

Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Tirosinase serta Uji Manfaat Gel Ekstrak Kulit Batang Taya (*Nauclea subdita*) terhadap Kulit

Antioxidant Activity Assay, Inhibition of Tyrosinase and Efficacy Test of Gel Containing Taya Cortex (*Nauclea subdita*) Extract on Human Skin

Meiliana Charissa¹, Joshita Djajadisastra², Berna Elya³

¹Program Magister Herbal, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

²Departemen Farmasetika, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

³Departemen Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

*E-mail: meicharissa@yahoo.com

Diterima: 20 Juni 2016

Direvisi: 13 Juli 2016

Disetujui: 18 Agustus 2016

Abstrak

Wanita suku Dayak di daerah Kalimantan merawat kulit dengan bahan alam, salah satunya dengan kulit batang taya (*Nauclea subdita*). Kandungan flavonoid yang banyak ditemukan pada bahan alam memiliki efek antioksidan dan mampu menghambat secara langsung aktivitas tirosinase pada proses melanogenesis. Tujuan penelitian adalah menguji aktivitas antioksidan dan penghambatan tirosinase ekstrak kulit batang taya, membuat sediaan gel ekstrak batang taya yang stabil serta melakukan uji keamanan dan manfaat terhadap kulit. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH. Uji penghambatan tirosinase dilakukan dengan asam kojat sebagai pembanding. Uji keamanan dan manfaat dilakukan terhadap subjek wanita dewasa sehat usia 35-50 tahun dengan kulit sehat dan normal. Hasil uji penghambatan tirosinase ekstrak menunjukkan nilai IC_{50} 568.58 $\mu\text{g/mL}$ pada L-tyrosine dan 1374.69 $\mu\text{g/mL}$ pada L-DOPA. Hasil uji antioksidan ekstrak memiliki nilai IC_{50} 48.78 $\mu\text{g/mL}$ dan dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang kuat ($<50 \mu\text{g/mL}$). Hasil uji stabilitas sediaan gel yang mengandung ekstrak kulit batang taya selama 12 minggu menunjukkan gel stabil secara fisik. Uji keamanan dan manfaat sediaan gel menunjukkan gel aman digunakan secara topikal dan uji manfaat menunjukkan perubahan peningkatan elastisitas kulit.

Kata kunci: *Nauclea subdita*; Tirosinase; Antioksidan; Gel; Elastisitas kulit

Abstract

Dayak women in Borneo treat their skin with natural ingredients, one of which is taya cortex (*Nauclea subdita*). Flavonoids that can be found in natural ingredients have antioxidant effect and can inhibit the activity of tyrosinase in melanogenesis process. The research objectives were to measure the antioxidant activity and the inhibition of tyrosinase of taya cortex extract, to obtain a stable formulation of taya cortex extract gel, and to determine the safety and efficacy on human skin. The method used for antioxidant activity test was DPPH method. The inhibition of tyrosinase was conducted with kojic acid as control. The safety and efficacy test were conducted to healthy women ages 35-50 with healthy and normal skin. The results show IC_{50} value of 568.58 $\mu\text{g/mL}$ in L-tyrosine and 1374.69 $\mu\text{g/mL}$ in L-DOPA for inhibition of tyrosinase. Antioxidant activity assay of the extract shows IC_{50} value of 48.78 $\mu\text{g/mL}$ and can be categorized as a powerful antioxidant ($<50 \mu\text{g/mL}$). The formulation of gel containing taya cortex extract was physically stable for 12 weeks. Safety test and efficacy test of the gel show the gel is safe to use topically and show an increase in skin elasticity.

Keywords: *Nauclea subdita*; Tyrosinase; Antioxidant; Gel; Skin elasticity

PENDAHULUAN

Para wanita suku Dayak di daerah Kalimantan, merasa penting untuk merawat kecantikan kulitnya. Mereka biasanya menggunakan bahan-bahan yang berasal dari alam sehingga membuat kulit terlihat putih, bersih, dan awet muda.¹ Salah satu bahan alami yang sering digunakan dalam perawatan kulit adalah kulit batang taya (*Nauclea subdita*). Kulit yang sehat yaitu kulit yang terlindung dari paparan sinar matahari dan terhindar dari penuaan dini. Melanin memiliki peranan penting terhadap perlindungan kulit terhadap ultraviolet (UV). Produksi melanin yang berlebihan dapat menyebabkan kulit berwarna gelap atau depigmentasi.² Penghambatan tirosinase merupakan cara yang paling banyak digunakan dalam proses depigmentasi kulit.³

