

POTENSI MAKROALGA *PADINA AUSTRALIS* (HAUCK 1887) DI BARAT SELATAN ACEH SEBAGAI AGEN INHIBITOR TIROSINASE

Mohamad Gazali¹, Eri Safutra², Zulfadhli²

¹Prodi Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Teuku Umar, Meulaboh, Aceh Barat.

²Prodi Akuakultur Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Teuku Umar, Meulaboh, Aceh Barat.

Korespondensi : mohamadgazali@utu.ac.id

Abstract

Seaweeds are marine macro algae that can be found attach to the bottom shallow coastal waters. There are three major groups of seaweeds namely brown algae (Phaeophyta), red (Rhodophyta) and green (Chlorophyta). *Padina australis* is one of brown algae which mostly found in the West-South of Aceh coastal Area. Seaweed contains bioactive compound which can serve as a defense from ultraviolet radiation that caused hyperpigmentation effect The purpose of this study is to analyse the tyrosinase inhibitory activity of *P. australis* extract from West-South Aceh. The results shown that the methanol extract of *P. australis* possess phytochemical properties such as flavonoids, tannin and saponin. tyrosinase inhibitory activity of *P. australis* methanol extract is the best extract which can be inhibit monophenolase with $IC_{50} : 293.520 \mu\text{g/ml}$ and $IC_{50} = 13.571.067 \mu\text{g/ml}$ in diphenolase pathway with kojic acid as positive control. Moreover, chloroform and *n*-hexane extract have no activity of tyrosinase inhibitor. Therefore, new finding of tyrosinase inhibitor agent from marine macroalgae *P. australis* give the fruitfull information for cosmeceutical industry. *P. australis* parts could be complementary each other in providing the raw material of cosmetic product.

Keywords : Aceh, Macroalgae, *Padina australis*, tyrosinase inhibitor

I. Pendahuluan

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di dunia memiliki 17.508 pulau dengan garis pantai sepanjang ± 81.000 km. Negara ini memiliki potensi sumberdaya pesisir dan laut yang sangat besar (Bengen 2002). Salah satu potensi sumberdaya pesisir dan laut adalah rumput laut.

Rumput laut adalah makroalga laut yang ditemukan menempel pada substrat perairan dasar laut. Makroalga terdapat tiga kelompok makroalga meliputi alga cokelat (Phaeophyta), alga merah (Rhodophyta) dan alga hijau (Chlorophyta). Spesies *Padina australis* merupakan salah satu alga cokelat yang kebanyakan ditemukan di Barat Selatan (BARSELA) Aceh. Rumput laut mengandung senyawa bioaktif yang berperan sebagai suatu pertahanan dari radiasi ultraviolet yang menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi kulit. Tujuan kajian ini adalah untuk memperoleh senyawa fitokimia dan aktivitas inhibitor tirosinase.

Penemuan inhibitor tirosinase berasal dari tumbuhan mangrove masih terus diselidiki oleh para ilmuwan. Hal ini dapat memberikan kontribusi besar dalam

bisnis kosmetik untuk menciptakan produk alami (*natural product*) guna melindungi kulit dari efek negatif melanogenesis (hiperpigmentasi) yang disebabkan oleh paparan radiasi ultraviolet secara berlebihan.

Melanogenesis merupakan suatu proses produksi melanin oleh melanosit di dalam kulit dan folikel-folikel rambut (Spritz dan Hearing 1994). Proses ini menghasilkan sintesis pigmen-pigmen melanin yang memainkan peranan protektif dalam melawan fotokarsinogenesis kulit (Biessert 2002) dan spesi oksigen reaktif (*reactive oxygen species*) (Kim dan Uyama 2005). Namun demikian, manusia menyadari warna kulitnya akibat dari pewarnaan yang tidak diinginkan atau hiperpigmentasi (Slominski *et al.* 2004). Hiperpigmentasi ini tidak hanya menjadi masalah estetika namun juga masalah dermatologi (Lin *et al.* 2008). Stimulus psikologis melanogenesis adalah radiasi ultraviolet cahaya matahari yang bertindak secara langsung di dalam melanosit dan secara tidak langsung melalui pelepasan faktor-faktor yang berasal dari keratinosit seperti MSH (*α -melanocyte stimulating hormone*) (Friedmann dan Gilcrest 1987 ; Libow *et al.* 1988 ; Hunt *et al.* 1994). Salah satu agen penyebab terbesar hiperpigmentasi adalah cahaya ultraviolet (Gilchrest *et al.* 1996). Sebenarnya, radiasi ultraviolet (100 - 290 nm) dapat diserap oleh lapisan ozon dan tidak berpengaruh pada kulit. Namun, radiasi ultraviolet (290 - 320 nm) mempengaruhi lapisan superfisial kulit (epidermis) dan menyebabkan kulit terbakar (Pandel *et al.* 2013). Enzim kunci yang berperan dalam biosintesis melanin adalah tirosinase yang diketahui sensitif terhadap radiasi cahaya ultraviolet dengan keberadaan oksigen (Ha *et al.* 2007). Tirosinase merupakan enzim yang mengandung tembaga mengatalisasi dua reaksi yang berbeda dengan menggunakan oksigen molekuler, orto hidroksilasi tirosinase (mono-fenol *3,4-dihidroksifenilalanin* atau DOPA (o-difenol) yang ditetapkan sebagai aktivitas monofenolase dan oksidasi DOPA menjadi dopakuinon (o-kuinon) ditetapkan sebagai aktivitas difenolase (Sanchez-Ferrer *et al.* 1995; Solano *et al.* 2006), selanjutnya o-kuinon berinteraksi dengan molekul-molekul lain pada polimerasi non-enzimatik membentuk pigmen-pigmen cokelat dan hitam (Martinez dan Whitaker 1995). Pada mamalia termasuk manusia, tirosinase bertanggung jawab di dalam proses melanogenesis (hiperpigmentasi) (Chang 2009). Inhibisi aktivitas tirosinase baik monofenolase maupun difenolase akan mengurangi sintesis melanin (Dubey *et al.* 2006).

