

Potensi Penghambatan Enzim Tirosinase dengan Ekstrak Etanol Daun Kopasanda (*Chromolaena Odorata* L.)

Potential inhibition of Tyrosinase Enzyme by Ethanol Extracts Kopasanda Leaf (*Chromolaena Odorata* L.)

Astuti Amin^{1,*}, Besse Hardianti¹, Subehan Lallo², Wahyu Hendrari¹

¹Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Makassar, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Makassar, Indonesia

*Email Korespondensi: amin.astuti@gmail.com

Abstrak

Kebutuhan akan perawatan kulit semakin meningkat. Salah satu indikator kesehatan kulit adalah kecerahan kulit warna kulit. Enzim tirosinase dapat menggelapkan warna kulit karena aktivitasnya melawan biosintesis melanin. Warna kulit juga akan berubah ketika terpapar sinar UV, bahkan pada tingkat yang lebih parah dapat menyebabkan kanker. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim tirosinase dari ekstrak etanol daun kopasanda *Chromolaena odorata* L. Daun *C. odorata* merupakan tumbuhan gulma dari family *Asteraceae* yang mengandung beberapa senyawa seperti tannin, fenol, flavonoid, saponin, dan steroid. Pada penelitian ini dilakukan pengujian terhadap ekstrak etanol daun *C. odorata* dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase berdasarkan persen penghambatannya. Penentuan aktivitas penghambatan enzim tirosinase menggunakan alat Spektrometer UV-Vis pada panjang gelombang 495 nm, dilakukan dengan menghitung nilai IC₅₀ dengan asam kojic sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ dari uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase, asam kojic sebagai kontrol positif sebesar 27,472 mg L⁻¹ (sangat kuat), sampel ekstrak etanol daun *C.odorata* sebesar 81,546 mg L⁻¹ (sangat kuat). Ekstrak etanol daun *C. odorata* memiliki efek penghambatan terhadap enzim tirosinase yang digunakan sebagai bahan sumber potensial senyawa antimelagenik alami.

Kata Kunci: *Chromolaena odorata* L, enzim tirosinase, Gulma

Abstract

The need for skin care is increasing. One indicator of skin health is the brightness of skin color. Tyrosinase enzyme can darken skin color due to its activity against melanin biosynthesis. Skin color will also change when exposed to UV rays, even at a more severe level can cause cancer. The purpose of this study was to determine the tyrosinase enzyme inhibitory activity of ethanol extract of

copasanda leaves of *Chromolaena odorata* L. *C. odorata* leaves are weeds from the Asteraceae family which contain several compounds such as tannins, phenols, flavonoids, saponins, and steroids. In this study, the ethanol extract of *C. odorata* leaves was tested in inhibiting tyrosinase enzyme activity based on the percent inhibition. Determination of tyrosinase enzyme inhibitory activity using UV-Vis spectrometer at a wavelength of 495 nm, done by calculating the IC₅₀ value with kojic acid as a positive control. The results showed that the IC₅₀ value of the tyrosinase enzyme inhibition activity test, kojic acid as a positive control amounted to 27,472 mg L⁻¹ (very strong), the sample of ethanol extract of *C. odorata* leaves amounted to 81,546 mg L⁻¹ (very strong). The ethanol extract of *C. odorata* leaves has an inhibitory effect on tyrosinase enzyme which is used as a potential source material for natural antimelagenic compounds.

Keywords: *Chromolaena odorata* L., tyrosinase enzyme, Weeds

Diterima: 13 Oktober 2023

Disetujui: 29 Februari 2024

DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v6i1.2120>



Copyright (c) 2024, Jurnal Sains dan Kesehatan (J. Sains Kes.).
Published by Faculty of Pharmacy, University of Mulawarman, Samarinda, Indonesia.
This is an Open Access article under the CC-BY-NC License.

Cara Sitasi:

Amin, A., Hardianti, B., Lallo, S., Hendrari, W., 2024. Potensi Penghambatan Enzim Tirosinase dengan Ekstrak Etanol Daun Kopasanda (*Chromolaena Odorata* L.). *J. Sains Kes.*, **6**(1). 132-141.
DOI: <https://doi.org/10.25026/jsk.v6i1.2120>

1 Pendahuluan

Kulit memiliki peran penting dalam melindungi bagian dalam tubuh, termasuk tulang, otot, sistem organ, persendian, saraf, dan pembuluh darah, dari zat-zat beracun, virus, bakteri, jamur, dan parasit [1]. Kulit, bertindak sebagai penghalang terhadap paparan radiasi [2] merupakan karakteristik seseorang, dan menjadi objek kecantikan. Warna kulit ditentukan oleh pigmen utama di dalam tubuh, melanin, yang diproduksi oleh kelenjar melanosit kelenjar melanosit dan berperan dalam menyerap dan mendistribusikan energi dari sinar UV untuk melindungi sel epidermis dari kerusakan [3]. Dengan demikian, paparan sinar UV merupakan salah satu faktor yang menyebabkan pembentukan melanin yang cepat, diikuti dengan proses penuaan dini yang cepat [4]. Paparan kulit terhadap sinar matahari

