UJI AKTIVITAS PENGHAMBAT TIROSINASE PADA EKSTRAK METANOL RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* Roxb.)

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi

Oleh:
SARI NUR AISYAH
21482011295

PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN SAMARINDA
SAMARINDA
2025

PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama	: Sari Nur Aisyah
NIM	: 21482011295
Tempat Tanggal Lahir	: Samarinda, 13 Mei 2003
Alamat	: Jl. Durian 1 Desa Karang Tunggal Kecamatan Tenggarong Seberang, Kabupaten Kutai Kartanegara

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa Skripsi yang berjudul "Uji Aktivitas Penghambat Tirosinase Pada Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.)" adalah benar-benar hasil karya sendiri, seluruh ide, pendapat atau materi dari sumber lain telah dikutip dengan cara penulisan referensi yang sesuai.

Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya tanpa adanya tekanan dan paksaan dari pihak maupun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Samarinda, …

Sari Nur Aisyah

HALAMAN PENGESAHAN

UJI AKTIVITAS PENGHAMBAT TIROSINASE PADA EKSTRAK METANOL RIMPANG TEMU PUTIH (*Curcuma zedoaria* Roxb.)

Dipersiapkan dan disusun oleh:
SARI NUR AISYAH
21482011295

Telah dipertahankan dihadapan Dewan Penguji pada Tanggal … 2025

Pembimbing I

Henny Nurhasnawati, M.Si.
NIDN. 1103067801

Mengetahui:
STIKES Samarinda
Ketua

Pembimbing II

apt.Supomo, M.Si.
NIDN. 1103107701

Risa Supriningrum, S.Si., M.M.
NIDN. 1110016801

Tim Penguji

Ketua: apt. Anita Apriliana, M.Farm. ……

Anggota:

1. apt. Reksi Sundu, M.Sc. ……
2. Risa Supriningrum, S.Si., M.M. ……
3. Henny Nurhasnawati, M.Si. ……

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO:

"Maka sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan.
Sesungguhnya bersama kesulitan itu ada kemudahan"
(Q.S. Al-Insyirah: 5-6)

"Hidup itu bukan cuma tentang mencapai apa yang kita inginkan, tapi juga tentang mensyukuri apa yang kita miliki. Perbanyak syukurnya, nanti Allah tambah nikmatnya"
(Hanan Attaki)

PERSEMBAHAN:

Bismillahirrahmanirrahim

Skripsi ini saya persembahkan untuk kedua orang tua saya Ibu Suria Wati dan Bapak Wahyu yang selalu mengusahakan agar anaknya mendapatkan pendidikan yang terbaik, yang tidak pernah lelah menyemangati anaknya bahkan disaat diri ini merasa berada di titik terendahnya, yang selalu menyayangi dan mengasihi anak-anaknya dan memanjatkan doa kepada Allah SWT. tiada henti bahkan dikala diri mereka sedang sakit. Skripsi ini menjadi bukti dari segala usaha yang telah orang tua saya berikan kepada saya selama ini. Terimakasih Ibu dan Bapak telah membuktikan bahwa kalianlah orang tua terbaik di dunia ini. Kalian adalah alasan utama aku masih terus berdiri dan melangkah serta tetap tegar dalam menjalani hidup ini meskipun berkali-kali ingin menyerah.

Kepada diriku, terimakasih telah berjuang sampai di titik ini meskipun berkali-kali ingin berhenti dari semua kesibukan duniawi, tetapkah kuat karena perjalanan masih panjang dan jangan sia-siakan kesempatan yang diberikan kepada Allah SWT untuk diriku ini.

KATA PENGANTAR

Puji syukur saya haturkan kepada Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga saya dapat menyelesaikan penyusunan skripsi saya yang berjudul Uji Aktivitas Penghambat Tirosinase Pada Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) dengan baik dan tepat waktu sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana pada program studi Farmasi. Skripsi ini disusun sebagai bentuk implementasi pengetahuan dan keterampilan yang telah diperoleh selama masa perkuliahan, serta untuk menambah wawasan dalam bidang penelitian farmasi.