Dewasa ini, inhibitor tirosinase menarik banyak perhatian karena dapat mencegah hiperpigmentasi. Banyak inhibitor tirosinase digunakan sebagai agen kosmetik (Alena *et al.* 1990) untuk memutihkan kulit seperti asam askorbat dan derivatifnya (Kojima *et al.* 1995), asam azelaic (Schallreuter 1990), asam retinoid (Gilchrest 1998), hidrokuinon (Lin *et al.* 2008), benzaldehida-*O*-alkil-oksima (Ley dan Bertram 2001), kortikosteroid (Takiwaki *et al.* 1994), arbutin (Chakraborty *et al.* 1998) dan asam kojat (Kahn *et al.* 1997; Lim 1999 ; Shiino *et al.* 2003). Namun demikian, senyawa tersebut mempunyai efek samping berbahaya terkait karsinogenesis dan mutagenesis (Lin *et al.* 2008). Misalnya,

asam kojat yang memiliki efek inhibisi dan kestabilan yang paling besar dalam mencegah hiperpigmentasi. Menurut Fujimoto *et al.* (1998) bahwa asam kojat bersifat karsinogenik. Pemakaian asam kojat pada konsentrasi yang tinggi menyebabkan iritasi kulit dan dermatitis kontak alergi (Nakagawa *et al.* 1995 ; Serra-Baldrich *et al.* 1998). Oleh karena itu, penyelidikan dan penemuan inhibitor tirosinase yang aman, sumber bahan baku yang berlimpah dan aktivitas inhibisi yang tinggi sangat dituntut oleh industri kosmetik.

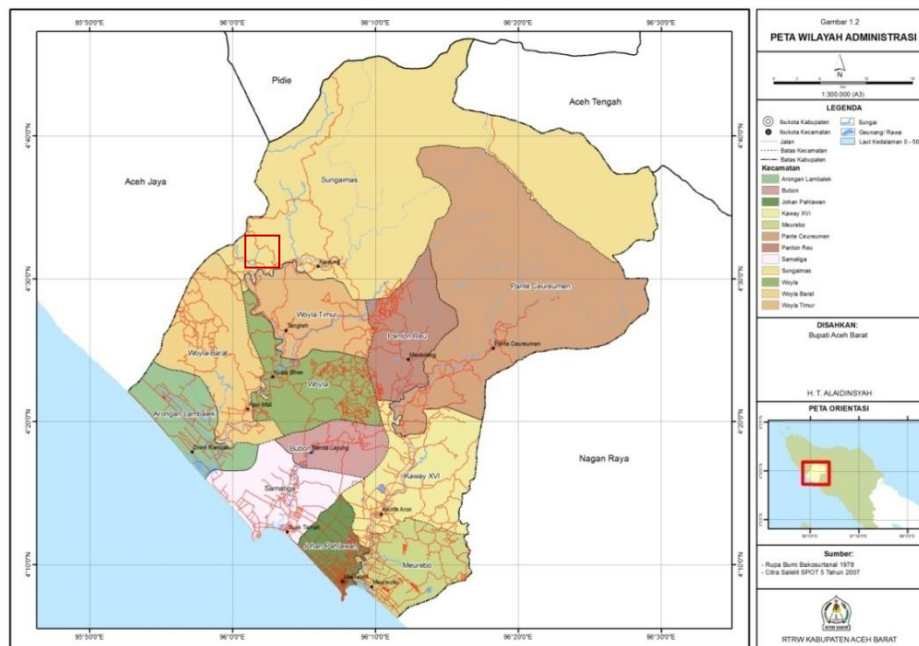
Sejauh ini, sejumlah senyawa yang berasal dari sumber alami maupun sintetik sudah diuji dapat menghambat aktivitas tirosinase yang mengarah pada overproduksi melanin pada lapisan epidermis kulit (Cabanes *et al.* 2001). Namun demikian, hanya sedikit dari senyawa tersebut diterapkan di dalam bahan kosmetik sebagai aditif karena aktivitas inhibisi tirosinase yang masih rendah, keterbatasan sumber bahan baku dan pertimbangan keamanan. Fokus penelitian ini adalah penyelidikan senyawa bioaktif potensial sebagai inhibitor tirosinase yang berasal dari sumber-sumber alami seperti tumbuhan mangrove