(UV) baik oleh UV-A dan UV-B dalam waktu yang lama dapat menyebabkan hiperpigmentasi, kelainan pada pigmen kulit wajah yang umumnya terjadi karena radiasi ultraviolet dari matahari [5]. Jika hal ini terus berlanjut, dapat menyebabkan kulit terbakar dan menyebabkan keganasan/kanker kulit [6]. Beberapa produk alami perkembangan dalam perlindungan kulit dimaksudkan untuk melindungi kulit dari sinar UV atau tabir surya. Tirosinase memainkan peran penting dalam produksi melanin, yang sangat penting untuk melanogenesis. L-DOPA adalah prekursor melanin dan katekolamin. Tirosinase bertindak sebagai katalis dalam dua reaksi berbeda: konversi tirosin *hidroksilase* menjadi dihidroksifenilalanin (L-DOPA), dan oksidasi L-DOPA menjadi *dopaquinone* [7]. Pembentukan melanin dapat dihambat dengan beberapa cara,

diantaranya menurunkan sintesis tirosinase, menurunkan transfer tirosinase dan menghambat aktivitas enzim tirosinase [7].

Tirosinase mengkatalis langkah pertama dalam dua reaksi sintesis melanin, yaitu hidroksilasi L-tirosin menjadi 3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA) dan oksidasi L-DOPA menjadi dopaquinon. Dopaquinon merupakan senyawa yang sangat reaktif yang dapat mengalami polarisasi secara spontan membentuk melanin [8]. Berbagai inhibitor tirosinase banyak ditemukan dalam kosmetik sebagai pencegah hiperpigmentasi, diantaranya adalah asam hialuronat, arbutin, asam kojat, merkuri dan hidrokuinon. Senyawa ini memiliki daya pemutih yang sangat besar, namun merkuri dan hidrokuinon bersifat karsinogenik [9]. Oleh karena itu sangat diperlukan adanya bahan alam seperti tumbuhan yang digunakan sebagai inhibitor enzim tirosinase. Salah satu bahan alam yang memiliki banyak khasiat yaitu tanaman Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dapat berkhasiat sebagai antitirosinase dan *antioxidant* [10]. Secara tradisional, daun *C.odorata* telah digunakan sebagai obat luka pada kulit dan pencerah kulit. Tanaman ini tumbuh di daerah tropis dan subtropis, khususnya Indonesia [11] [2]. daun *C.odorata* memiliki sifat antiinflamasi, anti bakteri [10], antioksidan [10] [2]. Ada beberapa senyawa aktif yang ditemukan dalam daun *C. odorata* dengan aktivitas antioksidan dan aktivitas obat luka pada kulit yang telah diisolasi, 5,7-dihydroxy-2-(4-hydroxyphenyl)chromen-4-one, 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5-hydroxy-6,7-dimethoxychromen-4-one, 2-(3,4-dihydroxyphenyl)-5,7-dihydroxychromen-4-one, (1S,3R,4R,5R)-3-[(E)-3-(3,4-dihydroxyphenyl)prop-2-enoyl]oxy-1,4,5-trihydroxycyclohexane-1-carboxylic acid, dan (E)-3-(4-hydroxyphenyl)prop-2-enoic acid. Senyawa dengan aktivitas penghambatan tirosinase berasal dari polifenol dan flavonoid [11]. Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menentukan aktivitas penghambatan tirosinase ekstrak etanol daun *C.odorata* sebagai bahan baku industri farmasi.

2 Metode Penelitian

2.1 Bahan

Daun *Chromolaena odorata* L. Sampel jenis tumbuhan liar Familia Asteraceae di lokasi penelitian diidentifikasi dan difoto, sampel tumbuhan diambil untuk diidentifikasi lebih lanjut di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia. Sampel tumbuhan liar indigenous Familia Asteraceae diidentifikasi berdasarkan pada karakteristik morfologi dan dibuatkan dengan nomor specimen 0055, etanol 70 % (Mallinckrodt Chemicals, Irlandia); amoniak, bubuk Mg, asam klorida pekat asam, asam klorida 1%, besi (III) klorida 1%, formaldehida, natrium asetat, NaOH 1N, anhidrat asam asetat, asam sulfat pekat, asam perklorat, kalium hidrogen fosfat, natrium hidroksida 0,2 N, L-DOPA, asam Kojic, dan tirosinase (Sigma-Aldrich, Saint Louis, AS).