Enzim yang berperan penting pada jalur sintesis melanin adalah tirosinase. Tirosinase memiliki aktivitas hidroksilasi tirosin, oksidasi L-DOPA (3,4-dihidroksifenilalanin) dan oksidasi hidroksiindol. Oleh karena itu, tirosinase dapat mengatalisis beberapa langkah dalam biosintesis melanin.⁴ Enzim tirosinase bekerja mengubah tirosin menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin (DOPA) dan kemudian menjadi dopakuinon yang selanjutnya melalui beberapa tahap transformasi dikonversi menjadi melanin.⁵ Flavonoid merupakan polifenol alami yang banyak ditemukan dalam daun, batang dan bunga. Kemampuan depigmentasi kulit dari flavonoid dengan cara menghambat secara langsung aktivitas tirosinase pada proses melanogenesis. Ikatan flavonoid dengan tembaga serta efek antioksidannya dilaporkan berperan dalam menghambat kerja enzim tirosinase.⁶ Pengaruh lingkungan seperti sinar ultraviolet, asap rokok, polutan, temperatur, nutrisi dan gaya hidup yang tidak sehat dapat memberikan kontribusi dalam pembentukan radikal bebas dan *Reactive Oxygen Species (ROS)*. Hal ini merangsang peradangan kulit yang memicu serangkaian

reaksi biokimia di kulit dan menyebabkan kerusakan jaringan kolagen dermis sehingga terjadi penuaan kulit dini (*photo aging/premature skin aging*).⁷

Penelitian ini bertujuan untuk menguji dan membuktikan secara ilmiah aktivitas antioksidan dan penghambatan tirosinase serta uji manfaat gel yang mengandung ekstrak kulit batang taya (*Nauclea subdita*) terhadap kulit.

METODE

Desain penelitian ini adalah eksperimental laboratorium dengan rancangan penelitian acak lengkap. Kegiatan yang dilakukan adalah pembuatan ekstrak etanol kulit batang taya (*Nauclea subdita*), identifikasi fitokimia, karakterisasi (kadar air, susut pengeringan, kadar abu, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol), analisa kadar flavonoid total, uji antioksidan, uji penghambatan tirosinase, uji keamanan dan uji manfaat terhadap kulit.

Alat dan bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin penggiling, timbangan analitik (Scout Pro), *waterbath* (Memmert), *rotary evaporator* (Buchi), oven (Memmert), *moisture analyzer* (Mettler Toledo), pH meter (Mettler Toledo), spektrofotometer UV-Vis (Hitachi), vortex (Maxi Mix), *refrigerator*, viscometer Brookfield, *centrifuse* (Allegra X22R), *96-well microtiter plate*, *microplate reader 680* (Bio-Rad), *cutometer*® (Khazaka), *patch* (Finn chamber) homogenizer, labu ukur, erlenmeyer, kaca arloji, tabung reaksi, mikropipet, pipet tip, *beaker glass*, spatula, pipet tetes, botol 25 ml, neraca analitik ketelitian 0,1 mg, kertas saring dan alat-alat gelas lainnya.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit batang taya (*Nauclea subdita*) yang berasal dari daerah Palangkaraya, Kalimantan Tengah dan telah dideterminasi di Herbarium LIPI Cibinong. Bahan-bahan kimia antara lain

etanol 96% (Merck), *demineralized water*, dapar fosfat (Merck) pH 6,5, metanol (Merck), kloroform (Mallincrodt), Petroleum eter (Merck), etil asetat (JT Baker), H₂SO₄ (Merck), HCl (Mallincrodt), ammonia (Merck), Folin ciocalteu (Merck), silica gel G60 F₂₅₄ (Merck), 1,1 difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) (Aldrich), asam askorbat (DSM), *mushroom tyrosinase* (Sigma), L-DOPA (Sigma), L-tyrosine, (Sigma), asam kojat (Sigma), kuersetin (Sigma), kalium hidroksida (Merck), natrium hidroksida (Merck), Na-EDTA (Merck), propilen glikol (Dow Chemical), gliserin (Oleochemicals), nipagin (Deno), nipasol, natrium metabisulfit (Merck), TEA (Sigma), Karbopol 940 (lubrizol).

Prosedur Kerja

Preparasi dan ekstraksi

Simplisia yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit batang taya yang diperoleh di daerah Palangkaraya, Kalimantan Tengah. Kulit batang taya dikumpulkan pada bulan Februari 2015, diambil pada pagi hari dan dibersihkan. Kulit batang taya kemudian diidentifikasi atau dideterminasi di Herbarium LIPI Cibinong. Hasil determinasi yaitu jenis *Nauclea subdita*, dari suku Rubiaceae. Kulit batang taya dicuci bersih dan dipotong-potong, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan dengan tidak terkena sinar matahari langsung. Kemudian dihaluskan dengan menggunakan mesin penggiling hingga menjadi serbuk. Setelah itu disimpan dalam wadah kering tertutup rapat dalam ruangan yang terlindung dari cahaya matahari.

