



## PROSIDING

### SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA III

"Teori dan Aplikasi Sains dalam Isu Globalisasi Lingkungan, Profesionalisasi Pembelajaran dan Kewirausahaan"

Program Studi Pendidikan Kimia Jurusan PMIPA FKIP UNS

Surakarta, 7 Mei 2011



MAKALAH PENDAMPING

BIOKIMIA  
(Kode : F-08)

ISBN : 978-979-1533-85-0

## AKTIVITAS INHIBITOR TIROSINASE SENYAWA BIOAKTIF KULIT BATANG *Artocarpus heterophyllus* Lamk: PROSPEKTIF SEBAGAI ANTI-BROWNING

Zackiyah<sup>1\*</sup>, F.M. Titin Supriyanti<sup>2</sup>, dan Deki Triyadi<sup>3</sup>

<sup>1,2&3</sup> FPMIPA, Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung, Indonesia

\* Keperluan korespondensi, telp/fax : 022-70295259/ 022-2000579, [mzackiyah@yahoo.com](mailto:mzackiyah@yahoo.com)

### Abstrak

*Browning* enzimatis terjadi karena oksidasi senyawa fenolik menjadi kuinon yang dikatalisis oleh tirosinase (polifenoloksidase). Hal ini dapat terjadi pada buah-buahan, sayuran, bahkan kulit manusia. *Browning* enzimatis yang tak diinginkan seperti halnya pada pembuatan tepung kentang, dapat dihambat oleh inhibitor yang tentunya harus aman bagi kesehatan sehingga pada penelitian ini dipilih inhibitor yang berasal dari bahan alam diantaranya *Artocarpus heterophyllus* Lamk. Penelitian bertujuan untuk mendapatkan senyawa *anti-browning* yang efektif dan aman bagi kesehatan. Pada penelitian ini untuk memperoleh *anti-browning* dilakukan isolasi senyawa bioaktif dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* yang berfungsi sebagai inhibitor polifenoloksidase dan uji coba aplikasinya diterapkan pada pembuatan tepung kentang. Teknik isolasi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan pelarut metanol, dilanjutkan fraksinasi dengan heksan dan aseton. Pengujian aktivitas inhibitor dilakukan dengan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 475 nm sedangkan analisis kromatisitas (kecerahan) tepung kentang dilakukan dengan kromameter. Dari hasil fraksinasi diperoleh bahwa aktivitas inhibitor terbaik berada pada fraksi aseton sehingga fraksi ini digunakan pada uji coba aplikasi. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak aseton mampu menginhibisi polifenoloksidase hampir 100% pada konsentrasi 0,07% (b/v). Hal ini sesuai dengan hasil analisis kromatisitas tepung kentang bahwa nilai kromatisitas tertinggi berada pada konsentrasi ekstrak aseton 0,07% (b/v), yaitu dengan nilai kromatisitas ( $L^*$ ) hampir 65.

**Kata kunci :** *Anti-browning*, Polifenoloksidase, *Artocarpus heterophyllus*

### PENDAHULUAN

Tirosinase (EC 1.14.18.1) adalah enzim multifungsi yang mengandung tembaga, merupakan polifenoloksidase (= PPO) berperan pada *browning* enzimatis. Reaksi *Browning* enzimatis berlangsung dalam dua tahap, yaitu hidroksilasi monofenol menjadi o-difenol dan oksidasi o-difenol menjadi o-kuinon [3-4]. Reaksi oksidasi ini dapat terjadi pada buah-buahan, sayuran, bahkan kulit manusia. *Browning* enzimatis yang tak diinginkan seperti halnya pada pembuatan tepung kentang, dapat menurunkan nilai ekonomi dan kualitas pada makanan. Reaksi ini dapat dihambat oleh inhibitor yang tentunya harus efektif dan aman bagi kesehatan.

Pencegahan *browning* merupakan hal terpenting dalam industri makanan, karena warna merupakan salah satu atribut yang digunakan konsumen dalam memilih makanan. Salah satu teknik yang digunakan untuk mencegah *browning* enzimatis adalah dengan penambahan inhibitor. Pencegahan yang sifatnya sementara secara umum telah dilakukan dengan cara perendaman di dalam air, untuk jangka waktu yang lama dewasa ini dilakukan dengan penambahan natrium hidrogen sulfid 1000 ppm[1]. Senyawa sulfid kurang baik bagi kesehatan terutama penderita asmaatik [8] sehingga perlu dilakukan upaya lain yang tentunya harus aman bagi kesehatan.