2.2 Alat

Instrumen yang digunakan adalah Rotavapor (Buchi R-300, Jerman), neraca analitik GR-200 (AND Company Ltd., Tokyo, Jepang), oven (Mettler, Jerman), cawan silikat, tang penjepit cawan, cawan petri, kaca arloji, cawan penguapan, autoklaf (Hirayama) desikator gelas, dan kertas saring Whatman no. 42 (GE Healthcare, Amerika Serikat), Penyerapan Atom Spektrofotometer AA-6300 (Shimadzu, Kyoto, Jepang).

2.3 Persiapan Simplisia.

Sebanyak 5 kg *C.odorata*). dikumpulkan dari Pangkep, Sulawesi Selatan Indonesia. Daun *C.odorata* disiapkan sesuai dengan prosedur yang telah ditetapkan. Prosedur yang telah ditetapkan, meliputi pencucian, sortasi basah, perajangan pengeringan, sortasi kering, dan penyimpanan. Daun *C.odorata* dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 30 menit untuk mengoptimalkan proses pengeringan. Simplisia kemudian diamati secara organoleptik, meliputi bentuk, warna, bau, dan rasa. Simplisia yang telah kering diperkecil ukurannya menjadi serbuk dan diayak menggunakan ayakan no.4/18 untuk mendapatkan ukuran serbuk yang seragam.

2.4 Persiapan Ekstrak

Sebanyak 500 g serbuk dimaserasi dengan etanol 70% selama 2×24 jam, disaring, dandipekatkan dalam *rotary evaporator* (Buchi R-300, Jerman) pada suhu 50°C, tekanan 175 mmHg, dan kecepatan 60 rpm hingga diperoleh ekstrak kental. dimaserasi dengan etanol 70% selama 2×24 jam, disaring, dan dipekatkan dalam *rotary evaporator* (Buchi R-300, Jerman) pada suhu 50°C, tekanan 175 mmHg, dan kecepatan 60 rpm.

2.5 Evaluasi Kandungan Fitokimia

2.5.1 Alkaloid.

Identifikasi dilakukan dengan pereaksi Dragendorff, Wagner, dan Mayer: ditambahkan 0,1 gram ekstrak kedalam 10 mL kloroform dan tiga tetes amoniak. ditambahkan 2 tetes H₂SO₄ 2 M. Sampel dibagi menjadi 3 tabung, kemudian masing-masing tabung ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff, Meyer, dan Wagner. Terbentuknya endapan putih (positif Mayer), endapan merah (positif Dragendorff), dan endapan coklat (positif Wagner) menunjukkan bahwa sampel positif mengandung alkaloid.

2.5.2 Flavonoid.

Sampel seberat 200 mg ditimbang, diekstraksi dengan 5 mL etanol, dan dipanaskan selama lima menit dalam tabung reaksi. Selanjutnya, beberapa tetes HCl pekat ditambahkan ke dalam larutan yang dihasilkan. Kemudian ditambahkan 0,2 g bubuk Mg. Hasil positif ditunjukkan dengan munculnya warna merah tua yang bertahan selama tiga menit.

2.5.3 Saponin.

Sampel sebanyak 2 g dimasukkan ke dalam tabung reaksi tabung reaksi, yang kemudian ditambahkan air hingga seluruhnya sampel terendam, direbus selama 2-3 menit, didinginkan, dan dikocok dengan kuat. Jika terbentuk banyak busa selama 10 menit setinggi 1 cm sampai 10 cm dan tidak hilang dengan penambahan asam klorida 2N 1 tetes, hal ini menunjukkan adanya kandungan saponin.

2.5.4 Tanin.

Sampel seberat 20 mg ditimbang, lalu etanol ditambahkan hingga terendam seluruhnya. Kemudian ditambahkan 2-3 tetes larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan

dengan terbentuknya warna hitam kebiruan atau kehijauan.

2.5.5 Steroid/terpenoid.

Pengumpulan 50-100 mg sampel diikuti dengan penambahan asam asetat glasial asam asetat sampai semua sampel terendam. Setelah 15 menit, enam tetes larutan dipindahkan ke botol uji, dan dua hingga tiga tetes asam sulfat ditambahkan. Pembentukan warna merah, oranye, atau ungu warna menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan munculnya warna biru menunjukkan adanya steroid

2.6 Uji Penghambatan Tirosinase

Tirosinase Penghambatan enzim tirosinase dari ekstrak etanol daun kopasanda *C.odorata* dilakukan dengan cara menghambat kuinon DOPA yang dihasilkan dengan cara mereduksi enzim tirosinase yang dihasilkan, dan kemudian mengukurnya absorbansi dengan Microplate Reader EL × 800 pada 490 nm untuk mendapatkan nilai IC₅₀ dan dibandingkan dengan nilai IC₅₀ dari asam kojic sebagai kontrol positif. Enzim tirosinase. Aktivitas penghambatan dihitung sebagai persentase penghambatan (% penghambatan) menggunakan rumus pada persamaan 1.

$$\% \text{ (Inhibisi)} = \frac{C - S}{C} \times 100\% \quad \text{(Persamaan 1)}$$

Keterangan:

C : Absorbansi aktivitas enzim tanpa penghambatan

S : Absorbansi aktivitas enzim dengan penambahan sampel yang diuji S1-S0

S1 : Absorbansi ekstrak sebagai hasil aktivitas dengan penambahan enzim terlebih dahulu

S0 : Absorbansi kontrol (Absorbansi ekstrak sebagai hasil aktivitas tanpa penambahan ekstrak uji)

IC₅₀ dihitung menggunakan perhitungan regresi linier dengan menghubungkan data konsentrasi sebagai sumbu (X) dengan % resistensi sebagai sumbu (Y) dari persamaan $y = a + bx$ dapat dihitung menggunakan IC₅₀ menggunakan persamaan 2.

$$IC_{50} = \frac{50 - a}{b} \quad \text{(Persamaan 2)}$$

3 Hasil dan Pembahasan

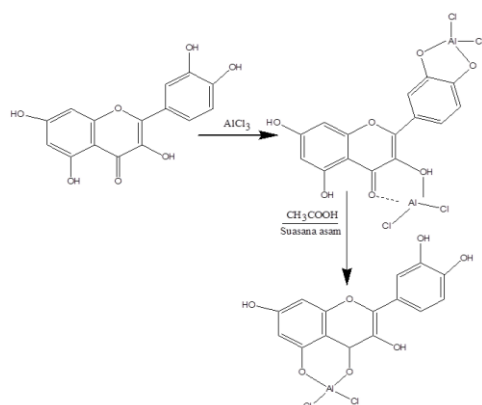
Pada penelitian ini, 500 g serbuk dari 15 kg daun kopasanda *C.odorata*. Simplisia berwarna hijau dengan ketebalan 0,2–0,45 cm. Karakteristik ini dapat dilihat pada Gambar 1, ekstrak etanol daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) diperoleh dengan cara mengekstraksi daun *C.odorata* melalui metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70%. Maserasi dipilih karena metode ekstraksi yang dilakukan secara dingin melalui perendaman sehingga dapat menghindari kerusakan zat aktif yang termolabil [12] dan dapat menembus dinding sel. Etanol digunakan sebagai penyari karena pelarut etanol memiliki gugus hidroksil (-OH) yang bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa flavonoid secara optimum.

Menurut penelitian [4] menunjukkan bahwa kadar flavonoid yang dihasilkan melalui metode maserasi menggunakan penyari etanol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak yang diperoleh melalui metode ekstraksi secara sokletasi. karena pelarut ini dapat mengekstrak hampir semua kandungan simplisia, baik yang bersifat non polar, semi polar, dan polar [13]. Pelarut ini bersifat selektif tidak beracun, universal, dan cocok untuk mengekstraksi semua kelas metabolit sekunder. Ekstraksi dingin memungkinkan ekstraksi banyak senyawa, meskipun beberapa senyawa memiliki kelarutan yang terbatas dalam ekstraksi pelarut pada suhu kamar dan adanya pengaruh pemanasan yang mengakibatkan penurunan kadar total flavonoid yang diperoleh. Suhu 50°C relatif aman serta mencegah terjadinya kerusakan pada senyawa metabolit sekunder tertentu. Ekstrak yang diperoleh dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat didalam sampel.

Tujuan dari skrining ini adalah untuk mengidentifikasi metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol daun *C.odorata*, seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Menunjukkan metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid. Uji fitokimia merupakan metode uji awal yang digunakan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terkandung dalam tanaman sehingga dapat digunakan sebagai

penghambat enzim tyrosinase. Identifikasi alkaloid menggunakan pereaksi Mayer, menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya endapan putih. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer, diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomerkurat (II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap [14]. Identifikasi flavonoid dengan pereaksi $AlCl_3$ adalah untuk membentuk reaksi antara $AlCl_3$ dengan golongan flavonoid membentuk kompleks antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga atau dengan gugus hidroksil yang saling bertetangga. $AlCl_3$ akan bereaksi dengan gugus keton pada C_4 dan gugus OH pada C_3 atau C_5 pada senyawa flavon atau flavonol membentuk senyawa kompleks yang stabil berwarna kuning [15].

Identifikasi tanin menunjukkan hasil positif yaitu terbentuknya warna hijau kehitaman sesuai dengan literatur yang menyatakan larutan berwarna biru atau hijau kehitaman jika menunjukkan adanya tanin. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan $FeCl_3$ 1% karena tanin akan bereaksi dengan ion Fe^{3+} membentuk senyawa kompleks. Identifikasi saponin menunjukkan hasil positif dengan terbentuknya buih yang tidak hilang dengan penambahan HCl 2 N. Timbulnya busa pada uji ini menunjukkan adanya glikosida yang mempunyai kemampuan membentuk buih dalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa lainnya [15]. Hal ini berdasarkan kekuatan mereduksi dari gugus hidroksi senyawa fenolik dan adanya inti aromatis pada senyawa flavonoid yang dapat mereduksi fosfomolibat fosfotungstat menjadi molibdenum yang berwarna biru [16]]. Selain itu flavonoid memiliki aktivitas yang luas sebagai antioksidan dan penangkal radikal bebas yang berkorelasi dengan kemampuannya untuk kesehatan dan perlindungan kulit dari sinar UV matahari [17][18] [19] [20]. Reaksi yang terbentuk dapat dilihat pada gambar 1.