Saya menyadari bahwa dalam proses penyusunan skripsi ini tidak terlepas dari bimbingan, dukungan serta bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, saya menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah SWT. yang maha penyayang dan tidak pernah membiarkan hamba-Nya sendirian dalam sunyi dan sepinya dunia ini. Senantiasa memberikan pertolongan kepada hamba-Nya di saat diri ini ingin menyerah.
2. Bapak apt. Supomo, M.Si selaku ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda.
3. Ibu Henny Nurhasnawati, M.Si. selaku pembimbing I dan Ibu Risa Supriningrum, S. Si., M.M. selaku pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, arahan, masukan serta membagi ilmu pengetahuan selama penyusunan proses penyusunan skripsi ini.
4. Kedua orang tua saya Ibu Suria Wati dan Bapak Wahyu serta kakak dan adik saya tercinta Arif Nugraha, Aril Febrian dan Febrianisa senantiasa memberikan doa, motiviasi dan dukungan moral maupun material, yang selalu mendengar keluh kesahku selama ini.
5. Seluruh dosen dan staff STIKSAM yang telah memberikan ilmu dan bantuannya selama masa perkuliahan.

6. Sahabat saya Lintang, Inaayah, Ayu, Redita, Inul, Rina dan Luhung, terimakasih selalu sabar menemaniku mulai dari awal perkuliahan sampai saat ini, meskipun ada perkelahian dan perdebatan selama kita berteman tapi kalian tidak pernah meninggalkan diriku sendirian.
7. Terakhir kepada diri sendiri, terimakasih telah membuktikan bahwa diri ini mampu melewati semua kesulitan dan kesibukan ini. Mampu mengendalikan diri dari berbagai tekanan dan berusaha semaksimal mungkin dalam menyelesaikan tugas dan kewajiban.

Akhir kata, saya berharap semoga Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Semoga skripsi ini membawa manfaat bagi pengembangan ilmu

Samarinda, … Juli 2023

Sari Nur Aisyah

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMISI

Sebagai sivitas akademisi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda, saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Sari Nur Aisyah

NIM : 21482011295

Program Studi : Sarjana Farmasi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Sekolah tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda, Hak Bebas Royalti Nonekslusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas skripsi saya yang berjudul: "Uji Aktivitas Penghambat Tirosinase Pada Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.)" beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Nonekslusif ini Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat dan mempublikasikan tugas akhir sata selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Samarinda

Pada tanggal: … Juli 2025

Yang menyatakan

(Sari Nur Aisyah)

ABSTRAK

Nama	:	Sari Nur Aisyah
Program Studi	:	Sarjana Farmasi
Judul	:	Uji Aktivitas Penghambat Tirosinase Pada Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.)
Pembimbing	:	1. Henny Nurhasnawati, M.Si. 2. Risa Supriningrum, S.Si., M.M.

Hiperpigmentasi merupakan permasalahan kulit yang diakibatkan oleh peningkatan sintesis melanin akibat paparan sinar ultraviolet (UV) yang berlebihan. Upaya pencegahan dapat dilakukan dengan menggunakan senyawa yang mampu menghambat produksi melanin, salah satunya melalui penghambat aktivitas enzim tirosinase. Temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.), khususnya pada bagian rimpangnya, diketahui mengandung senyawa flavonoid yang berpotensi sebagai agen penghambat enzim tirosin dan mampu menghambat sintesis melanin pada kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambat enzim tirosinase terhadap ekstrak metanol rimpang temu putih dengan variasi konsentrasi ekstrak sebesar 1000, 500, 250 dan 125 ppm yang ditentukan berdasarkan nilai *Inhibitory Concentration* (IC_{50}) yang diperoleh dari pengukuran absorbansi ekstrak menggunakan alat *microplate reader* pada panjang gelombang 475 nm, sebagai pembanding digunakan asam kojat dengan konsentrasi 125, 62,5, 31,25, dan 15,627 ppm. Penelitian ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode *enzymatic analysis* dengan L-DOPA sebagai substrat. Tahapan penelitian meliputi determinasi tanaman, pembuatan simplisia, penetapan susut pengeringan simplisia (10,67% ± 0,45%), pembuatan ekstrak dengan hasil rendemen yaitu 9,92%, penetapan kadar air ekstrak (12,93% ± 3,13%), dan skrining fitokimia (menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik/tanin dan saponin), serta penentuan aktivitas penghambat enzim tirosinase terhadap ekstrak ekstrak metanol rimpang temu putih berdasarkan nilai IC_{50}. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol rimpang temu putih memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosine dengan nilai IC_{50} sebesar 296,076 ± 24,27 ppm, yang termasuk dalam kategori sedang, sementara itu hasil penelitian terhadap asam kojat sebagai kontrol positif menunjukkan aktivitas penghambatan enzim tirosin yang sangat kuat dengan nilai IC_{50} sebesar 12,495 ± 1,65 ppm.

