

Original Research

## UJI AKTIVITAS INHIBITOR ENZIM TIROSINASE EKSTRAK ETANOL DAUN ALPUKAT (*PERSEA AMERICANA* MILL.) SECARA *IN VITRO*

### ACTIVITY TEST OF TYROSINASE ENZYME INHIBITOR OF AVOCADO LEAVES ETHANOL EXTRACT (*PERSEA AMERICANA* MILL.) *IN VITRO*

Yunita<sup>1</sup>, Zuraida Sagala<sup>2\*</sup>

<sup>1,2</sup>Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta,  
Jl. Sunter Permai Raya, Jakarta Utara, 14350, Indonesia

\*E-mail: [zoerasagala@gmail.com](mailto:zoerasagala@gmail.com)

Diterima: 26/08/2019

Direvisi: 04/09/2019

Disetujui: 11/09/2019

#### Abstrak

Kulit yang terlalu sering terkena paparan sinar Ultra Violet (UV) dalam jangka waktu yang lama dapat merangsang kerja enzim tirosinase untuk bekerja menghasilkan melanosit sehingga menyebabkan jumlah melanin meningkat yang dapat menyebabkan terjadinya hiper-pigmentasi. Hiper-pigmentasi adalah kondisi kelebihan pigmen pada kulit akibat peningkatan melanogenesis yang salah satunya disebabkan karena paparan sinar UV. Hal ini ditandai dengan terbentuknya flek hitam atau noda coklat pada kulit. Terdapat dua reaksi utama dalam biosintesis melanin yaitu hidroksilasi L-Tyrosine menjadi L-DOPA yang ditetapkan sebagai aktivitas monofenolase dan oksidasi L-DOPA menjadi dopakuinon yang ditetapkan sebagai aktivitas difenolase. Pembentukan melanin dapat dihambat dengan menghambat aktivitas enzim tirosinase. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas inhibitor enzim tirosinase ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) secara *In Vitro*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan substrat L-Tyrosine dan L-DOPA dan Asam Kojat sebagai kontrol positif. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 510 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki aktivitas inhibitor enzim tirosinase yang lemah dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 336,313  $\mu\text{g/ml}$  pada aktivitas monofenolase dan nilai  $IC_{50}$  sebesar 997,497  $\mu\text{g/ml}$  pada aktivitas difenolase.

**Kata kunci:** daun Alpukat; ekstrak; enzim tirosinase; melanin; hiperpigmentasi

#### Abstract

A skin which exposed by Ultra Violet light too much can stimulate the tyrosinase enzyme activity. It can create and increase the amount of melanin so that hyperpigmentation happens. Hyperpigmentation is a condition where the over pigment in the skin because of melanogenesis increased. The factor that caused a hyperpigmentation increased is Ultra Violet light. Black spots or brown spots are the sign when a hyperpigmentation happens. There are two main reactions in melanin biosynthesis. First, the hydroxylation of L-Tyrosine become L-DOPA is defined as the monophenolase activity and the oxydation of L-DOPA become dopaquinone is defined as diphenolase activity. Melanin formation can be inhibited by inhibiting tyrosinase activity. This study aims to screen a tyrosinase enzyme inhibitor of Avocado leaves ethanol extract. The methods for screening was based on tyrosinase inhibitor potency using L-Tyrosine and L-DOPA as substrates and Kojic Acid as the positive control. Then absorbance measurements were carried out using a microplate reader at 510 nm. The results showed that

the ethanol extract of Avocado leaves (*Persea americana* Mill.) had poor tyrosinase enzyme inhibitor activity with an  $IC_{50}$  value is 336.313  $\mu\text{g/ml}$  in monophenolase activity and  $IC_{50}$  value 997.497  $\mu\text{g/ml}$  in diphenolase activity.