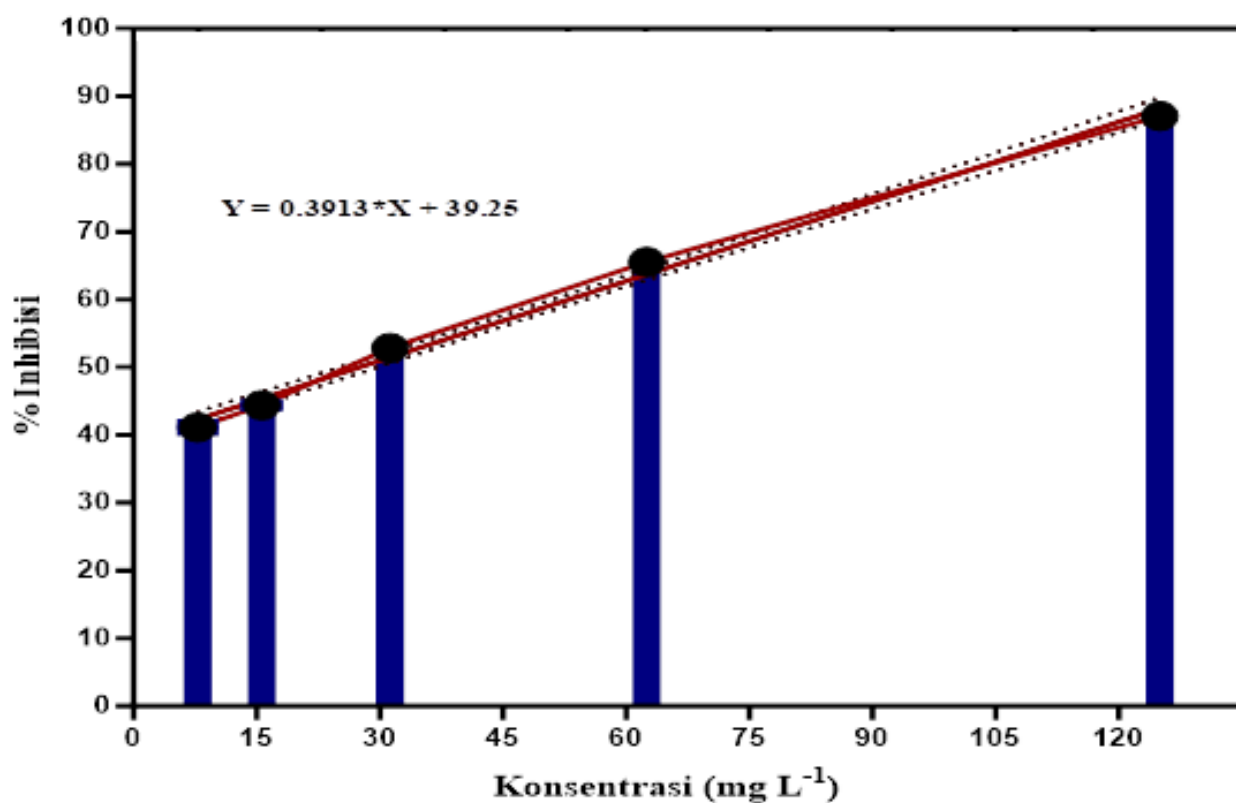
Gambar 1. Reaksi Pembentukan Kompleks Flavonoid dengan AlCl_3 [20].Table 1. Skrining fitokimia ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.).

Pereaksi	Senyawa	Warna	Hasil
Salkowski	Triterpenoid dan Sterol	Cincin merah dan biru	+
Mayer	Alkaloid	Endapan putih	+
Forth	Saponin	Buih $\pm$ 2 cm	+
Reagen AlCl_3	Flavonoid	Coklat	+
Reagen FeCl_3	Tanin	warna hitam kebiruan atau kehijauan	+

Uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase diukur berdasarkan absorbansi warna kuning. Absorbansi yang diukur adalah blanko kontrol larutan, larutan blanko,

penyerapan larutan uji dengan enzim tirosinase, larutan uji tanpa enzim tirosinase, dan larutan kontrol positif (asam kojic). Hasil optimasi dikatakan optimal karena pada kondisi tersebut, serapan yang diperoleh merupakan serapan optimum tertinggi untuk aktivitas penghambatan enzim tirosinase. Serapan optimal digunakan karena sensitivitas dari pengukuran sudah optimal meskipun pada konsentrasi yang kecil. Ekstrak etanol 70% dari ekstrak daun *C. odorata* diuji dengan asam kojic sebagai kontrol positif. Setiap larutan uji disiapkan dalam lima konsentrasi yang berbeda: 62,5; 125; 250, 500, dan 1000 mg L^{-1} . Persamaan regresi linier untuk menghitung IC_{50} . Persamaan regresi linier untuk menentukan penyerapan larutan uji, larutan kontrol asam kojic, dan larutan blanko. Hasil penghambatan enzim tirosinase ditunjukkan pada Tabel 2 dan gambar 4. Perbandingan grafik pada gambar 2 menunjukkan bahwa asam kojic digunakan sebagai kontrol positif.

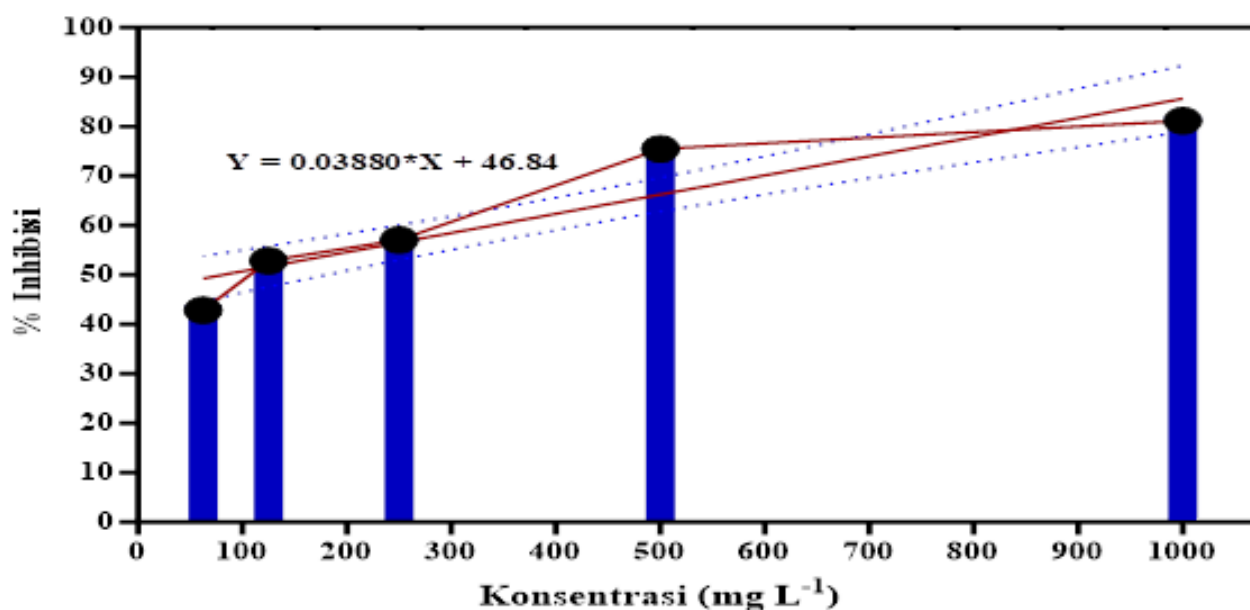
Asam kojic digunakan sebagai kontrol positif karena merupakan senyawa anti tirosinase yang memiliki sifat kompetitif pada aktivitas *monophenolase* dan efek penghambatan campuran pada aktivitas *diphenolase* dari enzim tirosinase sehingga sintesis melanin akan terganggu [21].



Gambar 2. regresi linear % Inhibisi kontrol positif asam kojic

Table 2. Hasil Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Tirosinase Ekstrak Daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.).

Sampel	Rep	Konsentrasi (mg L ⁻¹)	Abs sampel	Inhibisi (%)	Rata-rata inhibisi (%)	Standar Deviasi	IC ₅₀ (mg L ⁻¹)
Blanko	0.869						81.546
Ekstrak Etanol Daun Kopasanda (<i>Chromolaena odorata</i> L.)	1	62.5	0.500	0.424	42.82	0,08	
	2	62.5	0.500	0.424			
	3	62.5	0.490	0.436			
	1	125	0.410	0.528	52.86	0,03	
	2	125	0.410	0.529			
	3	125	0.410	0.529			
	1	250	0.374	0.570	57.05	0,07	
	2	250	0.373	0.571			
	3	250	0.373	0.570			
	1	500	0.212	0.756	75.49	0,16	
	2	500	0.214	0.754			
	3	500	0.213	0.755			
	1	1000	0.168	0.806	81.14	0,79	
	2	1000	0.165	0.810			
	3	1000	0.158	0.818			

Gambar 4. regresi linear % Inhibisi ekstrak daun kopasanda (*Chromolaena odorata* L.)

