

AKTIVITAS INHIBITOR TIROSINASERUMPUT LAUT *Halimeda Spp* DARI PESISIR ACEH BARAT

Mohamad Gazali

Prodi Ilmu Kelautan Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Teuku Umar
Korespondensi : mohamadgazali@utu.ac.id

abstract

Seaweeds have been utilized by local community as foodstuff, cosmeceutical, traditional drug and others. There are three major groups of seaweeds namely brown algae (Phaeophyta), red (Rhodophyta) and green (Chlorophyta). *Halimeda* spp is one of green algae which sufficiently dominant at the coastal of West Aceh. 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 *Halimeda* spp extract from West Aceh. The results shown that the methanol extract of *Halimeda* spp possess phytochemical properties such as ekstrak *Halimeda* spp mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, phenol, tannin and steroid. Tyrosinase inhibitory activity of *Halimeda* spp methanol extract is the best extract which can be inhibit monophenolase with IC_{50} : 57300,660 $\mu\text{g/ml}$ and $IC_{50} = 3981685,489 \mu\text{g/ml}$ in diphenolase pathway with kojic acid as positive control. Moreover, etyl acetate and *n*-hexane extract have no activity of tyrosinase inhibitor. Therefore, new finding of tyrosinase inhibitor agent from green algae *Halimeda* spp give the fruitful information for cosmeceutical industry. *Halimeda* spp parts could be complementary each other in providing the raw material of cosmetic product.

Keywords : Aceh, *Halimeda* spp, Seaweed, Tyrosinase Inhibitor

I. Pendahuluan

Rumput laut merupakan salah satu sumber daya hayati yang sangat melimpah di perairan Indonesia. Produksi rumput laut nasional tahun 2014 mencapai 10,2 juta ton atau meningkat tiga kali lipat dari produksi rumput laut tahun 2010 yaitu 3,9 juta ton. Peningkatan rata-rata produksi rumput laut per tahun mencapai 27,71% (DPT 2015).

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). Alga laut hijau dengan nilai ekonomis tinggi dan potensial untuk dikembangkan banyak terdapat di perairan Indonesia antara lain di Kepulauan Seribu dan Perairan Sekotong. Kepulauan Seribu, DKI Jakarta merupakan perairan yang dipengaruhi oleh sungai-sungai yang bermuara di Teluk Jakarta dan Teluk Banten (Booij *et al.*, 2001; Farhan dan Lim 2012).

Spesies *Halimeda* spp merupakan salah satu alga hijau yang distribusi ekologiannya ditemukan di sepanjang pesisir Lhok Bubon Aceh Barat. Rumput laut mengandung senyawa bioaktif yang berperan sebagai suatu pertahanan dari radiasi ultraviolet yang menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi kulit. Tujuan kajian ini adalah untuk melakukan investigasi senyawa bioaktif dan aktivitas inhibitor tirosinase alga hijau *Halimeda* spp asal Pesisir Aceh Barat agar kedepan dapat dimanfaatkan sebagai bahan baku biofarmaka.

Pembentukan melanin berlebih pada kulit disebut dengan hiperpigmentasi atau melanogenesis. Untuk mengurangi pembentukan melanin pada kulit, diperlukan bahan untuk menghambat pembentukannya. Mekanisme pengurangan melanin pada kulit manusia ada

beberapa cara, seperti dengan antioksidan, inhibitor tirosinase, menghambat melanin bermigrasi dari sel satu ke sel lain, dan aktivitas hormon (Prota dan Thomson, 1976, Pawelek dan Korner, 1982).

