



**MAKALAH  
PENDAMPING**

**BIOKIMIA  
(Kode : H-03)**

**ISBN : 979363167-8**

## **EKSPLORASI INHIBITOR TIROSINASE DARI KULIT BATANG *Artocarpus heterophyllus* Lamk DAN APLIKASINYA PADA PRODUKSI TEPUNG KENTANG**

**F.M. Titin Supriyanti <sup>\*1</sup>, Gebi Dwiyantri <sup>2</sup>, Nurul Ajeng Susilo <sup>3</sup>**

<sup>1,2,3</sup> Program Studi Kimia, Jurusan Pendidikan Kimia  
Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Pendidikan Indonesia, Bandung, Indonesia.

Email address : florentinasupriyanti@yahoo.co.id

### **ABSTRAK**

Pencoklatan enzimatis dapat terjadi pada buah, sayuran maupun kulit manusia. Pencoklatan tersebut terjadi oleh adanya reaksi tirosin-tirosinase yang menghasilkan senyawa dopakrom berwarna coklat. Untuk menghambat pencoklatan tersebut diperlukan suatu inhibitor. Inhibitor yang dipilih hendaknya aman digunakan dalam makanan, salah satunya berasal dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk. Senyawa bioaktif inhibitor tirosinase yang terdapat pada *Artocarpus heterophyllus* Lamk diduga termasuk golongan senyawa flavonoid. Agar diperoleh senyawa flavonoid yang nantinya dapat diaplikasikan untuk makanan, maka diperlukan pelarut yang aman (alami) untuk mengekstrak senyawa tersebut. Penelitian ini bertujuan menentukan pelarut yang dapat mengekstrak senyawa bioaktif kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk sebagai inhibitor tirosinase dan aman jika dikonsumsi. Selanjutnya ekstrak terpilih diaplikasikan pada produksi tepung kentang. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi menggunakan berbagai pelarut yaitu pelarut air, campuran air dan asam asetat dengan variasi konsentrasi 9:1, 8:2 dan 7:3. Pengujian aktivitas inhibisi ekstrak menggunakan spektrofotometer visible dengan panjang gelombang 475 nm. Analisis warna tepung kentang dilakukan menggunakan kromameter. Hasil analisis menunjukkan bahwa ekstrak air mampu menginhibisi tirosinase terbaik dengan % inhibisi sebesar 99,28% pada konsentrasi sebesar 0,06% (b/v). Aplikasi ekstrak air pada produksi tepung kentang diperoleh hasil untuk massa kentang 50 gram diperlukan konsentrasi ekstrak air optimum (0,06%). Tepung kentang yang dihasilkan berwarna putih dengan nilai kromatisitas  $L^*$  sebesar 64,68. Filtrat hasil perendaman 50 gram kentang dalam larutan ekstrak air 0,06% diperoleh persen inhibisi sebesar 99,38%. Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak air kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk dapat menghambat pencoklatan pada produksi tepung kentang.

**Kata Kunci:** *Inhibitor Tirosinase, Artocarpus heterophyllus Lamk, Tepung kentang*

### **PENDAHULUAN**

Proses pencoklatan yang terjadi pada buah-buahan dan sayuran termasuk pencoklatan enzimatis. Proses terjadi akibat pembentukan dopakrom dari tirosin dengan

bantuan tirosinase sebagai biokatalis. Tirosinase merupakan enzim yang berperan dalam biosintesis melanin (pigmen warna coklat). Untuk mencegah terjadinya proses pencoklatan harus dilakukan penghambatan

menggunakan suatu inhibitor tirosinase. Telah banyak dilakukan penelitian tentang penentuan inhibitor alami yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase pada reaksi pencoklatan, salah satunya dari kulit batang tanaman *Artocarpus heterophyllus* Lamk (nangka). Rustianingsih [1] melakukan ekstraksi terhadap kulit batang *Artocarpus* (nangka-nangkaan) yaitu *Artocarpus heterophyllus* Lamk (nangka), *Artocarpus altilis* (sukun) dan *Artocarpus communis* (kluwih) sebagai inhibitor tirosinase. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk memiliki daya inhibisi terbaik dibandingkan dengan *Artocarpus altilis* dan *Artocarpus communis*. Hal tersebut menunjukkan bahwa kandungan senyawa bioaktif pada kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk berpotensi sebagai inhibitor tirosinase. Pada penelitian tersebut dilakukan isolasi senyawa bioaktif dengan menggunakan pelarut metanol, tetapi seperti yang telah diketahui bahwa metanol merupakan bahan kimia yang bersifat racun, sementara itu, senyawa hasil ekstraksi akan digunakan untuk menghambat reaksi pencoklatan yang diaplikasikan untuk makanan. Berdasarkan alasan tersebut perlu adanya penelusuran lebih lanjut untuk mendapatkan pelarut terbaik yang aman untuk mengekstrak senyawa inhibitor tirosinase dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa inhibitor tirosinase merupakan senyawa organik yang tergolong sebagai senyawa fenolik. Pendapat tersebut didukung oleh pernyataan bahwa tumbuhan