Tirosinase berperan dalam pembentukan pigmen kulit, dan aktivitasnya yang berlebihan menyebabkan hiperpigmentasi pada kulit. Kehadiran ekstrak daun *C.odorata* dalam menghambat tirosinase, yang ditentukan dari serapan DOPA kuinon yang terbentuk dan diukur dengan Spektrometer UV-Vis pada panjang gelombang 495 nm. Ekstrak daun *C.odorata* memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase besar dengan nilai IC₅₀ sebesar 81,546 mg/L. Hal ini berkaitan dengan senyawa flavonoid yang terkandung di dalam ekstrak daun *C.odorata*, sehingga ada pengaruh terhadap aktivitas penghambatan yang diperoleh. Mekanisme penghambatan yang terjadi adalah penghambatan kompetitif untuk oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase dan bagian 3-hidroksi-4-keto dari struktur flavonoid yang berperan sebagai pengelat logam tembaga (Cu) dari struktur enzim tirosinase. Pada umumnya satu molekul enzim tirosinase mengandung dua atom Cu yaitu CuA dan CuB yang terikat dengan tiga asam amino histidi [22]. Logam Cu berperan sebagai kofaktor pada aktivitas enzim tirosinase. Kemampuan katalitik enzim tirosinase menjadi berkurang dengan hilangnya Cu dari situs aktif enzim, sehingga dopakrom tidak terbentuk.

Hal ini terkait Hasil penghambatan tirosinase pada kontrol positif menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 27,472 mg L⁻¹, dimana kisaran

tersebut termasuk dalam kriteria penghambatan sangat kuat. Senyawa dikatakan sebagai inhibitor tirosinase sangat kuat jika IC₅₀ kurang dari 50, dikatakan kuat jika IC₅₀ 50 – 100, sedang 100 – 500 dan lemah 151 – 200. Semakin kecil nilai IC₅₀ semakin tinggi aktivitas inhibitor tirosinase [22].

4 Kesimpulan

Ekstrak etanolik daun Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tannin, dan steroid, menurut analisis fitokimia. Ekstrak etanol daun *C.odorata* berwarna kuning kecoklatan yang kental, aroma yang khas, dan rasa yang tajam. ekstrak etanol daun *C.odorata* pada konsentrasi etanol 70% menunjukkan bahwa ekstrak daun *C.odorata* memiliki potensi sebagai penghambat enzim tirosinase dengan nilai IC₅₀ sebesar 81.546 mg L⁻¹ dan asam kojic sebagai kontrol positif dengan nilai IC₅₀ sebesar 27,472 mg L⁻¹.

5 Pernyataan

5.1 Penyandang Dana

Penelitian ini tidak mendapatkan pendanaan dari sumber manapun.

5.2 Kontribusi Penulis

Semua penulis berkontribusi dalam penulisan artikel ini.

5.3 Konflik Kepentingan

Tidak ada konflik kepentingan.