**Keywords:** Avocado leaves; extract; melanin; hyperpigmentation; tyrosinase enzyme

## PENDAHULUAN

Dalam kehidupan sehari-hari kulit mempunyai peran penting untuk kita. Kulit merupakan komponen terbesar dari sistem imun, kunci dari sistem saraf dan endoktrin serta penghasil vitamin sebagai respon dari sinar matahari, tanpa kulit berbagai kelainan fisiologis yang tidak diinginkan dapat terjadi. Apabila kulit yang terkena paparan sinar matahari dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan pengaruh yang buruk terhadap kulit tubuh terutama pada kulit wajah. Paparan sinar matahari yang menghasilkan Sinar ultra violet (UV) dapat merangsang enzim untuk bekerja menghasilkan melanosit sehingga menyebabkan jumlah melanin meningkat yang dapat menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi adalah kondisi kelebihan pigmen pada kulit akibat dari peningkatan melanogenesis yang salah satunya disebabkan karena paparan sinar ultraviolet (UV). Hal ini ditandai dengan terbentuknya flek hitam atau noda coklat pada kulit[1].

Pada kulit terdapat enzim yang bekerja dalam proses hiperpigmentasi, yaitu enzim tirosinase. Terdapat dua reaksi utama dalam biosintesis melanin yaitu hidroksilasi L-tirosin menjadi L-DOPA yang ditetapkan sebagai aktivitas monofenolase dan oksidasi L-DOPA menjadi dopakuinon yang ditetapkan sebagai aktivitas difenolase. Dopakuinon memiliki kereaktifan yang sangat tinggi sehingga cenderung berpolimerasi secara spontan membentuk dopakrom yang kemudian berubah menjadi melanin menghasilkan pigmen coklat. Pembentukan melanin dapat dihambat dengan menghambat aktivitas tirosinase[2].

Pada produk kosmetika yang mengandung bahan sintetis dinilai kurang aman karena dapat menimbulkan efek samping pada pemakaian jangka panjang. Bahan sintetis seperti hidrokuinon dan kortikosteroid meskipun sampai saat ini efektivitasnya masih tinggi namun dalam pemakaian jangka panjang dapat menimbulkan beberapa efek seperti *ochronis* (kulit berwarna kehitaman), hidrokuinon akan terakumulasi dalam kulit dan dapat menyebabkan mutasi dan kerusakan DNA, sehingga kemungkinan pada pemakaian jangka panjang bersifat karsinogenik[3].

Saat ini sudah banyak dikembangkan senyawa aktif dalam tanaman yang dapat menghambat enzim tirosinase dalam sediaan *skin whitening*, seperti ekstrak akar manis, mulberi, teh hijau, kacang kedelai dan lain-lain. Senyawa fitokimia yang berkhasiat sebagai inhibitor tirosinase, diantaranya asam kojat, arbutin, derivat benzaldehid dan benzoat, steroid dan lipid, flavonoid, kuersetin dan *p-Coumaric acid*[4].

Bahan alam yang telah diteliti memiliki aktivitas inhibitor tirosinase sudah cukup banyak. Penelitian menyatakan bahwa ekstrak metanol kulit Buah Nyirih (*Xylocarpus granatum*) memiliki potensi penghambatan  $IC_{50}$  sebesar 784,87  $\mu\text{g/ml}$ [5], selain itu ekstrak etanol kulit Jeruk Nipis (*Citrus auronfolia*) memiliki potensi sebagai inhibitor tirosinase dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 42,11  $\mu\text{g/ml}$ [6].

Tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill.) dipercaya sebagai tanaman serbaguna. Secara empiris berkhasiat mengobati penyakit seperti sariawan, kencing batu, sakit gigi, muka kering, bengkak karena peradangan dan juga kencing manis [7]. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki berbagai bioaktivitas. Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. agalactiae* yaitu bakteri yang menyebabkan infeksi pada wanita pasca melahirkan[8]. Daun Alpukat juga memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 6,0 mm[9]. Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dilaporkan juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 72,61  $\mu\text{g/ml}$ [10]. Selain itu daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) juga memiliki aktivitas sebagai analgesik dan antiinflamasi[11].