*Artocarpus heterophyllus* Lamk ini adalah salah satu jenis spesies dari family *Moraceae* yang diketahui mengandung senyawa fenolik dari golongan flavonoid lebih banyak dibandingkan dengan senyawa non fenol dari golongan terpenoid dan steroid [7]. Senyawa bioaktif inhibitor tirosinase yang terkandung dalam kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk ini merupakan senyawa flavonoid yang kemungkinan termasuk golongan flavon [2]. Hal tersebut dibuktikan melalui uji secara kualitatif untuk senyawa golongan flavonoid yang menunjukkan terbentuknya warna larutan yang berada pada rentang warna senyawa golongan flavon. Maka upaya pencarian pelarut diusahakan menggunakan pelarut yang mampu melarutkan senyawa flavon yaitu pelarut polar. Telah dilaporkan bahwa penelitian mengenai pelarut terbaik digunakan untuk ekstraksi senyawa bioaktif inhibitor tirosinase (senyawa fenolik), antara lain yang dilakukan oleh Steck [3] yaitu menentukan pelarut terbaik sebagai pengeksrak inhibitor tirosinase dari beberapa jenis tanaman, diantaranya *epilobium angustifolium*, *oenothera biennis*, *epilobium angustifolium*. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi yaitu etanol, campuran air:etanol (1:1), air dan etil asetat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada tanaman *epilobium angustifolium* dan *epilobium angustifolium* pelarut terbaik yang dapat mengekstrak inhibitor tirosinase adalah pelarut air, sedangkan untuk 3 tanaman *oenothera biennis* pelarut terbaik yang dapat mengekstrak inhibitor tirosinase yaitu pelarut etil asetat dengan persen inhibisi tertinggi. Berdasarkan hal tersebut,

maka pada penelitian ini dilakukan ekstraksi senyawa bioaktif inhibitor tirosinase dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk menggunakan pelarut air dan campuran air : asam asetat dengan variasi konsentrasi. Campuran air : asam asetat diperkirakan memiliki tingkat kepolaran yang mendekati kepolaran dari etil asetat, karena pada penelitian yang dilakukan oleh Steck [3] menyatakan bahwa etil asetat merupakan salah satu pelarut terbaik sebagai pengekstrak inhibitor tirosinase. Senyawa bioaktif hasil ekstraksi akan digunakan sebagai inhibitor tirosinase yang diaplikasikan untuk produksi tepung kentang. Tirosinase merupakan salah satu enzim yang termasuk dalam kelompok polifenoloksidase (PPO). Polifenol-oksidas merupakan kelompok enzim. Salah satu enzim tersebut terkandung dalam kentang. Sehingga uji aktivitas inhibisi tirosinase dilakukan melalui produksi tepung kentang dengan menggunakan variasi konsentrasi ekstrak inhibitor dan variasi massa kentang. Dari kedua kondisi tersebut diharapkan dapat diperoleh hasil tepung kentang yang warnanya cerah (putih), dengan konsentrasi ekstrak dan massa kentang optimal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pelarut terbaik dalam mengekstrak senyawa bioaktif dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase. Selanjutnya memanfaatkan hasil ekstraksi tersebut dan mengetahui konsentrasinya dalam produksi tepung kentang dengan tingkat kecerahan warna tepung yang tinggi.

## **METODE PENELITIAN**

Bahan yang digunakan pada penelitian meliputi serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk (nangka),  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  (natrium dihidrogenfosfat) dan  $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$  (asam sitrat) untuk pembuatan larutan buffer fosfat 0,1M dengan pH 6,5, L-Tirosin 0,03%, larutan Tirosinase, dimetilsulfoksida (DMSO), asam klorida pekat, serbuk magnesium dan beberapa pelarut yang diperlukan adalah metanol, air serta campuran air dan asam asetat dengan berbagai variasi konsentrasi (9:1; 8:2; 7:3). Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi set alat destilasi, neraca digital 4 digit, tabung maserasi, termometer, corong *Buchner*, labu Erlenmeyer berpenghisap, batang pengaduk, gelas ukur, gelas kimia, *rotary vacuum evaporator*, pipet mikro, box sterofom, lumpang-alu dan beberapa peralatan gelas, *water bath*, pH meter *Uchida*, *ependorf microcentrifuge tube*, serta spektrofotometer UV/Vis *Shimadzu 1240* yang berada di Jurusan Pendidikan Kimia.

Penelitian ini dilakukan dengan dua tahapan, yaitu tahap penentuan pelarut terbaik untuk ekstraksi senyawa bioaktif inhibitor

tirosinase dan tahap pengujiannya terhadap produksi tepung kentang.