6 Daftar Pustaka

- [1] S. Zolghadri *et al.*, "A comprehensive review on tyrosinase inhibitors," *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, vol. 34, no. 1, pp. 279–309, Jan. 2019, doi: 10.1080/14756366.2018.1545767.
- [2] A. Amin, S. M. T. Tengker, and W. Hendrarti, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang, Daun Dan Akar Kopasanda (*Chromolaena odorata* L) dengan Metode ABTS (2,2â€™-azino - bis (3-etilbenzotiazolin -6- asam sulfonat)," *Fullerene Journal of Chemistry*, vol. 7, no. 2, Art. no. 2, Apr. 2023, doi: 10.37033/fjc.v7i2.428.
- [3] D. Y. Im and K. I. Lee, "Antioxidative Activity and Tyrosinase Inhibition Effect of Ethanol Extract and Its Fractions from the Branch of *Rhododendron schlippenbachii*," *Korean Journal of Medicinal Crop Science*, vol. 21, no. 6, pp. 439–443, 2013, doi: 10.7783/KJMCS.2013.21.6.439.
- [4] R. A. P. Irsal, M. Safithri, D. Andrianto, and E. Mardiyati, "Flavonoid Concentration and Tyrosinase Inhibition Activity of Ethanol Extract of *Piper crocatum* (*Piper crocatum* var. Ruiz & Pav) from Various Regions in Indonesia and Their Correlations," *Jurnal Kimia Valensi*, vol. 9, no. 1, Art. no. 1, May 2023.
- [5] R. Hapsari, B. Elya, and J. Amin, "Formulation and evaluation of antioxidant and tyrosinase inhibitory effect from gel containing the 70% ethanolic *Pleurotus ostreatus* extract," *Int. J. Med. Arom. Plants*, vol. 2, Jan. 2012.
- [6] L. Batubara, I. Batubara, L. K. Darusman, T. Mitsunaga, M. Rahminiwati, and E. Djauhari, "Potency of Indonesian Medicinal Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent," 2010, Accessed: Sep. 23, 2023. [Online]. Available: <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/76480>
- [7] A. Di Petrillo *et al.*, "Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts," *BMC Complementary and Alternative Medicine*, vol. 16, no. 1, p. 453, Nov. 2016, doi: 10.1186/s12906-016-1442-0.
- [8] H. X. Nguyen *et al.*, "Tyrosinase inhibitory activity of flavonoids from *Artocarpus heterophyllous*," *Chemistry Central Journal*, vol. 10, no. 1, p. 2, Jan. 2016, doi: 10.1186/s13065-016-0150-7.
- [9] C. Jennifer, C. M. Stephanie, S. B. Abhishri, and B. U. Shalini, "A review on skin whitening property of plant extracts," *International Journal of Pharma and Bio Sciences*, vol. 3, pp. 332–347, Oct. 2012.
- [10] A. Amin, N. Khairi, and W. Hendrarti, "Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Batang, Daun, dan Akar Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) dengan Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power): Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Stems, Leaves, and Roots of Kopasanda (*Chromolaena odorata* L.) with FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power) Method," *Jurnal Sains dan Kesehatan*, vol. 4, no. 5, pp. 473–480, 2022.
- [11] G. B. Devi, "Phytochemical screening study in different parts of *Chromolaena odorata* by LC MS method and related parameters," 2022.
- [12] A. M. Ulfa, "Uji Aktivitas Variasi Gelling Agent Masker Gel Peel-," vol. 4, no. 1, 2021.
- [13] N. Suryani, D. D. Indriatmoko, A. Mahmudah, and D. Efendi, "Penetapan Kadar Fenolik dan Flavonoid serta Aktivitas Inhibisi Enzim Tirosinase Freeze Dry Jus Buah Jamblang (*Syzygium cumini* (L.) Skeels)," *Jurnal Farmasi Indonesia*, vol. 19, no. 1, Art. no. 1, Apr. 2022, doi: 10.31001/jfi.v19i1.1331.
- [14] L. K. Muharrami, F. Munawaroh, T. Ersam, and M. Santoso, "Phytochemical Screening Of Ethanolic Extract: a Preliminary Test on Five Medicinal Plants on Bangkalan," *J. pena sains*, vol. 7, no. 2, pp. 96–102, Oct. 2020, doi: 10.21107/jps.v7i2.8722.
- [15] S. Dubale, D. Kebebe, A. Zeynudin, N. Abdissa, and S. Suleman, "Phytochemical Screening and Antimicrobial Activity Evaluation of Selected Medicinal Plants in Ethiopia," *J Exp Pharmacol*, vol. 15, pp. 51–62, Feb. 2023, doi: 10.2147/JEP.S379805.
- [16] N. Y. Lindawati and A. Ni'ma, "Analysis of Total Flavanoid Levels of Fennel Leaves (*Foeniculum vulgare*) Ethanol Extract by Spectrophotometry Visibel," *JFSP*, pp. 1–12, Apr. 2022, doi: 10.31603/pharmacy.v8i1.4972.
- [17] T. Masuda *et al.*, "Tyrosinase Inhibitory Activity of Ethanol Extracts from Medicinal and Edible Plants Cultivated in Okinawa and Identification of a Water-Soluble Inhibitor from the Leaves of *Nandina domestica*," *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 71, no. 9, pp. 2316–2320, Sep. 2007, doi: 10.1271/bbb.70249.
- [18] Z. Peng, G. Wang, Y. He, J. J. Wang, and Y. Zhao, "Tyrosinase inhibitory mechanism and anti-browning properties of novel kojic acid derivatives bearing aromatic aldehyde moiety," *Current Research in Food Science*, vol. 6, p. 100421, Jan. 2023, doi: 10.1016/j.crfs.2022.100421.
- [19] H.-N. Oh *et al.*, "Tyrosinase Inhibition Antioxidant Effect and Cytotoxicity Studies of the Extracts of *Cudrania tricuspidata* Fruit

- Standardized in Chlorogenic Acid," *Molecules*, vol. 24, no. 18, p. 3266, Sep. 2019, doi: 10.3390/molecules24183266.
- [20] K. R. Markham, "Cara Mengidentifikasi Flavonoid." Accessed: Oct. 12, 2023. [Online]. Available: http://perpustakaan.akmil.ac.id//index.php?p=show_detail&id=4717
- [21] A. Worachartcheewan, V. Prachayasittikul, S. Prachayasittikul, V. Tantivit, C. Yeeyahya, and V. Prachayasittikul, "Rational design of novel coumarins: A potential trend for antioxidants in cosmetics," *EXCLI Journal*, vol. 19, p. 209, 2020, doi: 10.17179/excli2019-1903.
- [22] S. Zolghadri *et al.*, "A comprehensive review on tyrosinase inhibitors," *J Enzyme Inhib Med Chem*, vol. 34, no. 1, pp. 279–309, Jan. 2019, doi: 10.1080/14756366.2018.1545767.