Penelitian yang telah dilakukan berupaya untuk memanfaatkan bahan alam menjadi suatu produk yang berdaya guna tinggi, yaitu dengan memanfaatkan tanaman nangka (*A.heterophyllus*) sebagai *raw material anti-browning*, mengingat pada uji pendahuluan telah terbukti bahwa tanaman tersebut mempunyai aktivitas inhibisi lebih tinggi dari *A. altilis* dan *A.komuni* [10].

Penelitian selanjutnya telah dilakukan pemilihan pelarut terbaik untuk mengekstrak senyawa aktif inhibitor tirosinase dan diperoleh aseton sebagai pelarut terbaik.

Untuk melihat unjuk kinerja senyawa anti-browning pada raw material *A.heterophyllus* dilakukan aplikasi pada pembuatan tepung kentang, mengingat kentang mudah menjadi coklat setelah dikupas karena terjadi oksidasi senyawa fenolik di dalamnya seperti asam klorogenat, katekol, DOPA, p-kresol dan lain-lain [5]

Hal ini dilakukan mengingat dewasa ini untuk mencegah browning pada pembuatan tepung kentang digunakan natrium hidrogen sulfat pada konsentrasi cukup besar (1000 ppm) untuk meningkatkan nilai ekonomi petani dan untuk ketahanan pangan nasional.

## PROSEDUR PERCOBAAN

### Bahan dan Alat yang digunakan

Alat-alat dan bahan yang digunakan adalah alat-alat gelas standar Laboratorium, neraca analitik, tabung maserasi, *rotary vaccum evaporator*, *water bath*, termometer, spatula, *blender*, spektrofotometer UV-Vis (UV-mini-1240 Shimadzu) dan *chroma Meter/Light Meter* (Minolta CL-200). Serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk, serbuk Mg, HCl (merck), metanol (merck) etanol, aseton (merck), tirosin (merck), tirosinase (merck), DMSO (merck), dinatriumhidrogensulfat, natriumdihidrogenfosfat, aquades dan kentang.

### Preparasi dan ekstraksi

Kulit batang *Artocarpus heterophyllus* yang akan digunakan dibersihkan dari tanah dan lumut, kemudian dikeringkan dan digiling hingga berbentuk serbuk. Serbuk kulit batang *A. heterophyllus* ditimbang sebanyak 1 kg kemudian diekstraksi dengan metode maserasi yang dilakukan selama 2 x 48 jam menggunakan metanol 2x8L. Campuran hasil maserasi disaring dengan corong *Buchner* kemudian filtratnya diuapkan dengan *rotary vacuum evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental metanol. Ekstrak kental metanol hasil maserasi ditimbang kemudian diekstraksi dengan aseton sebanyak 2 kali. Larutan aseton yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental aseton lalu ditimbang.

### Analisis kualitatif Flavonoid

Pada ekstrak metanol hasil maserasi dan fraksi aseton dilakukan uji Flavonoid. ekstrak aseton dan fraksi aseton masing-masing dilarutkan dalam metanol sebanyak 1 mL. Kemudian ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat tetes demi tetes. Jika larutan berubah menjadi warna kuning, itu menandakan adanya flavonoid [8].

### Uji Aktivitas inhibisi

Uji aktivitas aktivitas inhibisi polifenoloksidase dilakukan dengan metode Chang, 2005 [3] dengan sedikit modifikasi, yaitu dengan cara mengukur absorbansi larutan hasil reaksi pada panjang gelombang 475 nm menggunakan spektrofotometer Visible. Sebanyak 660 µL larutan buffer fosfat 0,1M pH 6,5 ditambahkan 40 µL larutan inhibitor (konsentrasi 25 µg/mL, 50 µg/mL, 75 µg/mL, 150 µg/mL dan 300 µg/mL, 200 µL L-tirosin 0,03%, dan 100 µL tirosinase dimasukkan ke

dalam *eppendorf microcentrifuge tube*, kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C.

Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi produk (senyawa quinon). Dari data pengukuran absorbansi dapat dihitung persen aktivitas inhibisi tirosinase berdasarkan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi tirosinase} = [(A-B)/A] \times 100 \dots\dots\dots 1)$$

dimana : A adalah absorbansi kontrol (tanpa ekstrak aseton) dan B adalah absorbansi larutan dengan penambahan ekstrak aseton.

