari (B) dibagi dengan (A). Nilai (D) atau KRED diperoleh dari (C)EKBM dibagi (C) EKBN

$$\text{atau nilai KRED (D)} = \frac{B_{EKBM}/A_{EKBM}}{B_{EKBN}/A_{EKBN}}$$

Tabel 3. Korelasi Kuantitatif IC₅₀ Antioksidan dengan Bobot Kombinasi Ekstrak

| Ekstrak | IC ₅₀ Antioksidan (ppm) | Bobot (mg) | Perbandingan bobot ekstrak | Bobot : IC ₅₀ (B/A) | KRED |
|---------|--|---------------|-------------------------------|-----------------------------------|---------|
| | (A) | (B) | | (C) | (D) |
| EKBN | 618,42 | 50 | 1:2 | 0,08085 | 120,20x |
| EKBM | 10,29 | 100 | | 971,817 | |
| EKBN | 618,42 | 50 | 1:1 | 0,08085 | 60,10 x |
| EKBM | 10,29 | 50 | | 485,909 | |
| EKBN | 618,42 | 100 | 2:1 | 0,16170 | 30,05 x |
| EKBM | 10,29 | 50 | | 485,909 | |

Keterangan

A : IC₅₀ antioksidan ekstrak (ppm)

B : Bobot Ekstrak (mg)

C : B/A (mg/ppm)

D : Kekuatan Relatif Ekstrak Dominan
(KRED)

Nilai KRED untuk perbandingan bobot EKBM dan EKBN = 1:1 adalah 60,10. Hal ini menunjukkan bahwa EKBM pada perbandingan bobot tersebut mempunyai kekuatan relatif 60,10 kali lebih kuat dibandingkan EKBN.

Bila bobot EKBM ditingkatkan dua kalinya, atau perbandingan bobot EKBM dan EKBN = 2:1, maka nilai KRED = 120,20 yaitu menjadi dua kali nilai KRED semula. Hal ini menunjukkan bahwa EKBM pada perbandingan bobot 2:1 mempunyai kekuatan relatif 120,20 kali lebih kuat dibandingkan EKBN.

Sebaliknya bila bobot EKBM tetap, tetapi bobot EKBN ditingkatkan dua kali bobot semula, atau perbandingan bobot EKBM dan EKBN = 1:2, maka nilai KRED = 30,05 yaitu menjadi setengah nilai KRED semula. Hal ini menunjukkan bahwa EKBM pada perbandingan bobot tersebut mempunyai kekuatan relatif 30,05 kali lebih kuat dibandingkan EKBN.

Dapat diasumsikan bahwa bila bobot EKBM ditingkatkan sepuluh kalinya, atau perbandingan bobot EKBM dan EKBN = 10:1, maka nilai KRED pun menjadi sepuluh kali nilai KRED semula yaitu 601. dibandingkan EKBN.

Diharapkan perhitungan KRED dapat membantu mendapatkan perbandingan bobot dan IC₅₀ optimal dari suatu kombinasi ekstrak sehingga didapatkan aktivitas antioksidan terbaik dari kombinasi ekstrak tersebut.

Terlebih bila IC₅₀ antioksidan ekstrak dominan dan pasangannya berbeda sangat jauh (misal 10 ppm dan 150 ppm) maka dapat dihindari suatu penelitian dengan variasi konsentrasi yang sama, misal kadar masing-masing ekstrak adalah 100xIC₅₀; 150xIC₅₀ atau 200xIC₅₀, tetapi kita dapat menggunakan variasi konsentrasi yang berbeda, misal 200xIC₅₀ untuk ekstrak dominan dan 50xIC₅₀ untuk ekstrak pasangannya, sehingga didapat aktivitas antioksidan kombinasi optimal dan efisiensi dari penelitian.

Uji Kruskal Wallis menunjukkan terdapat perbedaan yang signifikan antara prosentase inhibisi EKBN, EKBM dan asam askorbat pada berbagai konsentrasi pengukuran. Hal ini menunjukkan adanya perbedaan signifikan antara IC₅₀ antioksidan dari EKBN, EKBM dan asam askorbat.