Kata kunci : *Curcuma zedoaria* Roxb., penghambat enzim tirosinase, *microplate reader*, *Inhibitory Concentration 50* (IC_{50})

ABSTRACT

Name	:	Sari Nur Aisyah
Study Program	:	Sarjana Farmasi
Title	:	Tyrosinase Inhibitory Activity Test on Methanol Extract of White Turmeric Rhizome (*Curcuma zedoaria*)
Counsellor	:	1. Henny Nurhasnawati, M.Si. 2. Risa Supriningrum, S.Si., M.M.

Hyperpigmentation is a skin disorder caused by increased melanin synthesis due to excessive exposure to ultraviolet (UV) radiation. Preventive efforts can be carried out by using compounds capable of inhibiting melanin production, one of which is through the inhibition of tyrosinase enzyme activity. *Curcuma zedoaria* Roxb. (white turmeric), particularly its rhizome, is known to contain flavonoid compounds that have the potential to act as tyrosinase enzyme inhibitors and suppress melanin synthesis in the skin. This study aimed to determine the tyrosinase inhibitory activity of methanolic extract of white turmeric rhizome at various concentrations (1000, 500, 250, and 125 ppm), based on the Inhibitory Concentration 50 (IC_{50}) value obtained through absorbance measurements using a microplate reader at a wavelength of 475 nm. Kojic acid at concentrations of 125, 62.5, 31.25, and 15.625 ppm was used as a comparison. The study was conducted *in vitro* using an enzymatic analysis method with L-DOPA as the substrate. The research stages included plant determination, preparation of simplicia, determination of drying shrinkage of the simplicia (10.67% ± 0.45%), extraction (yielding 9.92%), determination of moisture content of the extract (12.93% ± 3.13%), phytochemical screening (showing positive results for alkaloids, flavonoids, phenolics/tannins, and saponins), and the evaluation of tyrosinase inhibitory activity based on IC_{50} values. The results showed that the methanolic extract of white turmeric rhizome exhibited tyrosinase inhibitory activity with an IC_{50} value of 296.076 ± 24.27 ppm, which falls into the moderate category. Meanwhile, kojic acid as a positive control demonstrated very strong tyrosinase inhibitory activity with an IC_{50} value of 12.495 ± 1.65 ppm.

Keywords : *Curcuma zedoaria* Roxb., tyrosinase inhibitor, microplate reader, Inhibitory Concentration 50 (IC_{50})

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
PERNYATAAN KEASLIAN SKRIPSI ..... **ii**
HALAMAN PENGESAHAN ..... **iii**
MOTTO DAN PERSEMBAHAN ..... **iv**
KATA PENGANTAR ..... **v**
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH ..... **vii**
ABSTRAK ..... **viii**
ABSTRACT ..... **ix**
DAFTAR ISI ..... **x**
DAFTAR GAMBAR ..... **xii**
DAFTAR TABEL ..... **xiii**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xiv**

BAB I PENDAHULUAN **1**
A. Latar Belakang 1
B. Rumusan Masalah 3
C. Hipotesis 3
D. Tujuan Penelitian 3
E. Manfaat Penelitian 4