### Aplikasi inhibitor tirosinase

Aplikasi reaksi inhibisi dilakukan pada pembuatan tepung kentang. Sebanyak 1 kg kentang dicampur dengan 1 liter larutan ekstrak aseton pada berbagai konsentrasi (0,03%; 0,04%; 0,05%; 0,06%; 0,07%). Kemudian diblender sehingga diperoleh bubur kentang. Campuran didiamkan hingga endapan dan supernatan terpisah, lalu disaring. Filtrat tersebut diinkubasi selama 1 jam pada 37°C lalu diuji aktivitas inhibisi polifenoloksidase dengan cara mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer Visible pada panjang gelombang 475 nm. Absorbansi yang didapat diubah ke dalam bentuk persen inhibisi seperti pada uji aktivitas. Endapan yang diperoleh, dikeringkan, diblender dan ditentukan tingkat kecerahannya menggunakan kromameter.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Ekstraksi Kulit Batang Nangka (*A.heterophyllus*)

Pada penelitian ini tahap awal dilakukan maserasi dengan metanol, hal ini dilakukan untuk mengekstrak senyawa-senyawa yang bersifat polar terutama flavonoid. Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa senyawa yang menjadi inhibitor tirosinase dari beberapa tanaman *Artocarpus* termasuk golongan senyawa flavonoid [6-12]. Berdasarkan hal tersebut maka

senyawa flavonoid inilah yang diduga memiliki efek anti-browning. Telah dilaporkan beberapa senyawa bioaktif inhibitor tirosinase dari bahan alam diantaranya: *arbutin*, *ellagic acid*, *chloroforin*, *cojic acid*, *phytic acid*, *artocarpanone*, dan *oxyreveratrol* dimana *artocarpanone* dari getah kayu tumbuhan *Artocarpus heterophyllus* (nangka) mempunyai potensi inhibitor tirosinase lebih besar dibandingkan *arbutin*, tetapi lebih lemah dari *cojic acid* [3].

Ekstrak hasil maserasi selanjutnya dipisahkan dari pengotornya dengan menggunakan corong *Buchner*. Kemudian filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental. Dari hasil penguapan tersebut diperoleh ekstrak kental sebanyak 25,53 gram, atau sebesar 2,553 % dari 1 kg serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus*.

Ekstrak kental metanol kemudian dilakukan fraksinasi menggunakan aseton sehingga diperoleh ekstrak aseton cair. Metanol bersifat polar yang disebabkan oleh atom oksigen yang sangat elektronegatif sehingga distribusi elektron cenderung lebih banyak ke arah oksigen. Selain itu, metanol memiliki tetapan dielektrik sebesar 33. Sedangkan aseton memiliki polaritas menengah dan tetapan dielektrik sebesar 21. Perbedaan tetapan dielektrik ini menyebabkan sifat kepolaran kedua pelarut berbeda sehingga dijadikan dasar dalam proses fraksinasi. Komponen-komponen yang memiliki sifat kepolaran yang sama dengan aseton, akan larut dalam pelarut aseton. Sedangkan komponen lain yang tidak larut dalam aseton akan tetap dalam pelarut metanol. Sehingga pada saat fraksinasi komponen yang tidak larut tersebut tetap berbentuk gumpalan coklat pekat.

Ekstrak aseton cair lalu diuapkan menggunakan *evaporator* untuk dihilangkan pelarut aseton. Dari hasil penguapan tersebut

diperoleh ekstrak kental aseton sebanyak 18,27 gram, atau sebesar 1,827 % dari 1 kg serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus*. Ekstrak kental inilah yang dijadikan sebagai inhibitor polifenoloksidase pada kentang.

Selanjutnya dilakukan uji Flavonoid untuk memastikan ada tidaknya senyawa tersebut dalam ekstrak aseton yang diperoleh. Uji Flavonoid dilakukan dengan cara menambahkan serbuk magnesium dan asam klorida pekat tetes demi tetes ke dalam ekstrak. Hasilnya menunjukkan perubahan warna, yaitu dari warna coklat menjadi kuning. Hal ini menunjukkan bahwa dalam larutan ekstrak aseton terdapat senyawa flavonoid. Hasil reaksi serbuk Mg dengan HCl akan menghasilkan ion magnesium dan gas hidrogen. Ion magnesium diduga akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus* membentuk kompleks berwarna kuning. Apabila dalam identifikasi flavonoid dihasilkan warna merah sampai jingga, maka senyawa yang memberikan warna tersebut adalah flavon. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa dalam ekstrak metanol *Artocarpus* terkandung senyawa golongan flavonoid [9].