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, masing-masing 300 g serbuk simplisia kulit batang taya (*Nauclea subdita*) dimasukkan ke dalam bejana (total 5 bejana dengan total 1500 g simplisia). Kemudian ke dalam bejana dimasukkan pelarut etanol 96% sebanyak 3000 mL yang sebelumnya telah didistilasi untuk menghilangkan kotoran. Direndam selama 24 jam dengan 6 jam pertama

sesekali dilakukan pengadukan. Kemudian diulangi lagi hingga 3 kali perlakuan.

Hasil maserasi yang diperoleh kemudian disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat dipekatkan lagi menggunakan *rotary evaporator* dengan 40-50°C hingga diperoleh ekstrak yang kental. Ekstrak kental tersebut kemudian dikeringkan lagi di dalam oven 50°C sampai menjadi ekstrak kering.

Ekstrak yang diperoleh dilakukan identifikasi dan karakterisasi ekstrak meliputi kadar air, susut pengeringan, kadar abu, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol.⁸

Penentuan Kadar Flavonoid Total

Penentuan kadar flavonoid dilakukan dengan spektrofotometri menggunakan reagen alumunim klorida. Sebanyak 2 mL larutan ekstrak dengan konsentrasi 50 µg/mL, di tambahkan dengan 2 mL alumunium klorida 2% yang telah dilarutkan dengan etanol, kemudian divorteks selama 20 menit dan diinkubasi campuran larutan selama 24 menit. Absorban diukur pada panjang gelombang 415 nm. Data dihitung dari rata-rata 3 kali pengukuran dan kandungan flavonoid dinyatakan dengan kesetaraan baku pembanding kuersetin.⁹

Uji *In Vitro* Antioksidan

Aktivitas antioksidan diuji dengan menggunakan metode DPPH (*1,1-diphenyl-2-picrylhydrazil*). Sebanyak 10 mg ekstrak dilarutkan dengan 10 mL metanol p.a sebagai larutan induk (1000 ppm). Selanjutnya dibuat seri larutan pada tiap tabung reaksi dengan konsentrasi 10, 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Ke dalam masing-masing tabung reaksi ditambahkan 1 mL DPPH dan 2 mL metanol, diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Kontrol blanko yang digunakan adalah metanol. Sebagai pembanding digunakan kuersetin. Selanjutnya serapan gelombangnya diukur dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Nilai IC₅₀ dihitung masing-masing dengan

menggunakan rumus persamaan regresi. Pengukuran aktivitas penghambatan dapat ditentukan dari % inhibisi dan IC₅₀ dihitung dengan rumus berikut :

$$\%inhibisi = \frac{Absorbansi (kontrol - sampel)}{Absorbansi kontrol} \times 100\%$$

IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linear $y = a + bx$, dimana konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y.¹⁰

Uji Penghambatan Tirosinase oleh Ekstrak Kulit Batang Taya

Ekstrak kulit batang taya (Naucle subdita) sebanyak 50 mg dilarutkan dalam DMSO hingga konsentrasi 50.000 µg/mL. Larutan stok kemudian diencerkan ke dalam buffer fosfat 50 mM (pH 6,5) hingga diperoleh konsentrasi larutan ekstrak 156,25, 312,5, 625, 1250, 2500, 5000 dan 10.000 µg/mL. Setelah itu, asam kojat sebagai kontrol positif diuji mulai konsentrasi 7,8, 15,63, 31,25, 62,5, 125, 250 dan 500 µg/mL dalam pelat tetes 96 sumur. Sebanyak 70 µL ekstrak pengenceran ini masing-masing digabungkan dengan 30 µL enzim tirosinase (Sigma, 333 unit/mL dalam buffer fosfat). Pelat diinkubasi pada suhu kamar selama 5 menit, kemudian ditambahkan 110 µL substrat L-tirosin 2 mM atau L-DOPA 2 mM dan diinkubasi kembali selama 30 menit pada suhu kamar. Larutan pada setiap sumur diukur dengan menggunakan *multiwell plate reader* pada panjang gelombang 510 nm untuk menentukan persen inhibisi dan nilai konsentrasi hambat 50% (IC₅₀). Persen inhibisi dihitung dengan cara membandingkan serapan sampel sebelum penambahan ekstrak (A) dengan setelah penambahan ekstrak (B).¹¹

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

Formulasi Sediaan

Pada pembuatan sediaan gel dari ekstrak kulit batang taya, pertama-tama dibuat basis gel dengan ditimbang

sejumlah 0,8 g karbopol 940, kemudian dikembangkan terlebih dahulu di dalam 50 g akuades dengan pengadukan konstan (diaduk dengan *stirrer*). Ke dalam *beaker glass* dimasukkan metilparaben dan propilparaben dilarutkan dalam 5 mL propilen glikol. Pada *beaker glass* ke-2 dan ke-3, Na EDTA dan Na metabisulfit dilarutkan masing-masing dalam 5 mL akuades.