### **1. Tahap penentuan pelarut terbaik.**

Pada tahap ekstraksi inhibitor tirosinase terdiri atas beberapa tahapan, yaitu tahap penyiapan sampel, tahap ekstraksi kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk, tahap pengujian secara kualitatif senyawa flavonoid dan tahap penentuan pelarut terbaik melalui uji aktivitas inhibisi. Pada tahap penyiapan

sampel, kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk diambil dari daerah Sumedang, kemudian dideterminasi di Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati (SITH) ITB untuk menentukan spesies tanaman tersebut. Kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk yang digunakan dibersihkan dari lumut dan dikeringkan pada suhu kamar selama  $\pm 1$  bulan. Sampel yang telah kering dibersihkan kembali dari debu kemudian dipotong-potong, digiling hingga berbentuk serbuk halus. Tahap ekstraksi dilakukan dengan cara serbuk kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk ditimbang sebanyak 1,5 kg kemudian diekstraksi menggunakan metode maserasi yang dilakukan selama 2 x 24 jam dengan menggunakan pelarut metanol, air, campuran air dan asam asetat dengan komposisi (9:1) ; (8:2) ; (7:3). Pada proses maserasi digunakan sebanyak 2 x 2 L untuk masing-masing pelarut. Ekstrak cair yang diperoleh dari maserasi disaring menggunakan corong Buchner. Filtrat kemudian diuapkan menggunakan *rotary vaccum evaporator* untuk menghasilkan ekstrak kental dari kelima pelarut yaitu metanol, air, campuran air dan asam asetat (9:1) ; (8:2) ; (7:3).

Tahap pengujian senyawa flavonoid. Ekstrak kental dari masing-masing pelarut diambil, dilarutkan dalam 1 mL pelarutnya, kemudian ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat. Jika larutan menghasilkan warna kuning menunjukkan adanya flavonoid [4].

Tahap penentuan pelarut terbaik melalui uji aktivitas inhibisi. Pengujian dilakukan menggunakan metode Miyazawa

dan Naotaka Tamura [5], yang telah dimodifikasi. Aktivitas inhibisi tirosinase ditentukan dengan mengukur absorbansi menggunakan spektrofotometer visible pada panjang gelombang 475 nm.

Dari data absorbansi yang diperoleh dapat diketahui persen inhibisinya dengan rumus sebagai berikut:

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

Ket. : A adalah absorbansi larutan tanpa sampel (larutan buffer fosfat 0,1 M, larutan L- tirosin, DMSO dan larutan tirosinase) dan B adalah absorbansi dengan penambahan sampel (larutan buffer fosfat 0,1M, larutan sampel dalam DMSO, larutan L- tirosin, dan larutan tirosin [6].

## 2. Tahap aplikasi ekstrak terbaik.

Tahap pengujian ekstrak sebagai inhibitor tirosinase pada produksi tepung kentang meliputi dua tahap, yaitu tahap uji inhibisi variasi konsentrasi ekstrak terbaik dan tahap uji efektivitas konsentrasi ekstrak optimum dengan cara variasi massa kentang, dan uji tingkat kecerahan tepung kentang.

Cara kerja untuk tahap variasi konsentrasi ekstrak, yaitu pertama kentang dibersihkan, dikupas dan dipotong-potong, kemudian ditimbang sebanyak 100 gram (untuk tahap variasi konsentrasi ekstrak). Kentang yang telah ditimbang, dicampurkan dengan larutan ekstrak dengan berbagai konsentrasi yaitu 0,03%; 0,04%; 0,05%; 0,06%; 0,07%; 0,08%; 0,09% dan 0,10%, kemudian diblender. Campuran bubur kentang disaring, kemudian filtrat dari masing-masing konsentrasi diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam, kemudian disentrifuge. Setelah itu, diukur

absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis ( $\lambda = 475 \text{ nm}$ ), kemudian diperoleh nilai absorbansi yang dapat dikonversi ke dalam persen inhibisi. Residu dikeringkan dan dihaluskan, sehingga diperoleh tepung kentang. Tepung tersebut diuji tingkat kecerahannya menggunakan kromameter. Penentuan konsentrasi ekstrak optimum dilihat berdasarkan persen inhibisi tertinggi.

Tahap selanjutnya adalah uji efektivitas konsentrasi ekstrak optimum dengan cara variasi massa kentang. Pada tahap ini cara kerja yang dilakukan hampir sama dengan tahap uji inhibisi variasi konsentrasi ekstrak, perbedaannya yaitu massa kentang. Massa kentang yang digunakan bervariasi (50 g, 100 g, 150 g, 200 g, 250 g), sedangkan konsentrasi larutan ekstrak yang digunakan adalah konsentrasi larutan ekstrak optimum.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### 1. Penentuan Pelarut Terbaik dalam

#### Ekstraksi Senyawa Bioaktif Inhibitor Tirosinase.

Penentuan pelarut untuk ekstraksi senyawa bioaktif diawali oleh determinasi tanaman nangka. Hasil menunjukkan:

Nama suku/familia : Moraceae

Nama jenis/species : *Artocarpus heterophyllus* Lamk.

Sinonim: *Artocarpus philippensis* Lamk.,  
*Artocarpus brasiliensis* Gomez,  
*Artocarpus maxima* Blanco

Nama umum : Jackfruit (Inggris),  
Nangka (Indonesia)

Hasil penggilingan sampel diper-oleh 3,1 Kg dari 9 Kg kulit batang *Artocarpus*

*heterophyllus* Lamk basah (34,44 %), berwarna kuning kecoklatan.