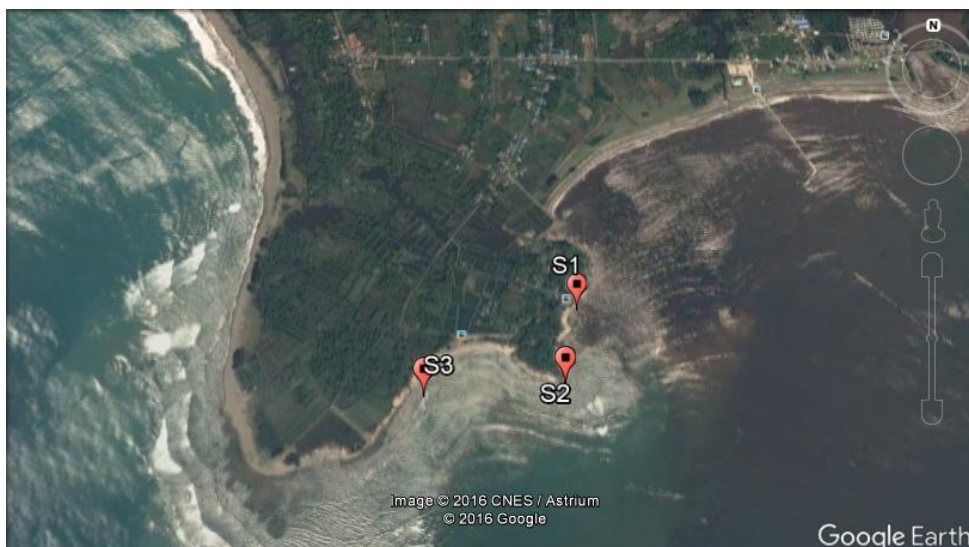
Selanjutnya, eksplorasi senyawa bioaktif yang bisa digunakan perlakuan gangguan dermatologis yang berhubungan dengan hiperpigmentasi kulit, stres oksidatif pada makroalga laut *P. australis* sedang diinvestigasi.

II. Metode Penelitian

Waktu dan Lokasi

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juli sampai September 2017. Lokasi pengambilan sampel *Padina australis* adalah pesisir pantai Lhok Bubon Kabupaten Aceh Barat. Selanjutnya dilakukan penelitian ekperimental yang dilaksanakan di Pusat Studi Biofarmaka Lembaga Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Institut Pertanian Bogor (Gambar 1).





Gambar 1. Lokasi Pengambilan Sampel

Bahan dan Alat

Sampel yang digunakan adalah *Padina australis*. Bahan kimia yang digunakan yaitu metanol p.a, etanol p.a, kloroform p.a, NH_3 , H_2SO_4 2M, H_2SO_4 pekat, pelarut dragendorf, mayer, wagner, serbuk Mg. HCl, amil alkohol, FeCl_3 10 %, NaOH 10 %, CH_3COOH anhidrat, dietil eter, folin ciolcetau 50 %, asam galat, Na_2CO_3 5 %, *n*-heksana, DMSO (*dimetil sulfoksida*), akuades, akuabides, buffer fosfat pH 6.5, L-tirosin, L-DOPA, enzim tirosinase (Sigma 333 unit/ml dalam buffer fosfat).

Instrumen yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis, *multiplate well reader* (ELISA), *multiwell plates*, *ependorf microcentrifuge tube*, oven, tanur listrik, vorteks, sonikator, inkubator, eksikator, corong buchner, hot plate, nyala bunsen, neraca analitik (Sartorius), rotavapor putar, tabung reaksi, gelas erlenmeyer, gelas piala, pipet volumetrik, pipet mikro, pipet dot, penjepit kayu, cawan petri, cawan porselin, kertas saring, corong, sudip, labu takar dan rak tabung reaksi.