BAB II TINJAIAN PUSTAKA **5**
A. Tumbuhan Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) 5
B. Simplisia 6
C. Ekstraksi dan Ekstrak 7
D. Skrining Fitokimia 9
E. Struktur Kulit 11
F. Melanin 12
G. Hiperpigmentasi 14
H. Inhibisi Enzim Tirosinase 14
I. *Microplate Reader* 15
J. IC_{50} (*Inhibitory Concentration 50*) 16

BAB III METODE PENELITIAN **17**
A. Rancangan Penelitian 17
B. Objek Penelitian 17
C. Sampel dan Teknik Sampling 17
D. Variabel Penelitian 18
E. Definisi Operasional 18
F. Teknis Pengumpulan Data 19

G. Analisis Data 29

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 30
A. Determinasi Tumbuhan 30
B. Pembuatan Simplisia dan Penetapan Susut Pengeringan Simplisia 30
C. Ekstraksi Rimpang Temu Putih 31
D. Penetapan Kadar Air Ekstrak 33
E. Skrining Fitokimia 34
F. Uji Aktivitas Penghambat Enzim Tirosine Ekstrak Metanol Temu Putih ... 35

BAB V PENUTUP 39
A. Kesimpulan 39
B. Saran 39

DAFTAR PUSTAKA 40
LAMPIRAN 46

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

1. Rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) 5
2. Struktur Kulit 11
3. Tipe Kulit 13
4. *Microplate Reader* 16
5. Proses Pembentukan Melanin 36

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

1. Kategori Potensi Aktivitas Antitirosinase 15
2. Perlakuan Sampel Uji 28
3. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Simplisia Rimpang Temu Putih..... 31
4. Hasil Rendemen Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih..... 32
5. Penetapan Kadar Air Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih..... 33
6. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih..... 34
7. Nilai IC_{50} Aktivitas Penghambat Enzim Tirosine 37

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

1. Alur Penelitian 46
2. Surat Determinasi Tanaman Temu Putih 47
3. Tahapan Pembuatan Simplisia 48
4. Perhitungan Susut Pengeringan dengan Metode Gravimetri 49
5. Penetapan Susut Pengeringan 51
6. Tahapan Pembuatan Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih 53
7. Perhitungan Rendemen Ekstrak 54
8. Pengujian Kadar Air Ekstrak 55
9. Penetapan Kadar Air Ekstrak 57
10. Skrining Fitokimia 59
11. Perhitungan Larutan Enzim dan Kontrol Positif 61
12. Perhitungan Larutan Uji Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih 61
13. Uji Aktivitas Antitirosine Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih 63
14. Perhitungan Persen Inhibisi Asam Kojat 65
15. Perhitungan Standar Deviasi IC_{50} Asam Kojat 68
16. Perhitungan Persen Inhibisi Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih 69
17. Perhitungan Standar Deviasi IC_{50} Ekstrak Temu Putih 72
18. Persamaan Regresi Linier Asam Kojat 73
19. Persamaan Regresi Linier Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih 74

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Indonesia merupakan salah satu negara tropis yang selalu disinari oleh matahari yang merupakan sumber energi pemancar panas. Matahari mempunyai peranan sangat penting bagi keberlangsungan makhluk hidup, disamping fungsinya tersebut matahari memiliki radiasi sinar UV yang berbahaya bagi kulit seperti warna kulit menjadi lebih gelap, eritema dan kulit terbakar (Syakri *et al*., 2020). Melanin adalah pigmen yang berperan penting dalam perlindungan terhadap kerusakan UV dan merupakan sistem pertahanan kulit terhadap faktor-faktor berbahaya (Petrillo *et al*., 2016). Intensnya paparan sinar matahari membuat masyarakat Indonesia banyak yang mengalami hiperpigmentasi yang disebabkan oleh meningkatnya sintesis melanin. Melanin melindungi kulit dari radiasi ultraviolet, yang diketahui dapat menyebabkan masalah patologis serius seperti kanker kulit.