Sedangkan aktivitas inhibitor enzim tirosinase pada tanaman Alpukat (*Persea americana* Mill.) yaitu pada bagian akar dan biji yang telah diuji pada bagian tanaman tersebut memiliki potensi penghambatan terhadap enzim tirosinase dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 68,46 g/L pada bagian biji dan 16,67 g/L pada bagian akar[12].

## **METODE**

### ***Bahan Penelitian***

Bahan yang digunakan, yaitu daun Alpukat (*Persea americana* Mill.), Asam Kojat (SIGMA-ALDRICH, 98,5%), Enzim Tirosinase (SIGMA-ALDRICH, 5771 unit/ml), Etanol 96%, akuades, HCl,  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{FeCl}_3$ ,  $\text{CH}_3\text{Cl}_3$ , NaOH,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , DMSO (EMSURE, 99,9%), Substrat L-DOPA (SIGMA-ALDRICH, 95%), Substrat L-Tyrosine (SIGMA-ALDRICH, 95%).

### ***Prosedur Kerja***

#### **Persiapan Simplisia**

Simplisia dicuci dan dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 40-50<sup>0</sup>C, hingga mendapatkan simplisia yang kering, selanjutnya dilakukan sortasi kering untuk memisahkan simplisia dari kotoran. Simplisia yang telah kering kemudian dihaluskan dengan blender kemudian diayak dengan menggunakan ayakan 60 mesh.

#### **Ekstraksi Daun Alpukat**

Proses ekstraksi daun Alpukat dilakukan dengan metode maserasi yaitu merendam serbuk daun Alpukat dengan etanol 96% di dalam botol coklat selama 3x24 jam dengan sesekali diaduk. Proses ekstraksi dilakukan minimal 3 kali pengulangan. Perbandingan pelarut etanol 96% yang digunakan untuk ekstraksi simplisia adalah 1:3.

Kemudian dilakukan penyaringan dengan kertas saring *Whatman* untuk mendapatkan filtratnya. Residu pertama yang didapat, dilakukan perendaman kembali dengan pelarut yang baru, perlakuan ini dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan.

#### **Uji Karakteristik Ekstrak**

Pengujian karakteristik ekstrak meliputi uji organoleptik, rendemen, susut pengeringan, kadar air dan kadar abu.

## Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dilakukan berdasarkan metode Farnsworth[13]. Penapisan fitokimia yang dilakukan meliputi flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, steroid, terpenoid dan kuinon.

## Pengujian Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase

Pengujian aktivitas inhibitor enzim tirosinase dilakukan berdasarkan metode Batubara[14] dengan menggunakan *microplate reader*, volume larutan uji dan larutan perbandingan dapat dilihat pada **Tabel 1**, sebagai berikut;

**Tabel 1.** Volume Larutan pada Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase

Bahan	Volume ( $\mu\text{L}$ )				
	B	KB	S	KS	KS+E
Dapar Fosfat	70	210	-	140	110
Larutan Substrat (L-DOPA/LTyrosine)	110	-	110	-	-
Asam Kojat/ Ekstrak Etanol daun Alpukat	-	-	70	70	70
Enzim Tirosinase	30	-	30	-	30

B= Blanko, KB= Kontrol Blanko, S=Sampel E=Enzim, KS= Kontrol Asam Kojat  
Diinkubasi pada suhu ruang ( $25^{\circ}\text{-}30^{\circ}\text{C}$ ) selama 30 menit  
Diukur dengan panjang gelombang 510 nm

## Pengujian Larutan Blanko

Diambil larutan dapar fosfat sebanyak  $70 \mu\text{L}$ , kemudian ditambahkan larutan substrat (L-DOPA  $2 \text{ mM/L}$ -Tyrosine  $2 \text{ mM}$ ) sebanyak  $110 \mu\text{l}$  dan  $30 \mu\text{L}$  larutan enzim tirosinase dimasukkan ke dalam *96-well microtiter plate*. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang ( $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ ). Campuran diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang  $510 \text{ nm}$ .