#### **Penentuan Aktivitas Inhibisi Polifenoloksidase pada Pembuatan Tepung Kentang**

Senyawa kuinon merupakan senyawa yang berwarna coklat. Warna coklat tersebut dihasilkan dari reaksi antara senyawa fenolik dengan polifenoloksidase dengan bantuan oksigen. Intensitas warna coklat yang dihasilkan menentukan kuantitas senyawa kuinon yang terbentuk. Semakin tinggi intensitas warna coklat, maka semakin banyak pula senyawa kuinon yang dihasilkan. Adanya inhibitor berpengaruh terhadap intensitas warna. Semakin tinggi daya inhibisi dari suatu inhibitor, intensitas warna coklat

yang dihasilkan semakin rendah, dan senyawa kuinon yang terbentuk semakin berkurang.

Proses pengujian dilakukan pada 100 gram kentang dengan berbagai konsentrasi ekstrak aseton, yaitu 0,03%; 0,04%; 0,05%; 0,06%; dan 0,07% (b/v). Hal ini dimaksudkan untuk menentukan konsentrasi maksimum dari ekstrak aseton yang dapat menghambat polifenoloksidase dalam kentang. Adapun hasil pengujian aktivitas inhibisi polifenoloksidase ditunjukkan pada Tabel 1 di bawah ini.

Dari Tabel 1 dapat dilihat bahwa seiring dengan bertambahnya konsentrasi ekstrak aseton, persen inhibisi semakin naik. Senyawa bioaktif ekstrak aseton dapat mempengaruhi pusat aktif enzim sehingga reaksi oksidasi senyawa fenolik menjadi senyawa kuinon semakin berkurang seiring bertambahnya ekstrak aseton. Hal ini juga diperkuat oleh kualitas warna tepung kentang yang dihasilkan seperti terlihat pada Hasil analisis dengan kromameter yang dapat dilihat pada Tabel 2.

#### **Penentuan Tingkat Kecerahan Tepung Kentang**

Untuk meyakinkan kemampuan aktivitas inhibisi senyawa bioaktif ekstrak aseton kulit batang *A. heterophyllus* pada pembuatan tepung kentang, maka tepung kentang hasil perlakuan dengan penambahan inhibitor tersebut dilakukan uji pencerahan dengan kromameter. Adapun hasil uji tingkat kecerahan ditunjukkan pada Tabel 2 di bawah ini.

Dari Tabel 2 dapat dilihat bahwa penambahan ekstrak aseton (inhibitor) dapat mempengaruhi nilai-nilai kromatisitas ( $L^*$ ). Tepung kentang yang paling putih memiliki nilai  $L^*$  yang tinggi serta nilai  $a^*$  dan  $b^*$  yang rendah. Hal ini sesuai dengan hasil pengukuran intensitas warna tepung kentang seperti yang tertera pada tabel di atas.

Pada tepung kentang tanpa penambahan ekstrak aseton, nilai  $L^*$  sebesar 63,64 serta nilai  $a^*$  dan  $b^*$  masing-masing 1,44 dan 3,08. Nilai  $L^*$  ini relatif lebih rendah dibandingkan tepung lainnya, sedangkan nilai  $a^*$  dan  $b^*$  lebih tinggi dibandingkan tepung lainnya. Ini menunjukkan bahwa tingkat kecerahan tepung tersebut lebih rendah dibandingkan dengan tepung yang ditambah ekstrak aseton. Hal ini disebabkan pada tepung tanpa penambahan ekstrak aseton terjadi reaksi enzimatik antara polifenoloksidase dengan senyawa fenolik yang ada pada kentang sehingga menimbulkan pencoklatan. Dengan kata lain, reaksi pencoklatan enzimatik antara polifenoloksidase dengan substrat mengalami hambatan sehingga tepung menjadi lebih putih. Berdasarkan tabel di atas, untuk menghasilkan tepung kentang yang paling putih, maka konsentrasi ekstrak aseton yang diperlukan adalah 0,07 % (b/v).