Penelitian ini difokuskan untuk mengurangi pembentukan melanin dengan jalur inhibitor tirosinase dan antioksidan. Enzim tirosinase atau fenol oksidase merupakan enzim utama yang berperan dalam biosintesis melanin di dalam tubuh makhluk hidup (Likhitwitayawuid, 2008). Pigmen melanin dibiosintesis dari tirosina dengan oksidasi enzimatis oleh tirosinase. Melanin umumnya terdistribusi pada permukaan tubuh dan retina (Yamauchi *et al.*, 2011). Biosintesis melanin oleh enzim tirosinase dilakukan dengan mengatalisis 2 reaksi menggunakan molekul oksigen, yaitu reaksi ortohidroksilasi tirosina menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin atau DOPA (monofenolase) dan oksidasi DOPA menjadi dopakuinon (difenolase). Enzim tirosinase pada mamalia berperan dalam reaksi pigmentasi kulit, mata, dan rambut (Likhitwitayawuid 2008). Hasil oksidasi mengalami polimerisasi membentuk pigmen coklat, merah, atau hitam dengan jalur penggantian radikal bebas (Sanchez-Ferrer *et al.* 1995). Spesies oksigen reaktif (SOR) suatu waktu akan terbentuk pada saat dihasilkannya melanin. Keberadaan SOR akan meningkatkan pembentukan melanin. Oleh karena itu, dibutuhkan penangkapan radikal bebas oleh antioksidan.

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 (Slowinski *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 -*melanocystimulating 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).

Enzim merupakan biokatalis yang mampu meningkatkan laju reaksi kimia tertentu tanpa ikut bereaksi (Montgomery *et al.*, 1993). Tirosinase merupakan enzim yang mengatur biosintesis melanin. Pembentukan melanin dapat dihambat dengan cara menurunkan sintesis tirosinase atau menghambat aktivitasnya (Hartanti dan Setiawan, 2009). Enzim tirosinase bekerja mengubah tirosin menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA) dan kemudian menjadi dopakuinon yang selanjutnya melalui beberapa tahap transformasi dikonversi menjadi melanin (Fitrie, 2004).

Inhibitor tirosinase akan menghambat reaksi pencokelatan atau pembentukan melanin. Berbagai inhibitor tirosinase telah banyak digunakan dalam bahan kosmetik sebagai pencegah hiperpigmentasi, diantaranya adalah asam askorbat, arbutin, asam kojat, merkuri, dan hidrokuinon. Dari beberapa senyawa tersebut, asam kojat memiliki efek inhibisi dan kestabilan paling besar, namun menurut Miyazawa dan Tamura (2007), asam kojat bersifat karsinogenik.

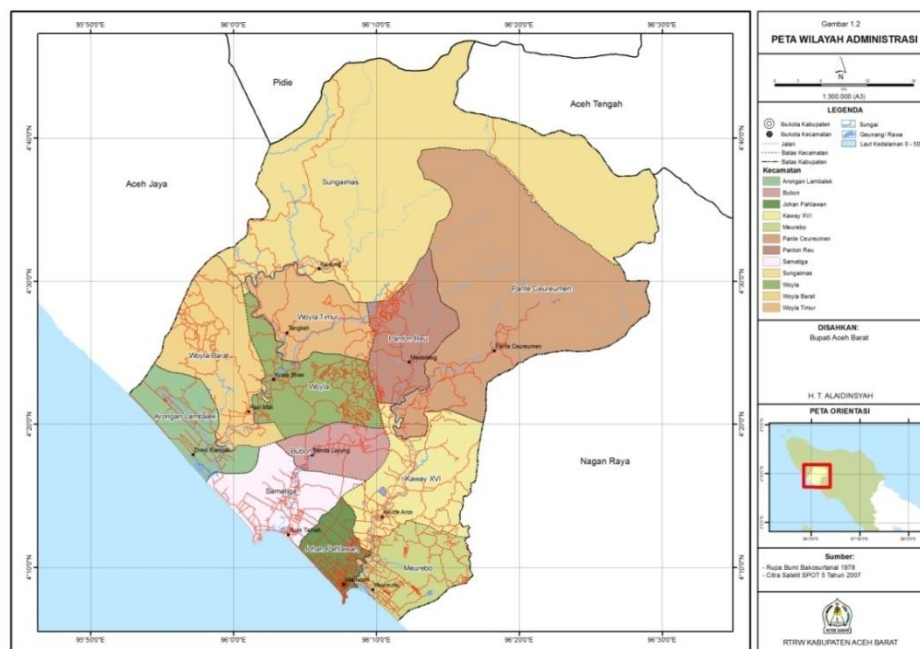
Sejauh ini, sejumlah senyawa yang berasal dari sumber alami maupun sintetik sudah diuji dapat menghambat aktivitas tirosinase yang mengarah pada overproduksi melanin pada lapisan epidermis kulit (Cabanes *et al.*, 2001). Namun demikian, hanya sedikit dari senyawa tersebut diterapkan di dalam bahan kosmetik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

Selanjutnya, eksplorasi senyawa bioaktif yang dapat digunakan perlakuan gangguan dermatologis yang berhubungan dengan hiperpigmentasi kulit, stres oksidatif pada rumput laut *Halimeda* spp sedang diinvestigasi.