## Pengujian Larutan Kontrol Blanko

Diambil sebanyak  $210 \mu\text{L}$  larutan dapar fosfat dimasukkan ke dalam *96-well microtiter plate*. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang ( $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ ). Larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang  $510 \text{ nm}$ .

## Pengujian Larutan Asam Kojat sebagai Kontrol Positif

Diambil sebanyak  $70 \mu\text{l}$  larutan asam kojat dari berbagai konsentrasi yang telah dibuat yaitu  $500$ ;  $250$ ;  $125$ ;  $62,5$ ;  $31,25$ ;  $15,625$ ;  $7,8125 \mu\text{g/ml}$  dimasukkan ke dalam *96 well-microtiter plate*. Kemudian ditambahkan larutan enzim tirosinase  $333 \text{ unit/ml}$  sebanyak  $30 \mu\text{l}$  dan larutan substrat L-DOPA  $2 \text{ mM}$  dan L-Tyrosine  $2 \text{ Mm}$  masing-masing  $110 \mu\text{l}$ . Campuran kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang ( $25\text{-}30^{\circ}\text{C}$ ), lalu serapan diukur pada panjang gelombang  $510 \text{ nm}$  menggunakan *microplate reader*.

### **Pengujian Larutan Kontrol Asam Kojat**

Diambil sebanyak 140 µL larutan dapar fosfat dan 70 µL larutan Asam Kojat dimasukkan ke dalam *96-well microtiter plate*. Diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25-30<sup>0</sup>C). Larutan tersebut diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 510 nm.

### **Pengujian Larutan Kontrol Asam Kojat + Enzim Tirosinase**

Diambil sebanyak 110 µL larutan dapar fosfat, 70 µl larutan Asam Kojat dan 30 µL larutan enzim tirosinase dimasukkan ke dalam *96-well microtiter plate*. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25-30<sup>0</sup>C). Campuran diukur absorbansinya dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 510 nm.

### **Pengujian Larutan Ekstrak Etanol Daun Alpukat**

Diambil sebanyak 70 µl larutan sampel dari berbagai konsentrasi yaitu 2.000; 1.000; 500 dan 250; 125; 62,5; 31,25 µg/ml dimasukkan ke dalam *96 well-microplate*, ditambahkan larutan tirosinase 333 unit/ml sebanyak 30 µl, *plate* dikocok perlahan. Kemudian ditambahkan larutan substrat (L-DOPA 2 mM/L-Tyrosine 2 mM) sebanyak 110 µl. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25-30<sup>0</sup>C). Serapan diukur pada panjang gelombang 510 nm menggunakan *microplate reader*.

### **Pengujian Larutan Kontrol Ekstrak**

Diambil sebanyak 140 µL larutan dapar fosfat dan 70 µL larutan sampel dimasukkan ke dalam *96-well microtiter plate*. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25-30<sup>0</sup>C). Campuran diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 510 nm.

### **Pengujian Larutan Kontrol Ekstrak + Enzim**

Diambil sebanyak 110 µL larutan dapar fosfat, 70 µL larutan sampel dan 30 µL larutan enzim tirosinase dimasukkan ke dalam *96-well microtiter plate*. Kemudian diinkubasi selama 30 menit pada suhu ruang (25-30<sup>0</sup>C). Campuran diukur absorbansinya dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 510 nm.

### **Analisis Data**

Pegujian inhibisi tirosinase adalah pengujian secara *in vitro* yang bertujuan untuk mendapatkan nilai *inhibitory concentration* (IC<sub>50</sub>). IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% kerja enzim tirosinase.

Untuk mendapatkan nilai IC<sub>50</sub> perlu dihitung terlebih dahulu persentase inhibisi dengan cara membandingkan absorbansi larutan blanko yang telah dikurangi absorbansi sampel terhadap absorbansi blanko[15].

$$\%Inhibisi = \frac{(A - B)}{A} \times 100\%$$

Keterangan:

A= absorbansi blanko – absorbansi kontrol blanko

B= absorbansi sampel (asam kojat/ekstrak) – absorbansi kontrol sampel

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi Tanaman

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) yang berasal dari suku *Lauraceae* sesuai dengan hasil determinasi yang dilakukan di Pusat Konservasi Tumbuhan Kebun Raya LIPI-Bogor.