Tepung kentang yang diproduksi berwarna putih, maka yang menjadi acuan utama untuk menentukan kualitas warna tepung adalah nilai  $L^*$ . Karena nilai  $L^*$  menunjukkan tingkat kecerahan dari suatu objek, dengan rentang 0 (hitam) sampai 100 (putih).

Dilihat dari Tabel 2, maka tepung kentang yang paling putih adalah tepung dengan penambahan ekstrak aseton 0,07% (b/v) yang memiliki  $L^*$  sebesar 64,82. Apabila dihubungkan dengan persen inhibisi pada penentuan aktivitas inhibisi polifenoloksidase, maka konsentrasi ekstrak aseton 0,07% (b/v) adalah konsentrasi terbaik untuk menghambat polifenoloksidase dengan persen inhibisi 99,87 % sehingga menghasilkan tepung kentang yang paling putih.

## KESIMPULAN

Ekstrak aseton kulit batang *Artocarpus heterophyllus* prospektif sebagai inhibitor tirosinase pada pembuatan tepung kentang.

Konsentrasi ekstrak aseton yang diperlukan untuk menghambat polifenoloksidase sebesar 0,07% (b/v) dengan persen inhibisi 99,87% dan nilai kromatisitas  $L^*$  sebesar 64,82.

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kami ucapkan kepada DP2M DIKTI yang telah membiayai Penelitian ini melalui Skim Penelitian Hibah Bersaing Tahun ke-1 2010 dan Tahun ke-2 2011.

## DAFTAR RUJUKAN

- [1] Anonim., tanpa tahun, <http://www.tepungkentang.co.cc/2010/01/proses-pembuatan-tepung-kentang.html>
- [2] Anonim., 1991, *Chromameter Instruction Manual*. [Online]. Tersedia: <http://www.uoregon.edu/~baker/tools/instruction%20manuals/Minolta%20Chroma%20Meter.pdf> [17 April 2010]
- [3] Arung, E. T., K. Shimizu., and R. Kondo., 2006, *J. Biol. Pharm. Bull.* 29 (9), 1966-1969.
- [4] Chang, T. S., H.Y. Ding, and H.C. Lin., 2005. 69 (10), 1999-2001.
- [5] Jinadasa, B.K.K.K., 2009, *Browning Reaction of food*, Department of Food Science and technology, Universitas of Sri Jayawardanapura.
- [6] Kim, Y. J., K. J. Kyung, J. H. Lee., and H. Y. Chung., 2004. *J. Biol. Pharm. Bull.* 28 (2) 323-327.
- [7] Marshall, M R., Jeongmok Kim & Cheng-I Wei (2000), *Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods*, FAO
- [8] Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: Penerbit ITB.
- [9] Marlina, Soerya dewi, Venty Suryanti, dan Suyono. (2005). "Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol". *Biofarmasi* 3(1):26-31.

- [10] Supriyanti, F.M T., dkk (1996), Isolasi dan identifikasi kandungan kimia dari daun dan kulit batang tanaman *artocarpus heterophyllus* Lmk, Laporan Penelitian Proyek Pembinaan & Peningkatan Mutu Tenaga Kependidikan, FPMIPA UPI Bandung.
- [11] Vasile, M., 2010, Proceeding of International Conference BIOATLAS 2010, Transilvania Universitu of Brasov, Romania.
- [12] Zheng, Z. P., Cheng, K. W., To, J. T., Li, H. and Wang, M.,2008, [\*Mol Nutr Food Res.\*](#) 52(12):1530-8.



## LAMPIRAN

**Tabel1. Uji Aktivitas Inhibisi Polifenoloksidase pada 100 gram Kentang Berbagai Konsentrasi Ekstrak Aseton**

No	Konsentrasi Ekstrak Aseton (% b/v)	Inhibisi (%)
1	kontrol	0
2	0,03	53,08
3	0,04	70,37
4	0,05	94,87
5	0,06	98,94
6	0,07	99,87

**Tabel 2. Hasil Uji pencerahan Tepung Kentang pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Aseton**

No	Konsentrasi Ekstrak Aseton (%)	Nilai Kromatisitas		
		L*	a*	b*
1	0	63.64	1.44	3.08
2	0.03	64.49	1.31	2.45
3	0.04	64.51	1.29	2.33
4	0.05	64.65	1.27	2.3
5	0.06	64.73	1.26	2.29
6	0.07	64.82	1.24	2.05