### A. Hasil Ekstraksi Kulit Batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk

Hasil maserasi dari 300 gram sampel dengan menggunakan berbagai pelarut didapat sesuai Tabel 1. Seperti yang terlihat pada tabel 1, hasil penguapan vakum semua pelarut, diperoleh ekstrak kental metanol dengan intensitas warna coklat paling tinggi, massa sebanyak 15,370 gram (5,12 % dari massa awal) yang merupakan ekstrak kental yang paling Tabel 1. Hasil Ekstraksi Kulit Batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk

No.	Pelarut	Warna Ekstrak	Massa Ekstrak (Gram)	Persen Ekstrak (%)
1	Metanol	++++	15,370	5,12
2	Air	++	16,932	5,64
3	Air : .Asetat (9:1)	+++	41,210	13,74
4	Air :Asetat (8:2)	+++	24,100	8,03
5	Air : Asetat (7:3)	+++	35,673	11,89

\*ket : (+) menandakan tingkat kepekatan warna coklat.

rendah presentase massanya. Sedang presentase massa ekstrak tertinggi yaitu ekstrak air : asam asetat (9:1) sebanyak 41,21 gram (13,74 % dari massa awal) dengan intensitas warna ekstrak kentalnya berwarna coklat. Dalam penelitian ini digunakan pelarut metanol, air, campuran air : asam asetat dengan variasi konsentrasi (9:1); (8:2); dan (7:3). Hasil ekstraksi dari

masing-masing pelarut menghasilkan warna ekstrak dan persentase massa ekstrak yang berbeda. Hal ini dikarenakan pelarut air bersifat paling polar dibandingkan pelarut metanol dan campuran air: asam asetat sehingga senyawa-senyawa yang akan terekstrak hanya senyawa yang memiliki kemiripan sifat yaitu senyawa yang bersifat polar (*like dissolved like*), maka persentase massa ekstrak yang diperoleh lebih kecil daripada ekstrak campuran air : asam asetat dengan variasi konsentrasi. Pernyataan tersebut dibuktikan dari harga momen dipol air yang lebih besar yaitu 1,85 D dibandingkan dengan pelarut metanol 1,69 D dan asam asetat 1,74 D. Jika dilihat dari data Tabel 1, hasil presentase massa ekstrak yang tinggi yaitu pada ekstrak campuran air : asam asetat dengan variasi konsentrasi, sedangkan presentase massa paling rendah pada ekstrak metanol. Hal tersebut karena pelarut metanol dan campuran air : asam asetat termasuk pelarut yang bersifat semipolar.

Pada umumnya senyawa flavonoid bersifat polar, tetapi jika dilihat dari struktur masing-masing senyawa flavonoid memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Sifat polar disebabkan adanya perbedaan keelektronegatifan atom-atom yang membentuk ikatan dan bentuk molekul yang tidak simetris atau pasangan elektron yang tidak tersebar merata. Senyawa bioaktif yang dapat menghambat reaksi pencoklatan dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk ini termasuk senyawa golongan flavonoid (Triadi, 2011). Pada umumnya senyawa flavonoid bersifat polar, tetapi jika dilihat dari struktur masing-masing senyawa

flavonoid memiliki tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Sifat polar disebabkan adanya perbedaan keelektronegatifan atom-atom yang membentuk ikatan dan bentuk molekul yang tidak simetris atau pasangan elektron yang tidak tersebar merata. Hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut menghasilkan warna ekstrak dan persentase massa ekstrak yang berbeda. Hal ini dikarenakan pelarut air bersifat paling polar dibandingkan pelarut metanol dan campuran air: asam asetat sehingga senyawa-senyawa yang akan terekstrak dalam *Artocarpus heterophyllus* Lamk hanya senyawa yang memiliki kemiripan sifat yaitu senyawa yang bersifat polar (*like dissolved like*), maka persentase massa ekstrak kental air yang diperoleh lebih kecil daripada massa ekstrak kental campuran air: asam asetat dengan variasi konsentrasi.

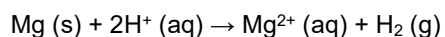
Pernyataan tersebut dibuktikan dari harga momen dipol air yang lebih besar yaitu 1,85 D dibandingkan dengan pelarut metanol 1,69 D dan asam asetat 1,74 D. Jika dilihat dari data Tabel 1, hasil presentase massa ekstrak yang tinggi yaitu pada ekstrak campuran air : asam asetat dengan variasi konsentrasi, sedangkan presentase massa paling rendah pada ekstrak metanol. Hal tersebut terjadi karena pelarut metanol dan campuran air : asam asetat termasuk pelarut yang bersifat semipolar yaitu senyawa dapat melarutkan senyawa atau komponen yang bersifat polar maupun nonpolar. Namun, jika dilihat dari harga momen dipol masing-masing pelarut, campuran air : asam asetat lebih bersifat polar daripada metanol. Sehingga presentase massa ekstrak campuran air:

Asam asetat memperoleh presentase massa ekstrak tertinggi, yaitu khususnya campuran air : asam asetat (9:1).