### Ekstraksi Daun Alpukat

Hasil dari ekstraksi 500,00 gram serbuk daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dengan menggunakan pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1:3 yang dilakukan sebanyak 6 kali menghasilkan ekstrak kental sebanyak 45,64 gram.

### Uji Karakteristik Ekstrak

Berikut ini adalah hasil pengujian karakteristik ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) yang dapat dilihat pada **Tabel 2** sebagai berikut;

**Tabel 2.** Hasil Uji Karakteristik Ekstrak

No.	Parameter	Keterangan
1.	Organoleptis	Kental, Hijau kecokelatan, bau khas, pahit
2.	Rendemen	9,128 %
3.	Susut Pengeringan	6,5 %
4.	Kadar air	3,08 %
5.	Kadar Abu	3,33 %

### Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat dilihat pada **Tabel 3** sebagai berikut;

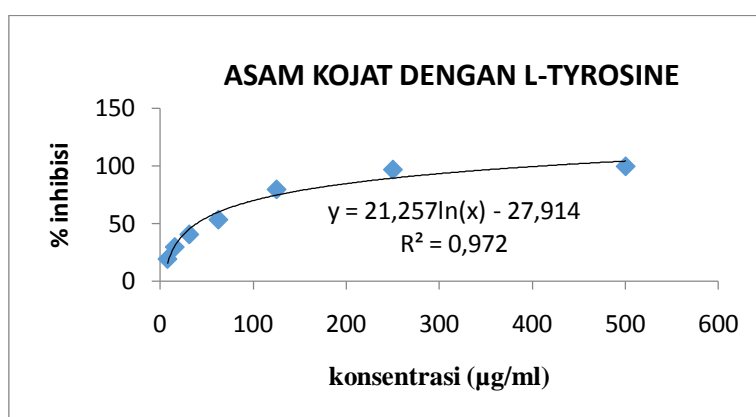
**Tabel 3.** Hasil Penapisan Fitokimia

No.	Golongan Senyawa	Hasil
1.	Alkaloid	(Negatif)
2.	Flavonoid	(Positif)
3.	Kuinon	(Negatif)
4.	Saponin	(Positif)
5.	Steroid	(Positif)
6.	Tanin	(Positif)
7.	Terpenoid	(Negatif)

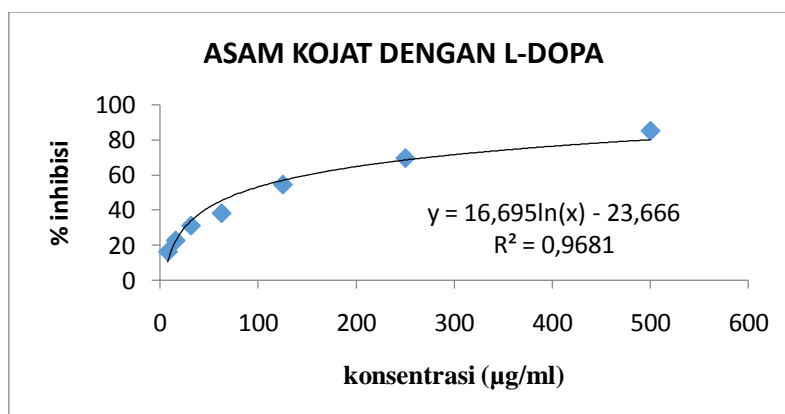
## Hasil Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase

Prinsip pengujian aktivitas inhibitor enzim tirosinase pada aktivitas monofenolase yaitu dengan terhambatnya proses hidroksilasi tirosin menjadi *dihidroksifenilamin* (DOPA) sedangkan prinsip pengujian aktivitas difenolase yaitu terjadinya penghambatan proses oksidasi L-DOPA menjadi produk dopakrom. Hambatan pembentukan dopakrom ditandai dengan menurunnya intensitas warna yang diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 510 nm[14].