Tabel 1. Formula Sediaan Gel

Bahan	Fungsi	Blanko (%)	Formulasi (%)
Ekstrak taya	Bahan aktif	-	1
Karbopol 940	Gelling agent	0,8	0,8
TEA	Alkalizing agent	0,8	0,8
Propilenglikol	Humektan	15	15
Gliserin	Humektan	15	15
Na EDTA	Chelating agent	0,1	0,1
Metil Paraben	Pengawet	0,18	0,18
Propil Paraben	Pengawet	0,02	0,02
NaMetabisulfit	Antioksidan	0,1	0,1
Aquades	Pelarut	Ad 100	Ad 100

Ekstrak dimasukkan ke dalam *beaker glass* yang lain dan volume dibuat sampai 100 mL dengan menambahkan akuades yang tersisa. Larutan pada beaker glass pertama kemudian dicampurkan ke dalam basis gel karbomer dengan tetap dilakukan pengadukan dengan konstan. Selanjutnya ditambahkan larutan Na EDTA secara perlahan-lahan dan ditambahkan Na metabisulfit sambil terus diaduk. Kemudian ditambahkan gliserin dan sisa akuades sambil tetap diaduk konstan. Trietanolamine (TEA) ditambahkan sedikit demi sedikit untuk penyesuaian pH (4,5-6,5) dan untuk mendapatkan konsistensi gel yang diperlukan. Metode yang sama dilakukan untuk blanko tanpa penambahan ekstrak. Dilakukan evaluasi fisik sediaan dan uji stabilitas selama 3 bulan.

Uji Keamanan dan Uji Manfaat

Kriteria inklusi subjek dalam penelitian ini adalah wanita dewasa sehat

usia 35-50 tahun dengan kulit sehat dan normal. Semua subjek telah mendapatkan penjelasan mengenai produk yang akan di uji dan menandatangani *informed consent*, bersedia untuk berhenti menggunakan produk topikal selain produk yang digunakan dalam penelitian, seminggu sebelum penelitian dan selama penelitian berlangsung.

Kriteria eksklusi subjek penelitian ini adalah mempunyai riwayat alergi kulit sebelumnya, sedang menjalani pengobatan topikal atau memakai produk tertentu untuk penyembuhan penyakit kulit, sedang menderita penyakit kulit.

Kriteria drop out subjek dalam penelitian ini adalah subjek penelitian tidak datang lagi ke tempat penelitian, subjek penelitian tidak menggunakan sampel uji secara teratur, subjek penelitian mengundurkan diri dengan alasan efek samping atau karena sakit.

Besaran sampel yang disarankan untuk penelitian eksperimental sederhana yang menggunakan kelompok kontrol dan kelompok uji adalah 10 sampai dengan 20 orang untuk masing-masing kelompok.¹² Besarnya sampel yang ditetapkan pada penelitian ini adalah 20 orang untuk masing-masing kelompok. Besar sampel ditambahkan untuk mengantisipasi kemungkinan relawan yang *drop out*, *loss to follow up* atau tidak taat pada masing-masing kelompok.¹³ Rumus yang digunakan adalah :

$$\hat{n} = \frac{n}{(1 - f)}$$

Keterangan :

\hat{n} = besar sampel total

n = besar sampel yang ditentukan

f = perkiraan proporsi *drop out*

Besarnya sampel untuk mengantisipasi kemungkinan *drop out* pada penelitian klinis adalah 10%.¹³, maka relawan yang dibutuhkan masing-masing kelompok pada penelitian ini adalah 23 orang. Total sampel yang dibutuhkan adalah 46 orang.

Pengambilan sampel dilakukan dengan teknik mengumpulkan data wanita dengan kulit sehat usia 35-50 tahun dari Posbindu daerah Pancoran Mas, Depok dengan memberikan lembar kuesioner dan wawancara serta pemeriksaan fisik oleh peneliti. Calon relawan diseleksi sesuai dengan kriteria inklusi dan eksklusi. Calon relawan kemudian diberikan penjelasan mengenai tujuan, kegiatan yang harus dilakukan selama penelitian, keuntungan dan resiko intervensi serta penanganannya jika terjadi efek yang tidak diinginkan.