Prosedur

Prosedur penelitian dimulai dari pengambilan sampel *Padina australis*, sampel kemudian diidentifikasi di Herbarium Bogoriensis bidang Botani Pusat Penelitian Biologi Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Cibinong Jawa Barat dan Bagian buah tersebut dipisahkan menjadi tiga bagian yaitu kulit buah, kulit biji dan biji buah. Setelah itu, *Padina australis* diambil dan dikeringkan di oven dan digiling untuk dijadikan simplisia (serbuk) dan dilakukan penentuan kadar air dan kadar abu. Sebelumnya semua simplisia diuji fitokimia, kemudian simplisia (serbuk) diekstraksi secara bertingkat dengan cara maserasi dimulai dengan pelarut non polar (*n*-heksana) kemudian diekstraksi kembali dengan pelarut semi-polar (kloroform). Selanjutnya, diekstraksi kembali dengan pelarut polar (metanol). Setelah itu, dilakukan uji aktivitas inhibitor tirosinase dengan menggunakan *multi-well plate reader* (ELISA). Penentuan kandungan total fenol

dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan kemudian dilakukan korelasi linear antara kandungan total fenol dan prosentase inhibisi tirosinase.

Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Preparasi sampel ekstrak *Padina australis* dilakukan dengan cara mengeringkan di oven dan selanjutnya digiling menjadi simplisia (serbuk). Sampel kering berupa serbuk kemudian ditentukan kadar air dan kadar abu, lalu dilakukan ekstraksi secara bertingkat dengan metode maserasi dimulai dengan pelarut non polar (*n*-heksana), semi-polar (kloroform) dan polar (metanol). Ekstrak tersebut diperoleh dengan menyaring simplisia sampel dengan menggunakan kertas saring biasa dan selanjutnya dipekatkan dengan penguap putar (*rotary evaporator*) pada suhu 30⁰C kemudian rendemen tiap ekstrak dihitung (Batubara *et al.* 2010).

Penentuan Kadar Air

Metode penentuan kadar air mengacu pada metode AOAC (1995). Prinsip penentuan kadar air ialah untuk mengetahui kandungan kadar air dalam suatu bahan. Cawan porselin dikeringkan dalam oven pada suhu 105⁰C selama 30 menit, lalu cawan didinginkan di dalam eksikator selama 30 menit dan ditimbang bobot kosongnya. Sampel ditimbang sekitar 3 g dan dimasukkan ke cawan porselin. Sampel beserta cawannya dipanaskan pada suhu 105⁰C selama 3 jam di dalam oven. Setelah didinginkan dalam eksikator selama 30 menit, cawan beserta isinya ditimbang. Penentuan kadar air dilakukan sebanyak 3 kali ulangan (triplo).

$$\text{Kadar Air (\%)} : \frac{A-B}{B} \times 100 \%$$

Dengan :

A adalah bobot sampel basah (g)

B adalah bobot sampel kering (g)

Penentuan Kadar Abu

Metode penentuan kadar abu mengacu pada metode AOAC (1995). Cawan porselin dikeringkan pada temperatur 600 ⁰C selama 30 menit dan didinginkan di dalam eksikator kemudian ditimbang. Sebanyak 2 g sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam cawan porselin. Cawan dan isinya dipanaskan dengan nyala Bunsen sampai tidak berasap lagi. Kemudian cawan dimasukkan ke dalam tanur listrik dengan temperatur 600 ⁰C sampai contoh menjadi abu sama sekali kira-kira 30 menit). Setelah didinginkan dalam eksikator kemudian cawan ditimbang. Pekerjaan dilakukan secara triplo.

$$\text{Kadar Abu (\%)} : \frac{Z-X}{Y} \times 100 \%$$

Dengan :

X adalah bobot kosong cawan porselin (g)

Y adalah bobot sampel (g)

Z adalah bobot cawan dan bahan setelah diabukan (g)

Uji Fitokimia

Uji fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui kandungan senyawa spesifik seperti alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, flavonoid, hidrokuinon dan tanin secara kualitatif (Harborne 1987).

Uji Alkaloid

Ekstrak *Padina australis* dengan bobot tertentu dilarutkan dengan ml kloroform dan beberapa tetes NH_4OH kemudian disaring ke dalam tabung reaksi tertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 10 tetes H_2SO_4 2M dan lapisan asamnya dipisahkan ke dalam tabung reaksi lain. Lapisan asam ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner dan Dragendorf yang akan menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut putih, coklat dan merah jingga.

Uji Saponin dan Flavonoid

Ekstrak *Padina australis* dengan bobot tertentu dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 6 ml akuades dan dipanaskan selama 5 menit, setelah itu disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 2 ml filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 menit, adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih stabil. Sebanyak 10 ml filtrat yang lain ditambahkan 0,5 g serbuk magnesium, 2 ml alkohol klorhidrat (campuran HCl 37% dan EtOH 95 % dengan volume yang sama) dan 3 tetes amil alkohol kemudian dikocok kuat-kuat, terbentuknya warna merah, kuning dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Terpenoid dan Steroid

Ekstrak *Padina australis* dilarutkan dengan 25 ml EtOH panas (50°C) kemudian disaring dalam tabung reaksi dan diuapkan sampai kering. Residu ditambahkan dietil eter dan ekstrak eter dipindahkan ke dalam lempeng, lalu ditambahkan 3 tetes anhidrida asam asetat dan 1 tetes H_2SO_4 pekat (uji Lieberman-Burchard). Warna merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid dan warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid.