### **1. Hasil Pengujian Senyawa Flavonoid Secara Kualitatif**

Pengujian awal yang dilakukan pada penelitian ini adalah pengujian fitokimia senyawa flavonoid secara kualitatif. Pengujian fitokimia yang dilakukan melalui uji warna terhadap larutan masing-masing ekstrak. Hasil pengujian fitokimia ini diperoleh larutan berwarna kuning dengan tingkat kepekatan yang berbeda. Hal tersebut dikarenakan jumlah senyawa flavonoid yang terkandung di dalam sampel ekstrak berbeda-beda, semakin pekat warna kuning yang terbentuk maka semakin banyak senyawa flavonoid yang terkandung. Sampel ekstrak yang memiliki warna kuning paling pekat yaitu ekstrak metanol, sedangkan ekstrak yang memiliki tingkat kepekatannya paling rendah (kuning pucat) yaitu ekstrak campuran air : asam asetat (7:3). Warna larutan hasil pengujian fitokimia senyawa flavonoid dengan tingkat kepekatan warna kuning yang berbeda. Hal tersebut menandakan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya berbeda dengan jumlah yang berbeda pula dan bila dalam identifikasi golongan flavonoid dihasilkan warna merah sampai jingga, maka senyawa tersebut adalah flavon. Apabila hasil identifikasi menghasilkan warna merah tua, maka termasuk golongan senyawa flavonol atau flavanon, sedangkan warna hijau sampai biru termasuk golongan senyawa aglikon atau glikosida. Hasil identifikasi flavonoid

menghasilkan warna kuning yang berada pada rentang warna merah sampai jingga, maka kemungkinan senyawa tersebut termasuk golongan senyawa flavon. Persamaan reaksi dari identifikasi flavonoid adalah sebagai berikut:



Pada tahapan uji identifikasi flavonoid ini dilakukan penambahan HCl pekat pada campuran ekstrak dan serbuk Mg secara tetes demi tetes. Hal tersebut bertujuan untuk mengidentifikasi adanya senyawa flavonoid karena diperkirakan ion  $\text{Mg}^{2+}$  yang terbentuk akan menghasilkan senyawa kompleks Mg-flavonoid yang membentuk larutan berwarna.

### **2. Hasil Penentuan Pelarut Terbaik Melalui Uji Aktivitas Inhibisi**

Pengujian aktivitas inhibisi tirosinase pada ekstrak kental dengan berbagai pelarut dilakukan untuk mengetahui daya inhibisi dari masing-masing ekstrak. Warna coklat dihasilkan oleh reaksi antara senyawa fenolik dengan tirosinase oleh bantuan oksigen. Intensitas warna coklat yang dihasilkan menentukan kuantitas senyawa dopakrom dari hasil reaksi tirosin – tirosinase. Semakin tinggi intensitas warna coklat, maka semakin banyak senyawa dopakrom yang dihasilkan, sedangkan semakin rendah intensitas warna coklat yang dihasilkan maka semakin sedikit senyawa dopakrom yang terbentuk. Pada tahap pengujian ini dilakukan penambahan inhibitor yang dimaksudkan untuk mengurangi terbentuknya senyawa dopakrom. Larutan hasil reaksi dari penambahan ekstrak kulit batang

*Artocarpus heterophyllus* Lamk pada reaksi tirosin-tirosinase terbentuk larutan kuning kecoklatan dengan intensitas warna berbeda-beda. Semakin tinggi intensitas warna kuning kecoklatan yang dihasilkan artinya pengaruh inhibitor dalam reaksi tersebut sedikit. Hal ini karena sisi aktif tirosinase lebih banyak diserang oleh tirosin (substrat) daripada inhibitor sehingga menghasilkan warna coklat, sedangkan semakin rendah intensitas warna kuning kecoklatan berarti pengaruh inhibitor dalam reaksi tersebut sangat besar. Semakin tinggi daya inhibisi dari suatu inhibitor, intensitas warna coklat yang dihasilkan akan rendah. Hal tersebut menandakan bahwa senyawa dopakrom yang terbentuk semakin sedikit. Sebaliknya semakin rendah daya inhibisi suatu inhibitor akan mengakibatkan semakin tinggi intensitas warna coklat yang dihasilkan dan senyawa dopakrom yang terbentuk semakin banyak. Dengan terbentuknya warna coklat tersebut maka pengujian dapat dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer visibel dengan panjang gelombang 475 nm karena pengujian dengan metode ini didasarkan pada penyerapan sinar tampak (visibel) oleh suatu larutan berwarna.

Pengukuran absorbansi sampel dilakukan pada panjang gelombang 475 nm karena pada gelombang tersebut berada pada rentang warna larutan yang diserap yaitu biru dengan warna komplementernya kuning. Dari hasil pengukuran absorbansi masing-masing larutan ekstrak, diperoleh data pada tabel 2.