Pemilihan relawan atau subjek penelitian dilakukan berdasarkan kriteria inklusi dan eksklusi penelitian. Relawan yang telah memenuhi kriteria inklusi diberikan penjelasan terlebih dahulu tentang penelitian yang akan dilakukan. Jika bersedia maka relawan selanjutnya akan menandatangani *informed consent*. Dari relawan yang terpilih dan bersedia mengikuti penelitian, dipilih 12 orang untuk melakukan uji keamanan terlebih dahulu dilanjutkan dengan 23 orang uji manfaat. Selama melakukan uji manfaat, relawan dilarang menggunakan produk topikal apapun pada kedua area lengan yang akan diteliti.

Uji keamanan dilakukan dengan menempelkan gel uji pada area volar lengan atas dengan menggunakan *patch* (Finn Chamber) selama 48 jam. Sediaan yang diuji yaitu sediaan yang mengandung basis saja (kontrol negatif) dan sediaan yang mengandung ekstrak kulit batang taya. Kemudian *patch* diangkat setelah 30 menit, selanjutnya diamati reaksi kulit yang terjadi setelah 24 jam dan 48 jam setelah penempelan *patch*. Penilaian iritasi kulit berdasarkan metode yang dilakukan oleh Spiwak. seperti tercantum pada Tabel 2.¹⁴

Uji Manfaat dilakukan dengan cara pengukuran elastisitas kulit menggunakan alat *cutometer*. Pengukuran tersebut dilakukan pada 23 orang relawan yang hasil uji keamanannya (*patch test*) memberikan hasil negatif atau tidak menimbulkan reaksi iritasi pada kulit.

Pengukuran elastisitas kulit dilakukan pada kedua area lengan bawah sebelah dalam.

Tabel 2. Kriteria penilaian rekasi kulit

Catatan	Deskripsi	Interpretasi
-	Tidak ada perubahan kulit pada area uji	Negatif
?+	Samar, eritema tidak terlihat	Reaksi diragukan
+	Eritema terlihat – edema sedang atau infiltrat, papula tidak ada, vesikel tidak ada	Reaksi lemah
++	Infiltrat kuat, papula banyak, ada vesikel	Reaksi kuat
+++	Penggabungan vesikel, bula atau ulkus	Reaksi ekstim
NT	Not Tested	
IR	Inflamasi terbatas pada area yang terpapar, infiltrat berkurang, petechiae (bintik merah) kecil, pustula, dan efloresensi selain papula dan vesikel.	Reaksi iritasi

Sepuluh menit sebelum dilakukan pengukuran, pada area yang akan diukur dibersihkan terlebih dahulu menggunakan alkohol. Masing-masing relawan diberikan 2 jenis gel, yaitu gel kontrol dan gel yang mengandung ekstrak kulit batang taya. Hasil pengukuran dari masing-masing lengan dicatat sebagai t0 (waktu sebelum pengolesan gel). Pemberian gel untuk setiap relawan yaitu gel kontrol pada lengan kanan dan gel yang mengandung ekstrak kulit batang taya (gel uji) pada lengan kiri. Relawan tidak mengetahui perbedaan gel karena pada sediaan hanya diberi kode.

Pengolesan gel dilakukan dua kali sehari setelah mandi setiap hari selama 28 hari. Kemudian dilakukan pengukuran elastisitas kulit setelah 4 minggu (t4) sejak pengolesan gel. Pengukuran dilakukan secara acak di area penelitian yang telah diberi tanda (5x5 cm) 2 cm di area volar lengan atas. *Probe cutometer®* ditempelkan pada area kulit yang akan diteliti. *Probe* diletakkan pada kulit dengan tekanan yang sama dan dilakukan sebanyak 4 kali pada area yang sama.

Setelah itu dicatat dan dihitung sebagai indeks elastisitas kulit relawan (R).

Persetujuan Kaji Etik

Penelitian ini telah mendapatkan persetujuan kaji etik dari Komite Etik Penelitian Kesehatan (KEPK), Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dengan nomor lolos kaji etik No: 103a/UN2.F1/ETIK/2016.

Analisa Data

Perbedaan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan (2 sampel independen) dianalisis menggunakan *mann-whitney test*. Perbedaan sebelum dan sesudah perlakuan pada minggu ke-4 dari perlakuan dianalisis menggunakan *Kruskal Wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi, masing-masing 300 g serbuk simplisia kulit batang taya (*Nauclea subdita*) dimasukkan ke dalam bejana. Kemudian ke dalam bejana dimasukkan pelarut etanol 96% yang sebelumnya telah didestilasi terlebih dahulu untuk menghilangkan kotoran. Etanol 96% yang dimasukkan sebanyak 3000 mL. Direndam selama 24 jam dengan 6 jam pertama sesekali dilakukan pengadukan. Kemudian diulangi lagi hingga 3 kali perlakuan. Hasil maserasi yang diperoleh kemudian disaring.