Uji Tanin

Ekstrak *Padina australis* ditambahkan 100 ml akuades dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Lalu ke dalam sebagian filtrat ditambahkan larutan FeCl_3 , bila terjadi warna hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.

Uji Aktivitas Inhibisi Tirosinase

Uji ini ditunjukkan dengan menggunakan metode-metode seperti yang dijelaskan dahulu (Curto *et al.* 1999 ; Nerya *et al.* 2003). Ekstrak *Padina australis* dilarutkan di dalam DMSO (*dimetil sulfoksida*) pada konsentrasi akhir $20 \mu\text{g ml}^{-1}$. Larutan ekstrak tersebut kemudian didilusi pada $600 \mu\text{g ml}^{-1}$ di dalam 50 mM buffer fosfat (pH 6.5). Ekstrak tersebut diuji pada tingkat konsentrasi dari 31.25

menjadi 2000 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Asam kojat sebagai kontrol positif yang juga diuji pada konsentrasi 7.8125 menjadi 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Di dalam pelat tetes 96 sumur. Sebanyak 70 μl dari masing-masing ekstrak pengenceran ini ditambahkan dengan 30 μl enzim tirosinase (Sigma 333 unit/ml dalam buffer fosfat pH 6.5), setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu kamar selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 110 μl substrat (2 mM L-tirosin atau 12 mM L-DOPA) dalam sumur *multi-well plate* yang sudah ditentukan, larutan tersebut diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Larutan tersebut diukur dengan menggunakan *multi-well plate reader* (ELISA) dengan panjang gelombang 492 nm, hal ini bertujuan untuk menentukan persen inhibisi dan nilai konsentrasi hambatan 50% (IC_{50}).

Penentuan Kandungan Total Fenol

Pengukuran kandungan fenolik total dilakukan berdasarkan metode Andarwulan *et al.* (1999) yang sedikit dimodifikasi. Pembuatan standar asam galat dilakukan dengan melarutkan 5 mg asam galat ke dalam akuades menggunakan labu takar 25 ml. Kemudian dari larutan tersebut, dibuat standar dengan konsentrasi 0.5, 1, 5, 10, 15, dan 25 ppm. Pengujian kandungan fenolik total dilakukan dengan melarutkan 20 mg ekstrak air atau ekstrak etanol dengan aquades dalam labu takar 25 ml dan dihomogenisasi dengan *shaker*. Kemudian diambil 0,5 mL dari larutan tersebut dan ditambahkan dengan pereaksi Follin Ciocalteu 50% sebanyak 1 ml, dan didiamkan 5 menit. Setelah itu ditambahkan 1 ml Na_2CO_3 5% dan dihomogenisasi dalam gelap selama 1 jam. Lalu nilai absorbansinya diukur pada panjang gelombang 725 nm menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis.

Analisis Data

Perhitungan Persentase Aktivitas Inhibisi Tirosinase

Perhitungan persentase inhibisi dihitung dengan cara membandingkan absorbansi sampel tanpa penambahan ekstrak dan sampel dengan penambahan ekstrak. Nilai IC_{50} diperoleh dari persamaan kurva regresi linear antara % inhibisi (sebagai sumbu *y*) dan konsentrasi ekstrak (sebagai sumbu *x*). Pengukuran persentase aktivitas inhibisi dapat dirumuskan (Chang *et al.* 2005) :

$$\% \text{ inhibisi} = [(A - B)/A] \times 100 \%$$

Keterangan :

A : absorbansi blanko (tanpa sampel)

B : absorbansi sampel (penambahan sampel).

III. Hasil dan Pembahasan

Analisis Fitokimia

Analisis fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu sampel (Harborne 1987). Analisis ini sangat berguna untuk menentukan golongan utama senyawa aktif dari ekstrak *Padina*

australis yang memiliki potensi sebagai inhibitor enzim tirosinase. Uji yang dilakukan meliputi uji alkaloid, saponin, flavonoid, triterpenoid, steroid, dan tanin.

Berdasarkan hasil penelitian, skrining fitokimia ekstrak *P. Australis* memiliki hasil positif pada senyawa flavonoid, tanin dan saponin yang kebanyakan pada pelarut polar. Istilah fitokimia mengacu pada variasi secara luas senyawa yang diperoleh dari tumbuhan dan terutama digunakan untuk menjelaskan kelas-kelas senyawa yang diketahui mempunyai pengaruh pada kesehatan manusia. Senyawa metabolit sekunder merupakan kelas-kelas senyawa yang diketahui menunjukkan aktivitas melawan beberapa penyakit ringan dan oleh karena itu dijelaskan penggunaan obat-obat tradisional (herbal) yang berasal dari tumbuhan untuk perlakuan beberapa penyakit.