II. Metode Penelitian

Waktu dan Lokasi

Penelitian ini dilaksanakan mulai bulan Juni – Agustus 2017. Lokasi pengambilan sampel *Halimeda* spp 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 *Halimeda* spp. Bahan kimia yang digunakan yaitu metanol p.a, etanol p.a, kloroform p.a, NH₃, H₂SO₄ 2M, H₂SO₄ pekat, pelarut dragendorf,

mayer, wagner, serbuk Mg. HCl, amil alkohol, FeCl₃ 10 %, NaOH 10 %, CH₃COOH anhidrat, dietil eter, folin ciolcetau 50 %, asam galat, Na₂CO₃ 5 %, *n*-heksana, DMSO (*dimetilsulfoksida*), 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*, *eppendorf 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 takardan rak tabung reaksi.

Prosedur

Prosedur penelitian dimulai dari pengambilan sampel *Halimeda* spp, sampel kemudian diidentifikasi di Laboratorium Perikanan Universitas Teuku Umar. Setelah itu, *Halimeda* spp diambil dan dikeringkandi bawah sinar matahari 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 (etil asetat). Selanjutnya, diekstraksi kembali dengan pelarut polar (metanol). Setelah itu, dilakukan uji aktivitas inhibitor tirosinase dengan menggunakan *multiwell plate reader* (ELISA). Penentuan kandungan total fenol dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan kemudian dibuat korelasi linear antara kandungan total fenol dan prosentase inhibisi tirosinase.

Preparasi dan Ekstraksi Sampel

Preparasi sampel ekstrak *Halimeda* spp dilakukan dengan cara mengeringkan di bawah sinar matahari 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 (etil asetat) 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).

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 *Halimeda* spp dengan bobot tertentu dilarutkan dengan ml kloroform dan beberapa tetes NH₄OH kemudian disaring ke dalam tabung reaksi bertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 10 tetes H₂SO₄ 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 *Halimeda* spp 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 *Halimeda* spp dilarutkan dengan 25 ml EtOH panas (50⁰C) 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 H₂SO₄ pekat (uji Lieberman-Burchard). Warna merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid dan warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid.

Uji Tanin

Ekstrak *Halimeda* spp ditambah 100 ml akuades dipanaskan selama 5 menit dan disaring. Lalu ke dalam sebagian filtrat ditambahkan larutan FeCl₃, 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 *Halimeda* spp dilarutkan di dalam DMSO (*dimetilsulfoksida*) pada konsentrasi akhir 20 µg ml⁻¹. Larutan ekstrak tersebut kemudian didilusi pada 600 µg ml⁻¹ di dalam 50 mM buffer fosfat (pH 6.5). Ekstrak tersebut diuji pada tingkat konsentrasi dari 31.25 menjadi 2000 µg ml⁻¹. Asam kojat sebagai kontrol positif yang juga diuji pada konsentrasi 7.8125 menjadi 500 µg 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% (IC₅₀).

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 IC₅₀ 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 *Halimeda* spp 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 *Halimeda* spp memiliki hasil positif pada senyawa alkaloid, fenol, flavonoid, tanin dan steroid yang kebanyakan pada pelarut polar. Sementara pada pelarut etil asetat hanya terdeteksi senyawa fenol (Gazali *in press*). 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. Berdasarkan hasil analisis fitokimia bahwa ekstrak *Halimeda* spp mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, tanin dan steroid. Analisis ini sangat berguna untuk menentukan kategori utama senyawa aktif dari *Halimeda* spp yang memiliki aktivitas inhibitor tirosinase. Senyawa flavonoid dan fenol dan tanin ekstrak metanol *Halimeda* spp memainkan peranan penting dalam aktivitas inhibitor tirosinase. Kandungan flavonoid dan tanin diasumsikan memberikan aktivitas inhibisi tirosinase yang lebih besar.