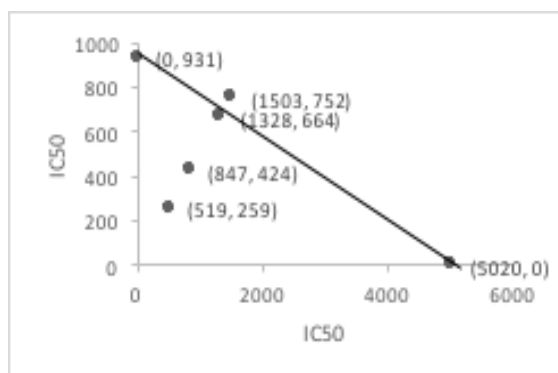
Hasil uji penghambat tirosinase

Gambar 2. menunjukkan bahwa aktivitas penghambat tirosinase EKBM lebih baik dibandingkan EKBN dan kombinasinya. serta seluruh kombinasi ekstrak memiliki aktivitas yang lebih baik dibandingkan dengan EKBN.

Dibandingkan dengan penelitian Dela Vrianty dkk (2019), nilai IC₅₀ aktivitas penghambat tirosinase EKBN pada penelitian ini jauh lebih lemah, tetapi lebih baik dibanding penelitian Samart Sai-Ut dkk (2015).

Aktivitas terbaik kombinasi ekstrak diperoleh pada perbandingan EKBN dan EKBM, 2:1, tetapi semua ekstrak dan kombinasinya masih jauh lebih lemah dibandingkan dengan asam kojat. Asam kojat digunakan sebagai pembanding karena memiliki kestabilan yang tinggi (12).

Hasil analisis dengan CI (*Combination Index*) penghambat tirosinase dari kombinasi EKBN dan EKBM = 2:1, ternyata bersifat sinergis ($CI < 1$) seperti pada **Gambar 3**.



Gambar 3. Titik-titik isobologram kombinasi EKBN:EKBM = 2:1

Gambar 3. Menjelaskan bahwa tiga titik dibawah garis miring isobologram menunjukkan efek sinergis kombinasi ekstrak pada IC_{30} , IC_{40} dan IC_{50} , sedangkan titik diatas garis miring yaitu IC_{60} menunjukkan efek antagonis dari kombinasi ekstrak. Titik-titik pada **Gambar 3**. diperoleh dari hasil perhitungan yang tertera pada **Tabel 4**. Yang mewakili koordinat pada sumbu x dan y.

Nilai atau angka pada **Tabel 4** berhubungan erat dengan nilai pada **Gambar 2**, sedangkan untuk mencari nilai IC_{30} , IC_{40} dan IC_{60} , digunakan rumus regresi linier hubungan konsentrasi dengan prosentase inhibisi pada kombinasi EKBN dan EKBM, 2:1 yaitu $Y = 0,0203X + 14,205$.

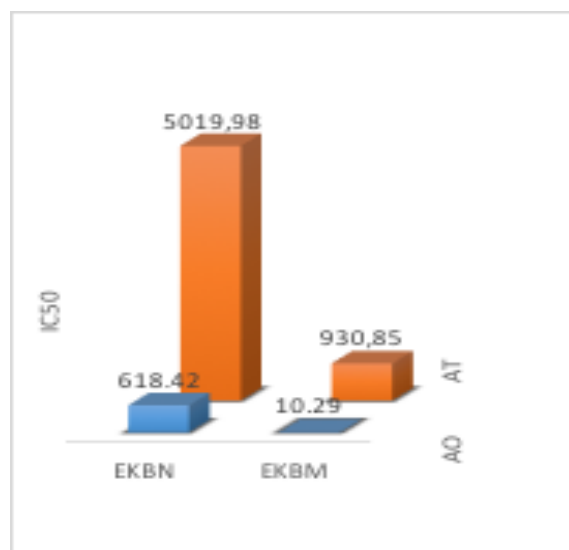
Tabel 4. Isobologram IC_{50} Penghambat Tirosinase

| Ekstrak | X | Y |
|-----------------|------|-----|
| EKBM | 0 | 931 |
| EKBN | 5020 | 0 |
| IC_{30} (2:1) | 519 | 259 |
| IC_{40} (2:1) | 847 | 424 |
| IC_{50} (2:1) | 1328 | 664 |
| IC_{60} (2:1) | 1503 | 752 |

Metode isobologram memiliki banyak kelebihan, diantaranya mampu mengukur sinergisme/aditif/ antagonisme suatu kombinasi ekstrak walaupun aktifitas penghambat tirosinasenya sangat berbeda jauh nilainya antara ekstrak dominan dengan pasangannya.