Filtrat yang diperoleh dipekatkan lagi menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu dan tekanan yang sesuai hingga diperoleh ekstrak yang kental. Ekstrak kental tersebut kemudian dikeringkan lagi di dalam oven 50°C sampai menjadi ekstrak kering. Dari 1500 g serbuk simplisia didapatkan ekstrak kental sebanyak 272 g. Nilai rendemen diperoleh 18,13%. Hasil karakterisasi ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil karakterisasi ekstrak

Karakterisasi	Hasil
Bentuk	Ekstrak kental
Bau	Khas
Rasa	Agak sepat
Warna	Kecoklatan
pH	5,74
Kadar air	2,26%
Susut pengeringan	2,92%
Kadar abu total	1,25%
Kadar sari larut etanol	81,25%
Kadar sari larut air	17,58%

Kadar flavonoid total yang diperoleh dari ekstrak kulit batang taya yaitu sebesar 1,83%. Hasil yang diperoleh sedikit rendah dikarenakan ekstrak telah melalui proses pemanasan dapat membuat kadar dari senyawa flavonoid berkurang. Proses pemanasan ini dapat mengakibatkan penurunan kadar total flavonoid sebesar 15–78 %.¹⁴

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode DPPH karena pengujian yang sederhana, mudah, cepat dan peka serta hanya memerlukan sedikit sampel. Hasil uji aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} . IC_{50} merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu menghambat proses oksidasi sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan.¹⁵ IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan linier, konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan % inhibisi sebagai sumbu y.

Menurut pembagian kategori antioksidan Blois suatu bahan alam (*raw material*) yang memiliki IC_{50} kurang dari 50 $\mu\text{g/mL}$ dapat dikategorikan sebagai antioksidan yang sangat kuat, 50-100 $\mu\text{g/mL}$ sebagai antioksidan kuat, 101-150 $\mu\text{g/mL}$ sebagai antioksidan sedang dan jika lebih dari 159 $\mu\text{g/mL}$ dikategorikan sebagai antioksidan lemah.¹⁵ Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang taya termasuk kategori antioksidan yang

sangat kuat karena memiliki nilai IC_{50} 48,78 $\mu\text{g/mL}$. Namun, jika dibandingkan dengan kuersetin nilai IC_{50} adalah 10,12 $\mu\text{g/mL}$ maka nilai IC_{50} ekstrak kulit batang taya jauh lebih besar dibandingkan dengan kuersetin. Hal ini dapat terjadi karena ekstrak bukan merupakan senyawa murni seperti kuersetin.

Uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase oleh ekstrak kulit batang taya dilakukan dengan menggunakan asam kojat sebagai pembanding dalam penelitian ini. Hasil uji IC_{50} pada ekstrak kulit batang taya dengan L-tyrosine memiliki nilai sebesar 568.58 $\mu\text{g/mL}$ dan L-DOPA sebesar 1374.69 $\mu\text{g/mL}$. Sedangkan jika dibandingkan dengan pembanding yaitu asam kojat memiliki nilai IC_{50} 15.69 $\mu\text{g/mL}$ dengan L-tyrosine dan 61.38 $\mu\text{g/mL}$ dengan L-DOPA. IC_{50} ekstrak kulit batang taya jauh lebih besar dibandingkan dengan standar asam kojat.¹⁶

Setelah formulasi gel dibuat, perlu dilakukan evaluasi stabilitas fisik selama 12 minggu dengan parameter-parameter yang meliputi pengamatan organoleptis, homogenitas, pengukuran pH, sifat alir dan konsistensi. Hasil evaluasi sediaan gel menghasilkan gel yang stabil.

Hasil pemeriksaan fisik pada 12 orang sukarelawan menunjukkan tidak ditemukan adanya eritema maupun edema. Dengan demikian hasil uji keamanan pada 12 orang sukarelawan negatif dan bisa digunakan secara topikal di kulit serta dilanjutkan uji manfaat (Tabel 4).

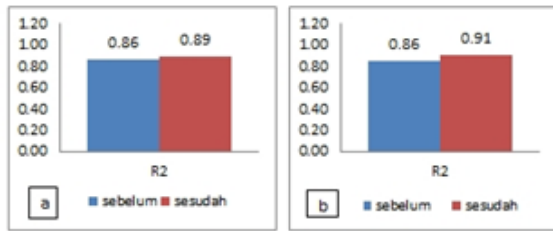
Tabel 4. Hasil uji keamanan pada kulit

Metode	Kelompok	Iritasi		Alergi	
		N [^]	%	N [^]	%
<i>Patch test</i>	Kontrol	0	0	0	0
	Uji	0	0	0	0

Keterangan : N[^] = jumlah relawan dengan respon positif (12 orang)

Uji manfaat dinilai terhadap parameter elastisitas kulit kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol (plasebo). Ada 4 (empat) parameter yang

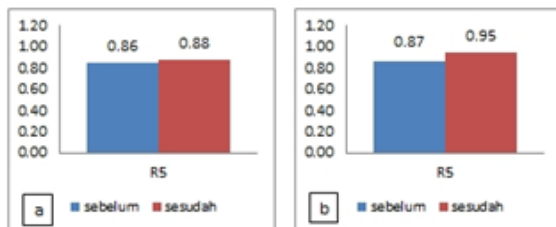
dinilai dalam pemeriksaan elastisitas kulit, yaitu R2, R5, R6 dan R7. Nilai R terlihat langsung pada hasil pengukuran alat *cutometer*.