Menurut Harborne (1984) bahwa analisis fitokimia merupakan suatu cara untuk mengetahui metabolit sekunder pada sampel. Analisis ini sangat berguna untuk menentukan kategori utama senyawa aktif dari *P. australis* yang memiliki aktivitas inhibitor tirosinase. Senyawa flavonoid ekstrak metanol *P. australis* sebagai inhibitor tirosinase. Kandungan flavonoid dan tanin diasumsikan memberikan aktivitas inhibisi tirosinase yang lebih besar.

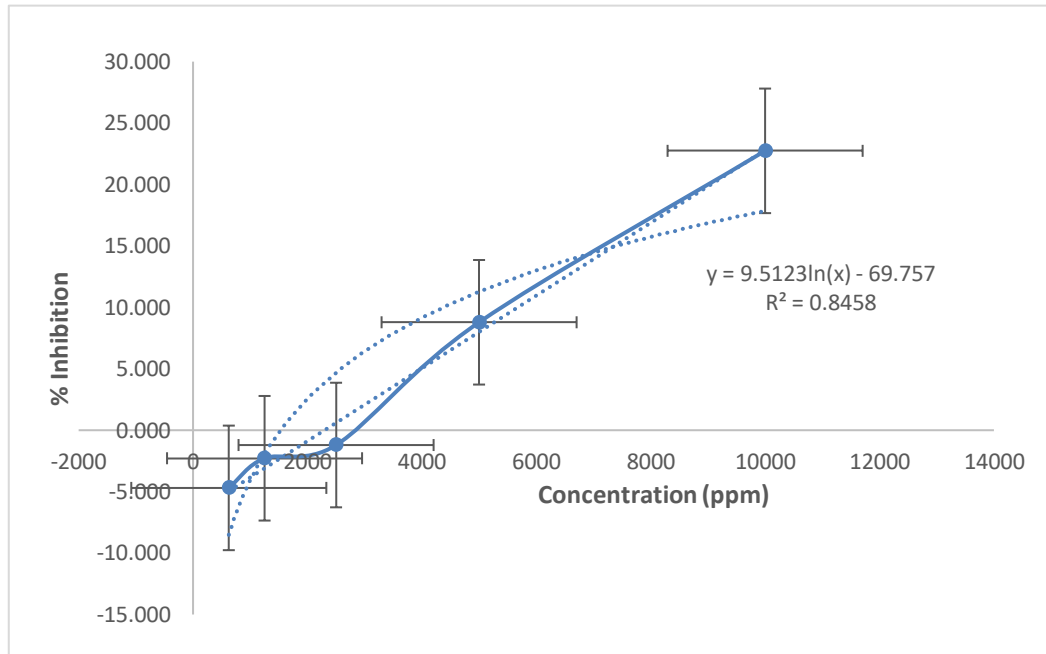
Tabel 1. Sifat Fitokimia Ekstrak *P. australis*

Solvents	Flavonoid	Tanin	Saponin
<i>n</i> -heksan	-	-	-
etil asetat	-	-	-
Methanol	+	+	+