Produksi melanin yang berlebihan dapat menyebabkan masalah estetika dan masalah serius seperti bintik atau bercak hiperpigmentasi pada kulit (Obaid *et al*., 2021). Hiperpigmentasi merupakan problem kulit yang sering dijumpai, yang disebabkan oleh produksi pigmen melanin yang berlebihan (Manivera, 2018). Melanin merupakan pigmen hitam yang terdapat pada rambut dan kulit yang berperan sebagai pelindung kulit dari radiasi sinar UV. Pembentukan melanin dapat dihambat dengan beberapa cara, diantaranya menurunkan sintesis tirosinase, menurunkan transfer tirosinase dan menghambat aktivitas enzim tirosinase (Himawan *et al*., 2016). Hal tersebut dapat dihindari dengan cara menggunakan produk-produk yang mampu menghambat sintesis melanin sehingga mencegah hiperpigmentasi.

Tumbuhan memiliki banyak senyawa yang dapat menangkal radikal bebas, baik senyawa metabolit primer maupun senyawa metabolit sekunder salah satunya yaitu

flavonoid. Flavonoid merupakan metabolit sekunder, termasuk kelompok senyawa fenol yang struktur kimianyanya terdiri dari gugus benzena yang mengandung gugus -OH yang tergantikan (Ningsih *et al*., 2023). Flavonoid berfungsi sebagai pewarna pada tumbuhan, pelindung pada struktur sel, meningkatkan efektivitas vitamin C, antiinflamasi dan sebagai antibiotik (Noer *et al*., 2018). Senyawa flavonoid juga dapat berfungsi sebagai inhibitor tirosinase (Syakri *et al*., 2020), salah satunya adalah kelompok 3-hidroksi dalam flavonol yang berperan penting untuk menghambat aktivitas tirosinase (El-Nashar *et al*., 2021). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Marliani *et al*., (2017), ekstrak rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) menggunakan pelarut etanol 95% dengan waktu ekstraksi selama 24 jam menghasilkan ekstrak dengan kadar flavonoid dan kurkuminoid yang tinggi.

Rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) merupakan salah satu rempah khas Indonesia yang umumnya digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan jamu. Rimpang ini sering digunakan secara tradisional untuk pengobatan gangguan menstruasi, dispepsia, muntah dan untuk kanker (Cintya *et al*., 2021). Temu putih banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional karena kandungan metabolit sekundernya seperti alkaloid, saponin, terpenoid, flavonoid dan tanin, selain itu rimpang temu putih juga digunakan untuk antibakteri, antioksidan dan antihepatotoksik (Firmansyah dan La, 2022).

Aktivitas penghambat enzim tirosinase secara in vitro dapat ditentukan dengan metode *enzymatic analysis* menggunakan alat *microplate reader* dan L-DOPA sebagai substrat. Metode *enzymatic analysis* adalah metode yang menggunakan enzim dalam pengukuran senyawa tertentu yang terdapat dalam campuran (pada penelitian ini yang dimaksud yaitu ekstrak metanol rimpang temu putih). Metode ini memungkinkan analisis lebih cepat tanpa memerlukan proses pemisahan yang rumit. Hal ini didukung oleh kekhususan struktur enzim memungkinkan reaksi dengan masing-masing komponen. Analisis enzimatik sangat bermanfaat dalam bidang kimia makanan dan diagnostik klinis karena dapat digunakan untuk mengukur produk metabolisme, ion

anorganik dan agen farmakologis. Metode ini juga memiliki sensitivitas tinggi, sebab dapat digunakan untuk mendeteksi senyawa pada konsentrasi yang sangat rendah (Bergmeyer, 1965).

Penelitian yang dilakukan oleh Tran *et al*., (2024), menyatakan bahwa *Curcuma zedoaria* Roxb. dengan pelarut etanol 95% dengan konsentrasi 12,5 dan 25 µg/mL menyebabkan penurunan aktivitas antitirosinase sebesar 76,39%. Pada penelitian yang akan dilakukan ini, digunakan metanol sebagai pelarut. Metanol merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan etanol, sehingga diharapkan aktivitas penghambat tirosinase sangat kuat.