Hasil pengujian aktivitas inhibisi tirosinase menunjukkan bahwa larutan

ekstrak yang memiliki % inhibisi (daya inhibisi) tertinggi yaitu pada ekstrak air sebanyak 99,28%. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa flavonoid dalam ekstrak air dapat berperan sebagai inhibitor yang dapat menghambat reaksi tirosin-tirosinase dengan baik, meskipun ekstrak air memiliki presentase massa ekstrak yang rendah tetapi kemungkinan di dalam ekstrak air yang sedikit tersebut terkandung senyawa bioaktif yang memiliki

daya inhibisi tinggi terhadap reaksi Tirosin tirosinase. Menurut hasil identifikasi secara kualitatif, dalam kulit batang *Artocarpus - heterophyllus* Lamk terkandung senyawa

Tabel 2. Data Hasil Pengujian Aktivitas Inhibisi Tirosinase

Larutan	Absorbansi Hasil	Absorbansi Ekstrak	%Hasil Inhibisi
Ekstrak Metanol	0,034	0,014	92,83 %
Ekstrak Air	0,004	0,002	99,28 %
Esktrak Air : Asetat (9:1)	0,076	0,012	77,06 %
Esktrak Air : Asetat (8:2)	0,077	0,016	78,14 %
Esktral Air : Asetat (7:3)	0,079	0,025	80,65 %

flavonoid yaitu golongan flavon yang diduga merupakan senyawa bioaktif inhibitor tirosinase. Pada umumnya senyawa flavonoid ini bersifat polar, sehingga senyawa flavonoid (flavon) ini dapat



diekstrak oleh pelarut air karena memiliki kemiripan sifat kepolaran.

**A. Aplikasi Ekstrak Terbaik Sebagai Inhibitor Tirosinase Pada Produksi Tepung Kentang**

Aktivitas inhibisi tirosinase terbaik diperoleh dari hasil ekstraksi kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk dengan berbagai pelarut yang memiliki daya inhibisi tertinggi yaitu ekstrak air. Selanjutnya ekstrak air tersebut diaplikasikan terhadap produksi tepung kentang.

Beberapa hal yang dilakukan pada aplikasi terhadap tepung kentang, yaitu :

**a. Hasil uji inhibisi variasi konsentrasi ekstrak air pada uji coba aktivitas produksi tepung kentang**

Pada pengujian aktivitas inhibisi tirosinase pada produksi tepung kentang dilakukan dengan berbagai konsentrasi ekstrak air, yaitu 0,03%, 0,04%, 0,05%, 0,07%, 0,08%, 0,09% dan 0,10% (b/v). Hal ini dimaksudkan untuk menentukan konsentrasi maksimum ekstrak air yang dapat menghambat tirosinase dalam kentang. Larutan hasil reaksi (ekstrak air berbagai konsentrasi + filtrat kentang) menghasilkan larutan dengan intensitas warna coklat yang berbeda-beda. Data hasil pengujian aktivitas inhibisi tirosinase terlihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Data Hasil Uji Aktivitas Inhibisi Tirosinase Ekstrak Air Untuk 100gram Kentang.

No.	Konsentrasi Ekstrak Air (%) b/v	Absorbansi Sisa	% Inhibisi
-----	---------------------------------	-----------------	------------

1.	(0%)	0	0
2.	0,03	1,136	44,91
3	0,04	0,743	64,40
4.	0,05	0,252	87,78
5.	<b>0,06</b>	0,054	<b>97,38</b>
6.	0,07	0,117	94,32
7	0,08	0,197	90,45
8	0,09	0,915	55,63
9	0,10	1,029	50,10

dengan 0,06% (b/v) sebagai konsentrasi optimum dan absorbansi kontrol 2,062

Data Tabel 3 menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak air, maka semakin tinggi intensitas warna coklat. Hal tersebut dikarenakan pengaruh dari sisa ekstrak air itu sendiri yang berwarna coklat sehingga larutan hasil reaksi (filtrat yang ditambah ekstrak air) tetap terlihat berwarna coklat. Dari data hasil pengujian aktivitas inhibisi tirosinase pada produksi tepung kentang menunjukkan bahwa semakin bertambahnya konsentrasi ekstrak air (inhibitor), maka semakin besar pula persen Inhibisinya.