Keterangan : + = ada ; - = tidak ada

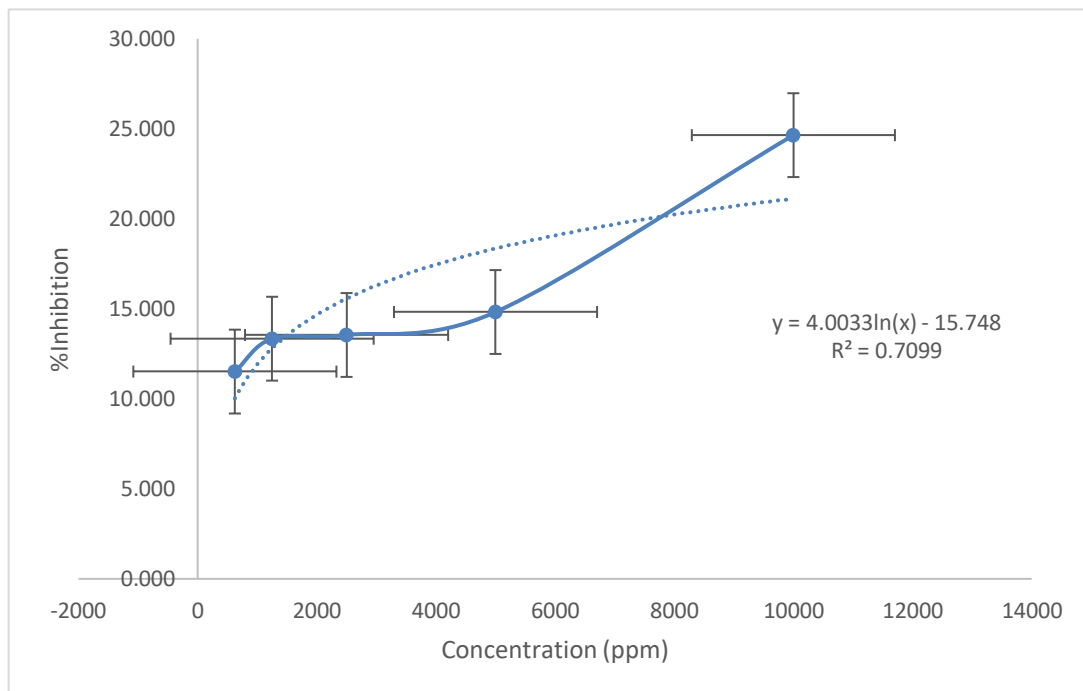
Aktivitas Inhibisi Tirosinase

Aktivitas inhibisi tirosinase dilakukan untuk mengetahui keberadaan dan tidakberadaan aktivitas inhibisi tirosinase pada ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksan. Aktivitas inhibisi tirosinase menunjukkan bahwa dengan nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi yang bisa menghambat 50% enzim tirosinase. Berdasarkan hasil bahwa ekstrak *P. australis* memiliki potensi sebagai inhibitor tirosinase (Gambar 2).



Gambar 2. Perbandingan Persentase inhibisi (%) dan (ppm) pada jalur monofenolase

Pada gambar 2 di atas menunjukkan jika konsentrasi (ppm) tinggi maka persentase inhibisi juga meningkat dengan nilai koefisien determinasi yaitu $y = 9,5123\ln(x) - 69,757$ and $R^2 = 0,845$. Ini menunjukkan bahwa variabel persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) secara signifikan mempengaruhi sebanyak 84% pada jalur monofenolase.



Gambar 3. Perbandingan persentase inhibisi (%) dan konsentrasi (ppm) pada jalur difenolase

Perbandingan antara persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) pada jalur difenolase menunjukkan bahwa nilai koefisien determinasi yaitu $y = 4,0033\ln(x) - 15,748$ and R-squared ($R^2 = 0,709$). Hal ini menunjukkan bahwa variabel persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) secara signifikan mempengaruhi sebesar 70% pada jalur monofenolase. Jadi, kita menyimpulkan bahwa persentase inhibisi dan konsentrasi (ppM) sangat berpengaruh positif dengan tingkat signifikan 95%.

Table 2. Tyrosinase IC_{50} Value of three extracts from *P. australis* sp

Ekstrak	IC_{50} (μ g/ml) Monophenolase	IC_{50} (μ g/ml) Diphenolase
Metanol	293.520	13.571.067
Kloroform	-	-
n-heksan	-	-
Asam Kojat	48,409	112,947

Keterangan : IC_{50} = konsentrasi ekstrak yang bisa menghambat aktivitas tirosinase sebesar 50%; - : tidak mencapai 50% inhibisi pada konsentrasi maksimum 5000 μ g/ml.

Berdasarkan hasil analisis bahwa dengan pelarut yang berbeda meliputi ekstrak n-heksan, kloroform, dan metanol. Kami melakukan skrining aktivitas inhibitor tirosinase (jalur monofenolase dan difenolase). Hasil analisis menunjukkan bahwa aktivitas inhibitor tirosinase ekstrak metanol *P. australis* merupakan hasil terbaik yang mampu melakukan inhibisi aktivitas enzim tirosinase pada jalur monofenolase dengan nilai IC_{50} sebesar : 293.520 μ g/ml dan $IC_{50} = 13.571.067$ μ g/ml pada jalur difenolase dengan asam kojat sebagai control positif.

Sementara itu, pada ekstrak kloroform dan ekstrak n-heksan tidak memiliki aktivitas inhibitor tirosinase. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa non-polar dan semi-polar pada *P. australis* tidak memiliki kemampuan pada aktivitas inhibisi tirosinase. Oleh karena itu, penemuan baru agen inhibitor tirosinase yang berasal dari *P. australis* memberikan informasi yang bermanfaat untuk industri kosmetik. Perhatian utama pada eksplorasi *P. australis* yang diselidiki oleh para ilmu untuk mengatasi masalah yang berkaitan dengan hiperpigmentasi kulit. Jadi, spesies *P. australis* merupakan salah satu makroalga laut yang prospektif untuk kepentingan kosmetik. Hal ini masih dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat pesisir untuk perawatan kulit.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian bahwa *P. australis* ternyata memiliki potensi sebagai agen inhibitor tirosinase. Akan tetapi alga cokelat *P. australis* belum dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai bahan pencerah kulit.