Gambar 1. Perbandingan parameter R2 sebelum dan setelah perlakuan (a) gel kontrol (plasebo); (b) gel uji

Ket : x = jenis parameter R2
y = nilai rata-rata parameter R2

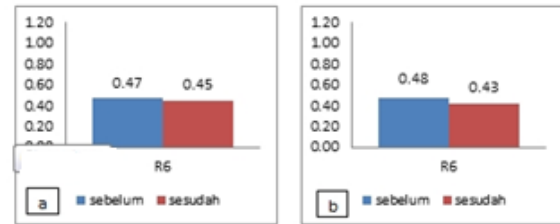
Parameter R2 ini bertujuan untuk menggambarkan tahanan kulit dibandingkan dengan kemampuan kulit untuk kembali seperti semula (*gross elasticity*). Nilai R2 apabila semakin mendekati 1 (100%) menunjukkan kulit semakin elastis. Persentase perubahan yang diperoleh dari kelompok plasebo sebesar 3,49% sedangkan pada kelompok uji sebesar 5,81%.



Gambar 2. Perbandingan parameter R5 sebelum dan setelah perlakuan (a) gel kontrol (plasebo); (b) gel uji

Ket : x = jenis parameter R5
y = nilai rata-rata parameter R5

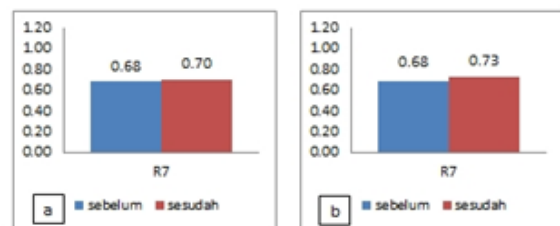
Parameter R5 ini bertujuan untuk menggambarkan porsi elastisitas ketika fase penyedotan dibandingkan dengan fase relaksasi (*net elasticity*). Nilai R5 yang semakin mendekati nilai 1 (100%) menunjukkan kulit yang semakin elastis. Persentase perubahan yang diperoleh dari kelompok plasebo sebesar 2,33% sedangkan pada kelompok uji sebesar 9,20%.



Gambar 3. Perbandingan parameter R6 sebelum dan setelah perlakuan (a) gel kontrol (plasebo); (b) gel uji

Ket : x = jenis parameter R6
y = nilai rata-rata parameter R6

Parameter R6 ini bertujuan untuk menggambarkan porsi viskoelastitas dibandingkan porsi elastis dari kurva pada fase penyedotan. Nilai R6 yang semakin kecil menunjukkan kulit yang semakin elastis. Persentase perubahan diperoleh dari kelompok plasebo sebesar -4,26 % sedangkan pada kelompok uji sebesar -10,42%. Persentase semakin menurun atau minus karena pada parameter R6 yang dinilai adalah penurunannya.



Gambar 4. Perbandingan parameter R7 sebelum dan setelah perlakuan (a) gel kontrol (plasebo); (b) gel uji

Ket : x = jenis parameter R7
y = nilai rata-rata parameter R7

Parameter R7 ini bertujuan untuk menggambarkan porsi pemulihan elastisitas dibandingkan dengan kurva keseluruhan. Nilai R7 yang semakin mendekati nilai 1 (100%) menunjukkan kulit yang semakin elastis. Persentase perubahan yang diperoleh dari kelompok plasebo sebesar 2,94% sedangkan pada kelompok uji sebesar 7,35%.