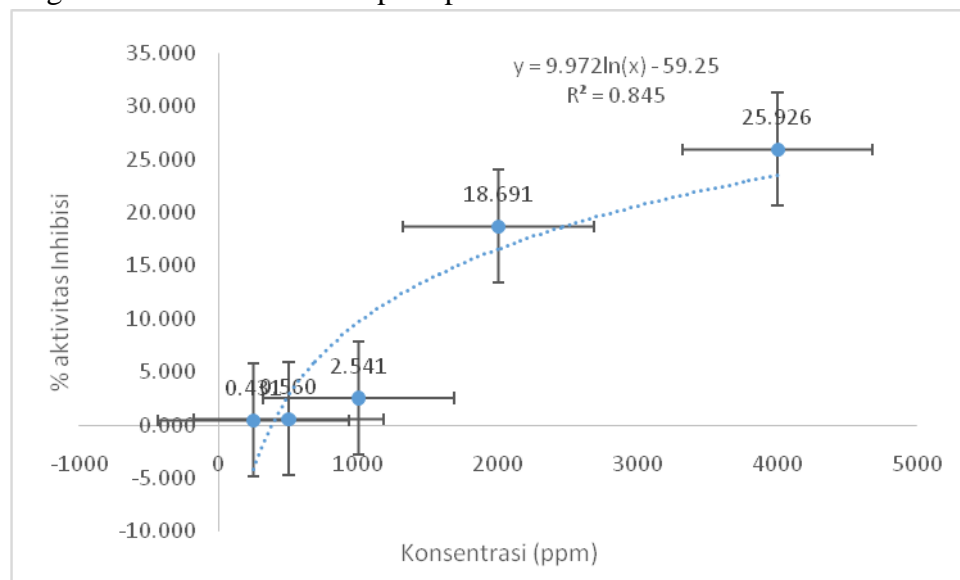
Tabel 1. Sifat Fitokimia Ekstrak *Halimeda* spp (Gazali, *Inpress*)

Senyawa	Etanol	Etil Asetat	n-heksana
Alkaloid			
a. Mayer	-	-	-
b. Wagner	+	-	-
c. Dragendroff	+	-	-
Flavonoid	+	-	-
Fenol	+	+	-
Saponin	-	-	-
Tannin	+	-	-
Steroid	+	-	-
Triterpenoid	-	-	-