Efek sinergisme berarti terjadi interaksi positif dari ekstrak yang dikombinasikan, aditif berarti tidak terjadi interaksi dan antagonisme menunjukkan interaksi yang negative.

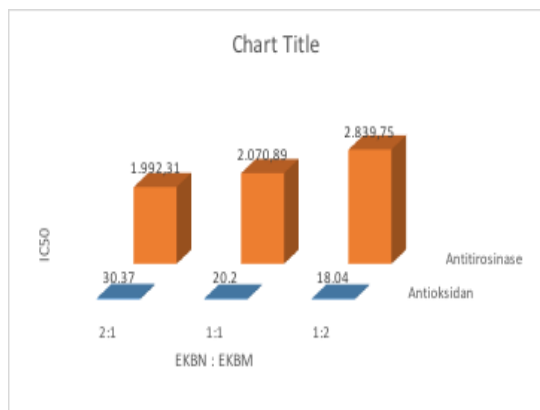
Dengan isobologram dapat pula menentukan sampai sejauh mana nilai IC_{50} yang digunakan untuk mendapatkan efek yang dikehendaki (sinergisme/aditif/antagonism).



Gambar 4. Linieritas Antioksidan dan Penghambat Tirosinase pada EKBN dan EKBM.

Tampak dalam **Gambar 4** bahwa aktivitas daya antioksidan berbanding lurus dengan daya hambat tirosinase. Semakin kuat aktivitas antioksidan, semakin kuat pula daya hambat tirosinase. Aktivitas antioksidan dan hambat tirosinasi EKBM jauh lebih kuat dibandingkan dengan EKBN.

Namun hal ini tidak berlaku untuk kombinasi, seperti tampak pada **Gambar 5** bahwa semakin kuat daya antioksidan kombinasi ekstrak, maka daya penghambat tyrosinase akan semakin lemah.



Gambar 5. Hubungan IC₅₀ antioksidan dan penghambat tirosinase pada kombinasi ekstrak.

Hasil uji anova menunjukkan bahwa IC₅₀ penghambat tirosinase EKBN, EKBM dan seluruh kombinasi ekstrak memiliki perbedaan yang tidak signifikan, tetapi IC₅₀ asam kojat berbeda signifikan dengan EKBN, EKBM dan seluruh ekstrak kombinasi.

Kesimpulan

Kombinasi EKBN dan EKBM, 1:2 memberikan hasil aktivitas antioksidan terbaik dengan nilai IC₅₀ 18,04 ppm (sangat kuat) dan kombinasi EKBN dan EKBM, 2:1 memberikan hasil aktivitas penghambat tirosinase terbaik dengan nilai IC₅₀ tirosinase 1.992,31 ppm. Kombinasi EKBN dan EKBM, 1:2 berpotensi untuk dibuat sediaan kosmetik seperti serum pencerah wajah.

Terdapat korelasi kuantitatif antara IC₅₀ ekstrak kombinasi dengan bobotnya.

Ucapan Terima Kasih

Hasil penelitian ini telah dipresentasikan secara oral pada Pertemuan Ilmiah Tahunan Ikatan Apoteker Indonesia tahun 2022.

Referensi

1. Andarina R, Djauhari T. Antioksidan Dalam Dermatologi. JKK. 2017;4(1):39–48.
2. Bosch R, Philips N, Suárez-Pérez JA, Juarranz A, Devmurari A, Chalensouk-Khaosaat J, et al. Mechanisms of Photoaging and Cutaneous Photocarcinogenesis, and Photoprotective Strategies with Phytochemicals. Antioxidants. 2015;4(2):248–68.
3. Balasaheb S, Pal D. Free Radicals, Natural

Antioxidants, and Their Reaction Mechanisms. R Soc Chem. 2015;27986–8006.