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas monofenolase asam kojat didapat nilai persen inhibisi yang dihasilkan oleh asam kojat menunjukkan peningkatan secara signifikan (**Gambar 1**), hal yang sama juga terjadi pada aktivitas difenolase asam kojat (**Gambar 2**). Semakin tinggi konsentrasi asam kojat yang digunakan maka semakin tinggi juga persen inhibisi yang dihasilkan. Peran asam kojat sebagai inhibitor enzim tirosinase ditunjukkan dengan penghambatan secara kompetitif dengan kemampuannya membentuk kelat logam Cu pada sisi aktif enzim tirosinase[16].



**Gambar 1.** Kurva Penghambatan Aktivitas Monofenolase Asam Kojat



**Gambar 2.** Kurva Penghambatan Aktivitas Difenolase Asam Kojat

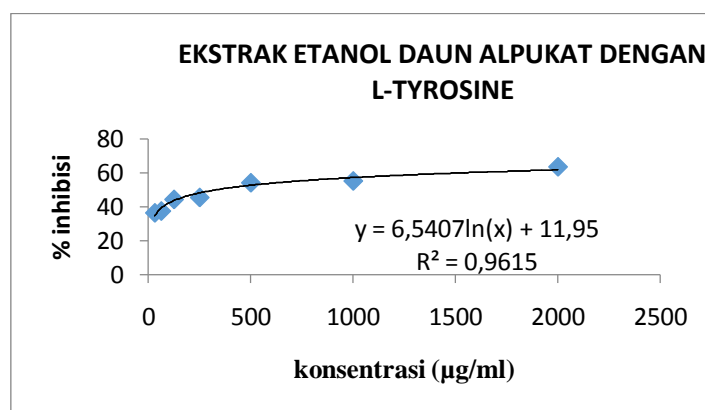


**Tabel 4.** Persentase Penghambatan Tirosinase Asam Kojat

	Konsentrasi Asam Kojat (µg/ml)	Persen Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
Monofenolase	500	99,587	39,11
	250	96,777	
	125	79,669	
	62,5	53,544	
	31,25	40,826	
	15,625	29,917	
	7,125	19,587	
Difenolase	500	85,185	82,55
	250	69,618	
	125	54,514	
	62,5	38,194	
	31,25	31,134	
	15,625	22,685	
	7,8125	16,262	

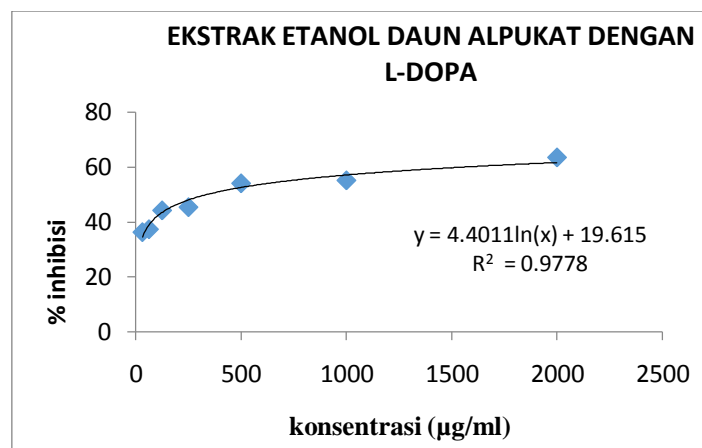
Setelah didapatkan persamaan regresi linier dari aktivitas monofenolase dan aktivitas difenolase, maka data diplotkan ke dalam regresi tersebut untuk mendapatkan nilai IC<sub>50</sub>. Berdasarkan **Tabel 4** didapatkan nilai IC<sub>50</sub> aktivitas monofenolase asam kojat yaitu sebesar 39,11 µg/ml dan pada aktivitas difenolase asam kojat yaitu sebesar 82,55 µg/ml.

Selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas inhibitor enzim tirosinase ekstrak yang dilakukan dengan tujuan untuk melihat kemampuan ekstrak etanol 96% daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dalam menghambat aktivitas monofenolase maupun difenolase. Berdasarkan **Gambar 3** pada aktivitas monofenolase ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) terjadi peningkatan persen inhibisi enzim tirosinase oleh ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). Pada konsentrasi 31,25 µg/ml rata-rata persen inhibisi yaitu 36,364 % dan terus meningkat hingga mencapai 63,554 % pada konsentrasi 2.000 µg/ml. Sedangkan pada aktivitas difenolase (**Gambar 4**) rata-rata persen inhibisi ekstrak etanol daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) pada konsentrasi 31,25 µg/ml yaitu sebesar 35,012% dan terus meningkat hingga mencapai 53,299% pada konsentrasi 2.000 µg/ml.



**Gambar 3.** Kurva Penghambatan Aktivitas Monofenolase Ekstrak Etanol Daun Alpukat





**Gambar 4.** Kurva Penghambatan Aktivitas Difenolase Ekstrak Etanol Daun Alpukat

Berdasarkan hasil uji aktivitas inhibitor enzim tirosinase terhadap ekstrak etanol 96% daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) didapatkan nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol 96% daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) sebesar 336,313 µg/ml pada aktivitas monofenolase dan 997,497 µg/ml pada aktivitas difenolase. Nilai tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat berpotensi sebagai inhibitor enzim tirosinase akan tetapi memiliki aktivitas penghambatan yang lemah bila dibandingkan dengan Asam Kojat yang memiliki nilai  $IC_{50}$  sebesar 39,109 µg/ml pada aktivitas monofenolase dan 82,51 µg/ml pada aktivitas difenolase. Senyawa yang menghasilkan persen inhibisi <60% pada konsentrasi 500 µg/ml memiliki aktivitas inhibitor tirosinase yang lemah[17], pernyataan tersebut sesuai dengan hasil persen inhibisi yang didapat pada **Tabel 5** yaitu pada aktivitas monofenolase persen inhibisi ekstrak etanol 96% daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) pada konsentrasi 500 µg/ml sebesar 54,132 % sedangkan pada aktivitas difenolase yaitu sebesar 45,544%.

**Tabel 5.** Persentase Penghambatan Tirosinase Ekstrak Etanol Daun Alpukat

	Konsentrasi Ekstrak (µg/ml)	Persen Inhibisi (%)	$IC_{50}$ (µg/ml)
Monofenolase	2000	63,554	336,313
	1000	55,207	
	500	54,132	
	250	45,455	
	125	44,298	
	62,5	37,438	
	31,25	36,364	
Difenolase	2000	53,299	997,497
	1000	51,331	
	500	45,544	
	250	42,650	
	125	41,493	
	62,5	38,079	
	31,25	35,012	

Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) dapat berperan sebagai inhibitor enzim tirosinase karena kandungan senyawa flavonoid. Mekanisme penghambatan yang terjadi adalah

penghambatan non-kompetitif yaitu tidak bersaing secara langsung dengan substrat tetapi akan menempati bagian lain dari enzim. Interaksi ini menyebabkan molekul enzim mengubah bentuknya sehingga sisi aktif enzim menjadi tidak reseptif atau tidak dapat menerima substrat pada aktivitas monofenolase[16], sedangkan pada aktivitas difenolase terjadi penghambatan kompetitif untuk oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase dan bagian *3-hidroksi-4-keto* dari struktur flavonoid yang berperan sebagai pengkhelet logam Cu pada sisi aktif enzim yang mengandung logam Cu. Pada umumnya satu molekul enzim tirosinase mengandung dua atom yang terikat dengan asam amino histidin. Kemampuan katalitik enzim tirosinase dapat menurun akibat hilangnya atom Cu pada sisi aktif enzim sehingga pembentukan dopakrom menjadi menurun[16].