Ucapan Terima Kasih

Penulis berterima kasih kepada mahasiswa FPIK yang membantu dalam mengumpulkan sampel makroalga laut. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada laboran pusat studi biofarmaka LPPM-IPB yang sudah menganalisis aktivitas inhibitor tirosinase. Penelitian ini didanai oleh Kemristek-DIKTI melalui hibah kompetitif nasional.

Daftar Pustaka

- Andarwulan S, Fardiaz, Apriyanto P, Haryadi, Shetty NK. 1999. Mobilization of primary metabolites and phenolics during natural fermentation in seeds of *Pangium edule* Reinw. *Process Biochem.* 35: 197-204.
- AOAC. 1995. Official methods of analysis of the association of official's analytical chemist. Washington DC: Agricultural Chemists.
- Aleem, A.A. 1993. The marine Algae of Alexandria. Egyptian Books House, Egypt.
- Aiyegoro OA, Okoh AI. 2010. Preliminary phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of the aqueous extract of *Helichrysum longifolium* DC. *BMC Complement Altern Med* 10: 21.
- Batubara I, Darusman LK, Mitsunaga T, Rahmiwati M, Djauhari E. 2010. Potency of Indonesian Medicinal Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent. *J Biol Sci* 10: 138-144.
- Bengen DG. 2002. Sinopsis Ekosistem dan Sumberdaya Alam Pesisir dan Laut. Pusat Kajian Sumberdaya Pesisir dan Lautan IPB. Bogor.
- Bold, H.C. 1978. "Introduction to the algae" Structure and Reproduction. Prentice Hall, Inc., New-Jersey 07632.
- Bouck, G.B. 1965. Fine structure and organelle association in brown algae. *J. Cell. Biol.* 26, 513 – 537.
- Coppejans E., Leilaert F., Dargents O, Gunasekara R, Clerck O. 2009. Srilanka Seaweeds Methodologies and Field Guide to the dominant species. University of Ruhuna, Dept. Botany, Matura, Srilanka, pp. 1-265.
- Curto EV, Kwong C, Hermersdosfer H, Glatt H, Santis C. 1999. Inhibitor of mammalian melanocyte tyrosinase: in vitro comparisons of alkyl esters of gentisic acid with other putative inhibitor. *Biochem Pharm* 57: 663-672.
- Harborne JB. 1984. Phytochemical Method: A guide to modern techniques of plant analysis. Second edition. Chapman and Hall. New York.
- Kim, Y.-J.; Uyama, H. 2005. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cell. Mol. Life Sci.*, 62, 1707–1723.

- Nasr A.H. Aleem A.A. 1949. Ecological studies of some marine algae from Alexandria. *Hydrobiologia* 1, 251 – 281.
- Ma W, Wlaschek M, Tantcheva-Poor I, Schneider LA, Naderi L. 2001. Chronological ageing and photoageing of the fibroblasts and the dermal connective tissue. *Clin Exp Dermatol* 26: 592-599.
- Nerya O, Vaya J, Musa R, Izrael S, Ben-Arie R. 2003. Glabrene and isoquiritigenin as tyrosinase inhibitor from liquorice roots. *J Agr Food Chem* 15: 1201-1207.
- Nerya O, Musa R, Khatib S, Tamir S, Vaya J. 2004. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the effect of hydroxyl position and numbers. *Phytochemistry* 65: 1389-1395.
- Perluigi M, De Marco F, Foppoli C, Coccia R, Blarzino C. 2003. Tyrosinase protects human melanocytes from ROS-generating compounds. *Biochem Biophys Res Comm* 305: 250-256.
- Prota G, Thomson RH. 1976. Melanin pigmentation in mammals. *Endeavor*: 35: 32-38.
- Shen LR, Guo D, Yu YM, Yin BW, Zhao L, et al. 2009. Chemical constituents of plants from the genus *Xylocarpus*. *Chem Biodivers* 6: 1293-1308.
- Smith, G. 1944. Marine Algae of Monterey Peninsula. Reprinted from *Madrono* VII (7), pp. 226 – 231.
- Sturm RA, Teasdale RD, Box NF. 2001. Human Pigmentation genes: identification, structure and consequences of polymorphic variation. *Gene*. 227: 49-62.
- Vamos-Vigyazo, L. 1981. Polyphenol oxidase and peroxidase in fruits and vegetables. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 15, 49–127.
- Yamakoshi J, Otsuka F, Sano A, Tokutake S, Saito M, et al. 2003. Lightening effect on ultraviolet-induced pigmentation of guinea pig skin by oral administration of a proanthocyanidin-rich extract from grape seeds. *Pigment Cell Res* 16: 629-638.
- Wu, B.; Zhang, X.; Wu, X. 2012. New lignan glucosides with tyrosinase inhibitory activity from exocarp of *Castanea henryi*. *Carbohydr. Res.*, 355, 45–49.