Berdasarkan informasi di atas, maka penelitian yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas penghambat enzim tirosinase dari ekstrak metanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) berdasarkan nilai IC_{50}.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana aktivitas penghambat enzim tirosinase ekstrak metanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) berdasarkan nilai IC_{50}?

C. Hipotesis

Ekstrak metanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) memiliki aktivitas penghambat enzim tirosinase yang kuat.

D. Tujuan Penelitian

Mengetahui aktivitas penghambat enzim tirosinase ekstrak metanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.).

E. Manfaat Penelitian

1. Bagi Peneliti

Dapat menambah pengetahuan mengenai aktivitas penghambat enzim tirosinase dari ekstrak metanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.).

2. Bagi Perguruan Tinggi

Dapat menjadi sumber informasi untuk pengkajian lebih lanjut dalam pengujian aktivitas penghambat enzim tirosinase dari ekstrak metanol rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.).

3. Bagi Masyarakat

Dapat menambah wawasan serta informasi mengenai penggunaan rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) sebagai agen penghambat enzim tirosinase.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tumbuhan Temu Putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.)

1. Taksonomi Temu Putih

Berdasarkan hasil determinasi tumbuhan yang telah dilakukan, tumbuhan temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) diklasifikasikan sebagai berikut:

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Divisi : Tracheophyta
Kelas : Liliopsida
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : Curcuma
Spesies : *Curcuma zedoaria* Roxb.



Gambar 1. Rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.)

(Dokumentasi pribadi, 2024)

2. Morfologi Temu Putih

Temu putih atau kunyit putih merupakan tumbuhan dari keluarga Zingiberaceae yang dimanfaatkan umbi atau rimpangnya. Tumbuhan ini memiliki tinggi sekitar 2 m, berdaun tunggal, lonjong, dengan ujung runcing serta pangkal tumpul dengan tulang daun menyirip tipis (Rahmawati *et al*., 2023). Temu putih tergolong dalam tumbuhan obat yang memiliki batang berbentuk bulat berdiameter sekitar 2 cm dengan panjang ruas 17 cm berwarna ungu kehijauan, permukaan licin, tegak ke arah atas. Rimpang

bercabang-cabang dan beraroma kuat, bertunas, warna belahan daging dan bagian luar putih (Sasmaini *et al*., 2024). Rimpang temu putih memiliki bentuk yang mirip dengan temulawak tetapi bagian dalam temu putih berwarna putih kekuningan. Umumnya rimpang temu putih berukuran 2 cm dengan kulit berwarna coklat muda. Rimpang temu putih adalah rimpang *Curcuma zedoaria* Roxb., suku *Zingiberaceae*, mengandung minyak atsiri kurang dari 0,10% v/b (KemenKes RI., 2017).

3. Kandungan dan Manfaat Temu Putih

Pemanfaatan temu putih sebagai tumbuhan obat berhubungan dengan senyawa yang dikandung oleh tumbuhan tersebut. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Firmansyah dan La, (2022), temu putih positif mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Berdasarkan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam rimpang temu putih, sehingga diharapkan tumbuhan temu putih juga memiliki potensi sebagai agen penghambat enzim tirosinase.

Secara empiris, temu putih dimanfaatkan sebagai bahan dalam pembuatan jamu yang bermanfaat untuk meningkatkan kekebalan tubuh, meredakan nyeri saat haid dan meningkatkan kesehatan pencernaan. Temu putih mengandung senyawa metabolit sekunder yang terbukti memiliki aktivitas antioksidan, antibakteri, antiinflamasi dan antikanker (Sagita *et al*., 2022). Selain dimanfaatkan untuk bahan pembuatan jamu, masyarakat Indonesia juga sering memanfaatkan temu putih sebagai rempah dalam masakan. Selain rimpangnya, daun temu putih juga kerap dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam masakan untuk menambahkan cita rasa.

B. Simplisia

Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan tidak lebih dari 60^{o}C (Jayani dan Handojo, 2018). Simplisia nabati adalah

simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan (DepKes RI., 2008).