## KESIMPULAN

Ekstrak etanol 96% daun Alpukat (*Persea americana* Mill.) memiliki aktivitas inhibitor enzim tirosinase yang lemah dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 336,313  $\mu\text{g/ml}$  pada aktivitas monofenolase dan 997,497  $\mu\text{g/ml}$  pada aktivitas difenolase.

## DAFTAR RUJUKAN

1. Desai, Seemal R; Alexis, A. Review: Hyperpigmentation Therapy. 2014, 8, 13-17.
2. D'Mello, S. A. N., Finlay, G. J., Baguley, B. C., & Askarian-Amiri, M. E. Signaling pathways in melanogenesis. International J of Molecular Sciences. 2016, 17(7): 1–18.
3. Badan POM RI. Public Warning/Peringatan Nomor 00.01.432.6081 Tentang Kosmetik mengandung Bahan Berbahaya dan Zat Warna yang Dilarang. 2007.
4. Chang, T. S. Natural Melanogenesis Inhibitors Acting Through The Down-regulation of Tyrosinase Activity. 2012, 5(9): 1661-1685.
5. Gazali, M., Zamani, N.P., Batubara, I. Potency of Waste Fruit Peel of *Xylocarpus granatum* as A Tyrosinase Inhibitor. Depik J Ilmu Perairan, Pesisir dan Perikanan. 2014, 3(3): 187-194
6. Hindun, S., Rusdiana, T., Abdasah, M. Potency of Lemon Peel (*Citrus aurantifolia*) Waste as Tyrosinase Inhibitor. Indonesian J of Pharmaceutical Science and Technology. 2017, (4): 64-69
7. Katja, D. G; Suryanto, E; Wehantouw, F. Potensi Daun Alpukat (*Persea americana* Mill.). J Chemistry Progress. 2009, 2(1): 58-64.
8. Cardoso, P. F., Scarpassal, J., Pretto Giordano, L., Otaguiri, S. F., Nakazato, G., et al. Antibacterial Activity of Avocado Extracts (*Persea americana* Mill.) against *Streptococcus agalactiae* Actividad. J of International Experimental Botany. 2016, 85: 218-224.
9. Ogundare AO, O. B. O. Antibacterial Activity of The Leaf and Bark Extract of *Persea americana*. J American of Ethno-Medicine. 2014, 1(1): 64-71.
10. Rahman, N; Dewi, N. U; Bohari. Phytochemical and Antioxidant Activity of Avocado Leaf Extract (*Persea americana* Mill.) J Asian of Scientific Research. 2018, 11(3): 357-363.
11. Adeyemi, OO; Okpo, SO; Ogunti, OO. Analgesic and Antiinflammatory Effects of The Aqueous Extract of Leaves of *Persea americana* Mill (Lauraceae). J Fitoterapia, 2002, 73: 375-380.

12. Saive, M; Frederich, M; Fauconnier, M. L. Screening of Mahoran Plants for Cosmetics Applications. 2015, 70: 3891.
13. Farnsworth, N.R. Biological and Phytochemical Screening of Plants. *J of Pharmaceutical Sciences*. 1996, 55(3): 257-259
14. Batubara, I., Darusman, L. K., Mitsunaga, T., Rahminiwati, M., Djauhari, E. Potency of Indonesian Medical Plants as Tyrosinase Inhibitory and Antioxidant Agent. *J of Biological Sciences*. 2010, 10(2): 138-144.
15. Srichayanurak, C; Phadungkit, M. Antityrosinase and Antioxidant Activity of Selected Thai Herbal Extract. *J KKU Res*. 2008, 13(6): 673-676.
16. Chang, T. Review: An Update Tyrosinase Inhibitory (Figure 1), 2009: 1661-1685.
17. Moon, J-Y., Yim, E-Y., Song, G., Lee, N.H., et al. Screening of Elastase and Tyrosinase Inhibitory Activity from Jeju Island Plants. *J Eur Asia Biology Scientific*. 2014, 4(6): 41-53.