Keterangan : + = ada ; - = tidak ada

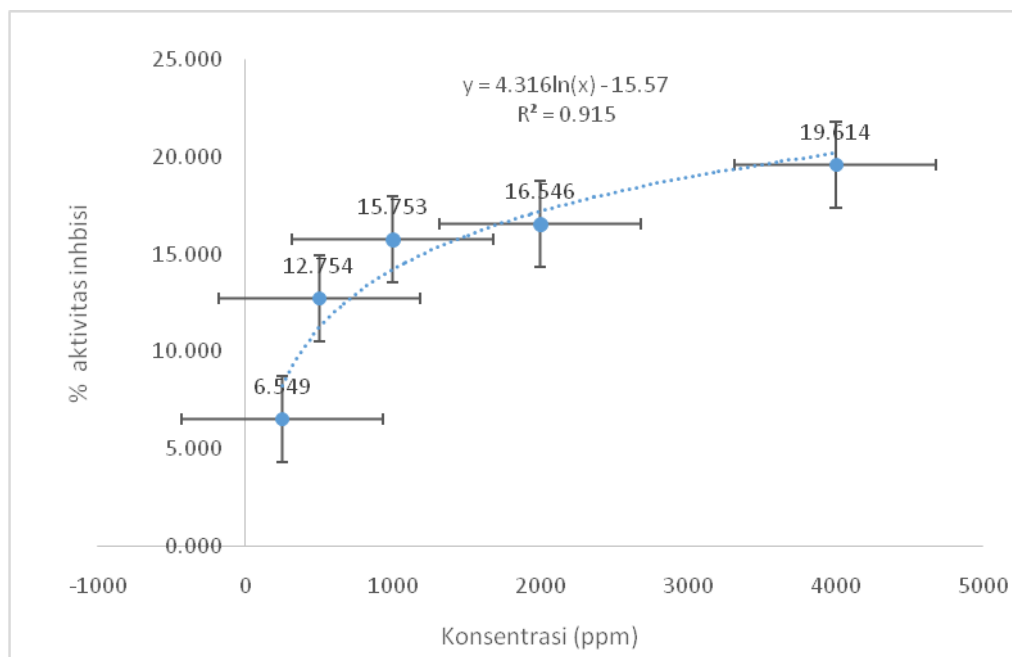
Aktivitas Inhibisi Tirosinase

Aktivitas inhibisi tirosinase dilakukan untuk mengetahui keberadaan dan ketidakberadaan aktivitas inhibisi tirosinase pada ekstrak metanol, etil asetat dan n-heksan. Aktivitas inhibisi tirosinase menunjukkan bahwa dengan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi yang bisa menghambat 50% enzim tirosinase. Berdasarkan hasil bahwa ekstrak *Halimeda* spp memiliki potensi sebagai inhibitor tirosinase seperti pada 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 $y = 9,9721\ln(x) - 59,255$ and R-squared ($R^2 = 0,845$). 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

Gambar 3 menunjukkan perbandingan antara persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) pada jalur difenolase menunjukkan bahwa nilai koefisien determinasi yaitu $y = 4,3166\ln(x) - 15,575$ and $R^2 = 0,915$. Hal ini menunjukkan bahwa variabel persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) secara signifikan mempengaruhi sebesar 91% pada jalur monofenolase. Jadi, kita menyimpulkan bahwa persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) sangat berpengaruh positif dengan tingkat signifikan 95%.

Table 2. Aktivitas inhibitor Tirosinase (IC_{50}) ekstrak *Halimeda* spp

Ekstrak	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) Monophenolase	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$) Diphenolase
Metanol	57300,660	3981685,489
Etil asetat	-	-
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 $\mu\text{g/ml}$.

Berdasarkan hasil analisis bahwa dengan pelarut yang berbeda meliputi ekstrak n-heksan, etil asetat, dan metanol. Kami melakukan skrining aktivitas inhibitor tirosinase (jalur monofenolase dan difenolase). Hasil analisis menunjukkan bahwa aktivitas inhibitor tirosinase ekstrak metanol *Halimeda* spp merupakan hasil baik yang cukup mampu melakukan inhibisi aktivitas enzim tirosinase pada jalur monofenolase dengan nilai IC_{50} sebesar : 57300,660 $\mu\text{g/ml}$ dan $IC_{50} = 3981685,489 \mu\text{g/ml}$ pada jalur difenolase dengan asam kojat sebagai control positif.

Sementara itu, pada ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksan tidak memiliki aktivitas inhibitor tirosinase. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa non-polar dan semi-polar pada *Halimeda* spp tidak memiliki kemampuan pada aktivitas inhibisi tirosinase. Oleh karena itu, penemuan baru agen inhibitor tirosinase yang berasal dari *Halimeda* spp memberikan informasi yang bermanfaat untuk industri kosmetik. Perhatian utama pada eksplorasi *Halimeda* spp yang diselidiki oleh para ilmuwan dapat menghambat terjadinya hiperpigmentasi kulit. Jadi, spesies *Halimeda* spp merupakan salah satu rumput laut yang prospektif untuk kepentingan kosmetik. Hal ini masih dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat pesisir untuk perawatan kulit.

IV. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian bahwa *Halimeda* spp memiliki aktivitas inhibitor tirosinase walaupun masih jauh dari ekstrak tanaman lainnya. Akan tetapi alga hijau *Halimeda* spp belum dimanfaatkan oleh masyarakat pesisir sebagai bahan pencerah kulit.