4. Barbulova A, Colucci G, Apone F. New Trends in Cosmetics: By-Products of Plant Origin and Their Potential Use as Cosmetic Active Ingredients. J Cosmet. 2015;2:82–92.
5. Li T, Shen P, Liu W, Liu C, Liang R, Yan N. Major Polyphenolics in Pineapple Peels and their Antioxidant Interactions. Int J Food Prop ISSN. 2014;2912.
6. Sultana B, Hussain Z, Asif M, Munir A. Investigation on the Antioxidant Activity of Leaves, Peels, Stems Bark, and Kernel of Mango (*Mangifera indica* L.). J Food Sci. 2012 Aug;77(8):C849–52.
7. Putri DA, Ulfi A, Purnomo AS, Fatmawati S. Antioxidant and Antibacterial Activities of *Ananas comosus* Peel Extracts. Malaysian J Fundam Appl Sci. 2018;14(2):307–11.
8. Vrianty D, Widowati W, Fibrina D, Fachrial E. Perbandingan Aktivitas Antioksidan dan Anti-Tirosinase pada Ekstrak Bonggol Nanas (*Ananas comosus*) dan Senyawa Luteolin. J Kedokt Brawijaya Vol. 2019;30(4): 240–6.
9. Samart Sai-Ut, Soottawat B, Supaluck K, Saroot R. Optimization of Antioxidants and Tyrosinase Inhibitory Activity In Mango Peels Using Response Surface Methodology. LWT - Food Science and Technology. Vol. 2015; 64(2): 742–749.
10. Norman R Farnsworth. Biological and Phytochemical Screening of Plants. Journal of Pharmaceutical Sciences. Vol. 1966; 55(3): 225–276.
11. Kristiningrum N, Herawati S, Aulia RP, Wardani P. Studi Aktivitas Antioksidan Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Mangga Bachang (*Mangifera foetida* Lour.) dan Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.). Seminar Nasional Pendidik Biol dan Saintek III. 2018: 40–6.
12. Kurniasari A, Anwar E, Djajadisastra J. Potensi Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma cacao* Linn) sebagai Inhibitor Tirosinase untuk Produk Pencerah Kulit. J Kefarmasian Indones. 2018; 8(1): 34–43.
13. Santoso BSA, Sudarsono A, Murti YB,

- Nugroho AE. Synergistic Antioxidant Activity of Mengkudu Fruit Juice (*Morinda citrifolia* Linn) and Temulawak Rhizome Juice (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb). Proceedings of the Pakistan Academy of Sciences, 2018; 55(1): 65-70.
14. Albab U, Nirwana RR, Firmansyah RA. Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Air (*Syzygium samarangense* (BL.) Merr.et Perry Serta Optimasi Suhu Dan Lama Penyeduhan. Walisongo J Chem. 2018;1(1):18-30.
 15. Sari M, Ulfa RN, Marpaung MP, Purnama. Penentuan Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Daun Papasan (*Coccinia grandis* L.) Berdasarkan Perbedaan Pelarut Polar [Determination of Antioxidant Activity and Total Flavonoid Contents Extract of Papasan Leaves (*Coccinia grandis*). Jurnal Ris Kim. 2021;7(1):30-41.
 16. Phongpaichit S, Nikom, J, Rungjindamai N, Sakayaroj J, Hutadilok-Towatana N, Rukachaisirikul V, Kirtikara K. Biological Activities of Extracts From Endophytic Fungi Isolated From Garcinia Plants. FEMS Immunology and Medical Microbiology. Vol. 2007; 51(3): 517-525.
 17. Hikmawanti NPE, Fatmawati S, Asri AW. The Effect of Ethanol Concentrations as The Extraction Solvent on Antioxidant Activity of Katuk (*Sauropus androgynus* (L.) Merr.) leaves extracts. IOP Conf Ser Earth Environ Sci. 2021;755(1).