Pada sampel kentang tanpa penambahan ekstrak air (kontrol) mengakibatkan tirosinase bereaksi sempurna dengan substrat (senyawa fenolik) tanpa adanya inhibisi. Hal ini ditunjukkan oleh nilai persen inhibisinya 0%. Pada penambahan ekstrak air 0,06%, tirosinase mengalami inhibisi yang mendekati sempurna. Hal tersebut ditunjukkan oleh persen inhibisinya sebesar 97,38%, artinya tirosinase tersebut hanya sedikit yang bereaksi dengan substrat sehingga senyawa dopakrom yang dihasilkan hanya sedikit. Pada penambahan ekstrak di mulai dari 0,07 % sampai 0,10 %

diperoleh data persen inhibisi ekstrak yang menurun, hal tersebut menandakan bahwa aktivitas inhibisi ekstrak menurun karena jumlah inhibitor (ekstrak) yang terlalu banyak sehingga kurang dapat mempengaruhi reaksi pencoklatan yang terjadi pada produksi tepung kentang. Hal ini karena semakin banyak jumlah inhibitor yang ditambahkan sedangkan jumlah senyawa fenolik yang terdapat dalam kentang tetap, sehingga senyawa fenolik sudah habis bereaksi dengan inhibitor dan yang terukur oleh spektrofotometer uv-vis adalah warna yang dihasilkan dari sisa inhibitor yang tidak bereaksi dengan senyawa fenolik pada kentang. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa untuk menginhibisi tirosinase dalam produksi tepung kentang diperlukan senyawa bioaktif dari ekstrak air

**b. Efektivitas ekstrak air 0,06% terhadap variasi massa kentang pada produksi tepung kentang**

Uji variasi massa kentang ini digunakan massa kentang sebanyak 50 g, 100 g, 150 g, 200 g dan 250 g. Konsentrasi ekstrak air yang digunakan pada uji variasi kentang ini adalah 0,06% (b/v) merupakan konsentrasi ekstrak optimum dalam menginhibisi reaksi pencoklatan pada produksi tepung kentang. Larutan hasil reaksi filtrat kentang (variasi massa kentang) yang telah ditambah ekstrak air 0,06% menghasilkan warna larutan yang berbeda-beda, hal ini disebabkan aktivitas inhibisi yang dipengaruhi oleh masing-masing larutan tersebut dengan massa kentang yang digunakan berbeda-beda dan

konsentrasi ekstrak yang sama sesuai Tabel 4.

**Tabel 4.** Hasil Uji inhibisi dengan variasi massa kentang

No.	Massa Kentang (gram)	Abs. Kontrol	*Absorbansi Sisa	% Inhibisi
1	5	0,819	0,005	99,38
2	100	0,877	0,081	90,76
3	150	1,178	0,234	80,07
4	200	1,449	0,332	77,09
5	250	1,462	0,357	75,58

Dari data pada Tabel 4 menunjukkan bahwa semakin banyak massa kentang maka aktivitas inhibisi ekstrak air 0,06% semakin menurun, hal ini terlihat pada persen inhibisi yang diperoleh semakin menurun seiring dengan bertambahnya massa kentang, karena semakin banyak massa kentang berarti semakin banyak jumlah senyawa fenolik sedangkan ekstrak (inhibitor) yang ditambahkan jumlahnya tetap, sehingga inhibitor akan habis bereaksi dengan senyawa fenolik dalam kentang dan yang terukur yaitu larutan berwarna coklat dari hasil reaksi tirosinase dengan sisa senyawa fenolik dalam kentang. Pada Tabel 4 terlihat bahwa larutan ekstrak 0,06% ditambah 50 gram kentang terbentuk larutan berwarna coklat muda yang merupakan intensitas warna coklat paling rendah dibanding warna larutan yang dihasilkan dari variasi massa kentang lainnya. Hal ini menandakan bahwa pada massa kentang 50 gram dengan penambahan ekstrak air 0,06% mampu menginhibisi reaksi

pencoklatan yang terjadi dan dibuktikan dengan persen inhibisi yang mendekati sempurna yaitu 99,38%. Selain data variasi konsentrasi ekstrak dan variasi massa kentang, didukung juga dengan data hasil pengukuran tingkat kecerahan warna tepung kentang menggunakan kromameter yang ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai Kromatisitas Tepung Kentang pada Penentuan Efektivitas Ekstrak Air 0,06% dengan Variasi Massa Kentang.

Massa Kentang (gram)	Nilai Kromatisitas		
	L*	a*	b*
Kontrol (0)	63,32	1,39	3,02
50	<b>64,68</b>	<b>1,13</b>	<b>2,65</b>
100	63,63	1,29	2,90
150	63,34	1,31	3,35
200	62,67	1,38	3,37
250	62,29	1,38	3,41

Ket:

L\* : menyatakan tingkat kecerahan tepung pada rentang 0 – 100 (hitam – putih)

a\* : menyatakan nilai kromatik dari warna hijau – merah

b\* : menyatakan nilai kromatik dari warna biru – kuning

Dari data Tabel 5 menunjukkan bahwa penambahan ekstrak air (inhibitor) mempengaruhi nilai-nilai kromatisitas. Tepung kentang yang paling putih memiliki nilai L\* yang tinggi serta nilai a\* dan b\* yang rendah. Nilai L\* ini relatif rendah dibandingkan tepung kentang lainnya, sedangkan nilai a\* dan b\* relatif lebih tinggi. Ini menandakan bahwa tingkat kecerahan tepung kentang tanpa ekstrak air ini lebih rendah dibandingkan tepung

kentang yang ditambahkan ekstrak. Hal tersebut disebabkan pada tepung kentang tanpa penambahan ekstrak air terjadi reaksi enzimatik antara polifenol-oksidas dengan senyawa fenolik yang terdapat pada kentang sehingga menimbulkan warna coklat. Sedangkan pada tepung kentang dengan penambahan ekstrak air 0,06% dengan variasi massa kentang terlihat bahwa semakin banyak massa kentang maka semakin rendah nilai L\*, ini menunjukkan tingkat kecerahan tepung semakin rendah. Hal tersebut karena semakin banyak massa kentang artinya semakin banyak juga jumlah senyawa fenolik dalam kentang, sementara inhibitor yang ditambah jumlahnya tetap, maka inhibitor akan habis bereaksi dengan sebagian senyawa fenolik dalam kentang.