Perbedaan sebelum (t0) dan sesudah perlakuan (t4) pada kedua kelompok dianalisis menggunakan *K-independent sample (Kruskal Wallis)*. Hasil yang diperoleh dari analisis kemaknaan semua

parameter R2, R5, R6 dan R7 pada semua kelompok baik kelompok plasebo maupun kelompok uji sebelum dan sesudah perlakuan memiliki perbedaan yang bermakna $p = 0,000$ ($p < 0,005$).¹⁷

Berdasarkan hasil uji manfaat terhadap elastisitas kulit, sediaan gel yang mengandung ekstrak kulit batang taya hanya memberikan peningkatan yang sangat sedikit. Hal ini dapat disebabkan di dalam formulasi hanya mengandung 1% ekstrak. Sedangkan jika dihitung berdasarkan kadar total flavonoid sebesar 1,83%, sediaan gel ekstrak kulit batang taya ini hanya mengandung 1,83 mg senyawa aktif flavonoid yang bekerja sebagai antioksidan. Oleh karena itu, sediaan gel ekstrak kulit batang taya cukup memberikan hasil yang cukup baik untuk mempertahankan elastisitas kulit atau digunakan sebagai pencegah penuaan kulit (*anti aging*). Namun kurang maksimal jika digunakan untuk mengatasi kerut (*wrinkle/aging*).

KESIMPULAN

Ekstrak kulit batang taya memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} 48,78 $\mu\text{g/mL}$ yang dikategorikan sebagai antioksidan yang kuat ($<50 \mu\text{g/mL}$) dan mampu menghambat enzim tirosinase dengan IC_{50} 568,58 $\mu\text{g/mL}$ pada L-tyrosine dan 1374.69 $\mu\text{g/mL}$ pada L-DOPA. Formulasi sediaan gel yang mengandung ekstrak kulit batang taya dihasilkan sediaan yang aman, stabil dan mampu meningkatkan elas kulit.

SARAN

Diperlukan penelitian lebih lanjut meliputi fraksinasi dan karakteristik senyawa yang lebih spesifik dari ekstrak kulit batang taya (*Nauclea subdita*).

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia atas bantuan sarana dan

prasarana sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan baik.

DAFTAR RUJUKAN

1. Riwut T, Mantikei S. Maneser Panatau Tatu Hiang – Menyelami Kekayaan Leluhur. Editor Nila Riwut. Pusakalima. Palangkaraya. 2008.
2. Lin J.Y, Fisher D.E. Melanocyte biology and skin pigmentation. Nature Journal. 2007;445(7130):843-50.
3. Sheo SY, Sharma VK, Sharma N. Mushroom Tyrosinase: Recent Prospects. Journal of Agricultural Food Chemistry. 2003;51(10):2837-53.
4. Uyen LDP, Nguyen DH, Kim EK. Mechanism of skin pigmentation. Biotechnology and Bioprocess Engineering, 2008; 13(4):383-95.
5. Fitri AA. Histologi dari Melanosit. Fakultas Kedokteran Bagian Histologi, Universitas Sumatera Utara. 2004.
6. Ohguchi K, Tanaka T, Kido T.. Effects of hydroxystilbene derivatives on tyrosinase activity. Biochemistry Biophysical Research Community. 2003;307(4):861-63.
7. Pinnell SR. Cutaneous photodamage, oxidative stress, and topical antioxidant protection. J Am Acad Dermatol, 2003; 48(1),1-19.
8. Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia Edisi I, Jakarta. Departemen Kesehatan; 2008.
9. Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. J Food Drug Anal. 2002;10:178-82.
10. Ramamoorthy, Praveen K, Bono A. Antioxidant activity total phenolic and flavonoid content of *Morinda citrifolia* fruit extracts from various extraction processes. Journal of Engineering and Technology. 2007;2(1):70-80.
11. Batubara I, Darusman L K, Mitsunaga T, Rahminiwati M, Djauhari E. Potency of Indonesia medicinal plant

- as tyrosinase inhibitor and antioxidant agent. J. Biol Sci. 2010;10(2):138-44.
12. Spiewak R. Patch testing for contact allergy and allergic contact dermatitis. The Open Allergy Journal 2008;1:42-51.
 13. Lusivera TK. Mempelajari pengaruh pemanasan terhadap kadar flavonoid [Skripsi]. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor. 2002.
 14. Fidrianny I., darmawati A., Sukrasno.. Antioxidant capacities from different polarities extracts of *Cucurbitaceae* Leaves Using FRAP, DPPH assay and correlation with phenolic, flavonoid, carotenoid content. Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2014;6(2):858-62.
 15. Yanhouy L, Hong CO, Nam MH, Kim JH. Antioxidant and Glycation Inhibitory Activities of Gold Kiwifruit, *Actinidia chinensis*. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 2011;54(3):460-67.
 16. Momtaz S, Mapunya BM, Houghton PJ, Ederly C, Hussein A, Naidoo S, et.al. Tyrosinase inhibition by extracts and constituents of *Sideroxylon inerme* L. stem bark, used in South Africa for skin lightening. Journal of Ethnopharmacology. 2008;119(3):507-12.
 17. Hyuk SJ, Hyun PS, Hwan SD, Hee LJ, Won SW, Sun HS. Antioxidative and Skin-Whitening Effect of an Aqueous Extract of *Salicornia herbacea*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 2009;73(3):552-56.