Ucapan Terima Kasih

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

Daftar Pustaka

- Batubara I, Darusman LK, Mitsunaga T, Rahmiwati M, Djauhari E. 2010. Potency of Indonesian Medicinal Plants a Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent. *J Biol Scie* 10: 138-144.
- Beissert S. 2002. Use of mutant mice in photoimmunological and photocarcinogenetic investigation. *Methods* 28 : 130–137.
- Booij K, Hillebrand TJ, van Ooijen J. 2001. Nutrien, trace metal and organic contaminant in Banten bay, Indonesia. *Marine Pollution Bulletin*. 42(11): 1187-1190.
- Cabanes JS, Chazarra, Carmona FG. 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J. Pharm. Pharmacol.* 46 : 928 - 985.
- 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.
- [DPT] Ditjen Perikanan Tangkap. 2015. Indonesia produsen rumput laut *cottoni* terbesar dunia. <http://kkp.go.id>. Diakses pada tanggal 5 Oktober 2018 pada pukul 12.00 WIB.
- Farhan AR, Lim S. 2012. Vulnerability assessment of ecological condition in seribu island, Indonesia. *Ocean and Coastal Management*. (65) : 1-14

- Fitrie, A.A., 2004, Histologi dari melanosit. e-USURepository Universitas Sumatera Utara 5:1-6.
- Friedmann PS, Gilcrest BA. 1987. Ultraviolet radiation directly induces pigment production by cultured human melanocytes. *J. CellPhysiol.* 133: 88-94.
- Gilchrest BA, Park HY, Eller MS, Yaar M. 1996. Mechanisms of ultraviolet light-induced pigmentation. *Photochem and Photobiol.* 63(1): 1-10.
- Ha YM, Chun SW, Song S, Lee H, Suh H, Chung HY. 2007. 4-(6-Hydroxy-2-naphthyl)-1,3-benzendiol: A potent, new tyrosinase inhibitor. *Biol. Pharm. Bull.* 30 (9) : 1711-1715.
- Harborne JB. 1984. *Phytochemical Method: A guide to modern techniques of plant analysis.* Second edition. Chapman and Hall. New York.
- Hartanti, L., Setiawan, H.K., 2009, Inhibitory potential of some synthetic cinnamic acid derivatives towards tyrosinase enzyme, *IndoJ Chem* 9:158-168
- Hunt G, Todd C, Cresswell JE, Thody AJ. 1994. α -Melanocyte stimulating hormone and its analogue Nle4DPhe7 α -MSH affect morphology, tyrosinase activity and melanogenesis in cultured human melanocytes. *J.Cell. Sci.* 107 : 205-211.
- 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.
- Libow LF, Scheide S, De Leo VA. 1988. Ultraviolet radiation acts as an independent mitogen for normal human melanocytes in culture. *Pig. Cell Res* 1: 397-401.
- Likhitwitayawuid K. 2008. Stillbenes with tyrosinase inhibitory activity. *J CurrSci.* 94:44-52.
- Lin JW, Chiang HM, Lin YC, Wen KC. 2008. Natural products with skin-whitening effects. *J. Food and Drugs Analysis.* (16). 2: 1-10.
- Miyazawa, M, Tamura, N., 2007, Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonum hydropiper* L.(Benitade), *Biol Pharm Bull* 30:595-597.
- Montgomery, R., Conway, T.W., Spector, A.A., 1993, *Biokimia Berorientasi pada Kasus Klinik*, Staf Pengajar FKUI, penerjemah; Jakarta: Binarupa Aksara.
- 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.
- Pandel R, Polsaj B, Godic A, Dahmane R. 2013. Skin photoaging and the role of antioxidants in its prevention. *Dermatology.* 1-11.
- Pawelek JM, Korner AM. 1982. The biosynthesis of mammalian melanin. *Am Sci.* 70:136-145
- Prota G, Thomson RH. 1976. Melanin pigmentation in mammals. *Endeavor*:35: 32-38.

- Sanchez-Ferrer A, Rodrygez-Lopez JN, Garcya-Carmona F. 1995. Tyrosinase: Acomprehensive review of its mechanism. *Biochim Biophys Acta*. 1247:1-11.
- Slowminski A, Desmond JT, Shibahara S, Wortsman J. 2004. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol. Rev.* 84 : 1155 – 1228
- Spritz RA, Hearing VJ. 1994. Genetic disorder dipigmentation. *Adv. Hum. Genet.* 22 : 1- 45.
- Yamauchi K, Mitsunaga T, Batubara I. 2011. Isolation, identification and tyrosinase inhibitory activities of the extractives from *Allamanda cathartica*. *J Natural Resources* 2:167-172.