Filtrat kentang yang terukur oleh spektrofotometer uv-vis yaitu berupa larutan berwarna coklat dari hasil reaksi antara polifenoloksidase dengan sisa senyawa fenolik dalam kentang dan dihasilkan persen inhibisi yang semakin rendah seiring meningkatnya massa kentang dengan konsentrasi inhibitor tetap. Sisa senyawa fenolik dalam kentang yang tidak bereaksi dengan inhibitor pada tepung kentang yang diperoleh akan terukur oleh kromameter dan dihasilkan tepung kentang dengan tingkat kecerahan yang berbeda-beda sesuai nilai kromatisitas L\*.

Tabel 5 menunjukkan bahwa seiring bertambahnya massa kentang yang digunakan untuk produksi tepung kentang dengan konsentrasi inhibitor tetap, maka semakin tinggi nilai kromatisitas L\*, semakin tinggi tingkat kecerahan tepung kentang,

Sedangkan pada nilai kromatisitas  $a^*$  dan  $b^*$  untuk memperoleh tepung kentang dengan tingkat kecerahan yang tinggi diperlukan nilai kromatisitas  $a^*$  dan  $b^*$  yang sangat rendah. Nilai kromatisitas  $a^*$  dan  $b^*$  menunjukkan nilai kromatik  $+a^*$  dan  $-a^*$  yaitu arah merah dan hijau, sedangkan  $+b^*$  dan  $-b^*$  menunjukkan arah warna kuning dan biru. Tepung kentang dengan tingkat kecerahan relatif tinggi didapat pada penambahan ekstrak air 0,06 % dan 50 gram kentang dengan nilai  $L^*$  sebesar 64,68 serta nilai  $a^*$  dan  $b^*$  masing-masing 1,13 dan 2,65. Hal ini menunjukkan bahwa nilai kromatisitas  $L^*$  yang tinggi dengan nilai  $a^*$  dan  $b^*$  yang rendah dapat diperoleh tepung kentang dengan tingkat kecerahan yang tinggi.

Data tersebut (Tabel 5) sesuai dengan data pada Tabel 4 yang menyatakan bahwa tepung kentang yang paling putih adalah tepung dengan menggunakan kentang sebanyak 50 gram yang ditambah ekstrak air 0,06 % (b/v) dengan % inhibisi sebesar 99,38 %.

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Pelarut terbaik yang dapat mengekstrak senyawa bioaktif inhibitor tirosinase kulit batang *Artocarpus heterophyllus* Lamk adalah pelarut air dengan persen inhibisi sebesar 99,28 %.
2. Pada konsentrasi ekstrak air optimum (0,06 %) diperlukan massa kentang sebanyak 50 gram, sehingga diperoleh tepung kentang yang cerah dengan nilai kromatisitas  $L^*$  sebesar 64,68.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1] Rustianingsih. (2007). *Studi Pemanfaatan Senyawa Bioaktif dari Kulit Batang Nangka-nangkaan (Artocarpus sp.) Sebagai Inhibitor Tirosinase*. Skripsi Sarjana FPMIPA UPI, Bandung: Tidak diterbitkan.
- [2] Triadi, Deki. (2011). *Pemanfaatan Ekstrak Aseton Kulit Batang Artocarpus heterophyllus Lam pada Pembuatan Tepung Kentang*. Skripsi Sarjana pada FPMIPA UPI. Bandung: Tidak Diterbitkan.
- [3] Steck, Warren. (2003). Tyrosinase Inhibitor From Plants. *United States Patent: US 6,521,267 B1*, 18 Februari 2003.
- [4] Markham, K.R. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung: ITB.
- [5] Miyazawa, M., and Naotaka Tamura. (2007). "Inhibitory Compound of Tyrosinase Activity from the Sprout of *Polygonum hydropiper* L. (Benitade). *Biology Pharmaceutical Bulletin*. 30(3), 595-597.
- [6] Chang, T.S., Hsiou Yu Ding, and Hang Ching Lin. (2005). "Identifying 6,7,4'-trihydroxyisoflavone As A Potent Tyrosinase Inhibitor". *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 69(10), 1999 – 2001.
- [7] Nomura, T., et al. (1998). Isoprenoid Substituted Flavonoids from Artocarpus Plants (moraceae). *Heterocycle*, 47, 1179-1205.