Sebelum diolah menjadi simplisia, tanaman/tumbuhan harus melalui beberapa proses meliputi sortasi basah, pencucian, perajangan, pengeringan dengan suhu tertentu (pada proses ini, umumnya menggunakan metode pengeringan dengan panas matahari selama 24 jam), sortasi kering, sampai penyimpanan. Pada proses perajangan, simplisia yang baik memiliki ketebalan sekitar 3-5 mm, jika lebih tebal maka simplisia membutuhkan waktu pengeringan yang lebih lama dan berpotensi ditumbuhi oleh mikroba atau jamur selama proses pengeringan. Syarat kadar air untuk simplisia pada umumnya yaitu tidak lebih dari 10% (KemenKes RI., 2017). Standarisasi simplisia dilakukan untuk menjaga stabilitas dan keamanan dan keamanan serta mempertahankan konsistensi kandungan senyawa aktif dalam simplisia (Evifania *et al*., 2020).

C. Ekstraksi dan Ekstrak

1. Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses penarikan senyawa aktif dari tumbuhan atau hewan yang aktif sebagai obat dari bagian yang tidak aktif atau *inert* menggunakan pelarut yang selektif dan sesuai yang dilakukan sesuai dengan prosedur ekstraksi standar, sehingga ekstrak yang diperoleh dapat dimanfaatkan sebagai obat dalam bentuk ekstrak cair atau *tingtur* atau dapat diformulasikan ke dalam bentuk lain seperti tablet atau kapsul.

Secara garis besar terdapat dua metode ekstraksi, yaitu ekstraksi cara dingin dan cara panas. Ekstraksi cara dingin meliputi maserasi dan perkolasi, ekstraksi cara panas diantaranya soxhlet, refluks, digesti, dekokta dan infusa (BPOM RI., 2023).

2. Ekstraksi Maserasi

Pada penelitian ini, metode yang digunakan untuk ekstraksi yaitu metode dingin

a. Maserasi

Maserasi adalah proses penarikan senyawa dari simplisia dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan (kamar). Pada umumnya maserasi dilakukan selama 24 jam yang terdiri dari 6 jam pengadukan dan 18 jam perendaman dan disaring yang selanjutnya dilakukan remaserasi,

Remaserasi adalah proses pengulangan maserasi yang bertujuan untuk menarik lebih banyak senyawa aktif yang terdapat di dalam simplisia yang mungkin masih tertinggal, proses remaserasi memiliki tahapan yang sama seperti maserasi yaitu terdiri dari 6 jam pengadukan dan 18 jam perendaman.

b. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Proses terdiri dari tahapan pengembangan bahan, tahap maserasi antara tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak) terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan (BPOM RI., 2023).

3. Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (DepKes RI., 2000).

Ekstrak terbagi menjadi 3 jenis yaitu ekstrak cair, ekstrak kental dan ekstrak kering.

a. Ekstrak cair

Ekstrak cair adalah ekstrak hasil penyarian simplisia dan belum mengalami proses penguapan pelarut pengekstraksi atau masih mengandung bahan pelarut dengan konsistensinya cair pada suhu kamar (BPOM RI., 2023).

b. Ekstrak kental

Ekstrak kental adalah ekstrak yang telah mengalami proses penguapan dan sudah tidak mengandung cairan pelarut lagi tetapi konsistensinya kental pada suhu kamar (BPOM RI., 2023).

c. Ekstrak kering

Ekstrak kering adalah ekstrak yang sudah dikeringkan menggunakan cara yang sesuai dengan atau tanpa bahan tambahan (BPOM RI., 2023).

D. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia adalah metode analisis kualitatif yang bertujuan untuk mengetahui senyawa yang terkandung di dalam ekstrak. Skrining fitokimia dilakukan berdasarkan reaksi uji warna dengan menggunakan pereaksi tertentu (Emilia *et al*., 2023).

1. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom N (nitrogen) yang ditemukan dalam jaringan tumbuhan dan berfungsi dalam metabolisme serta mengontrol perkembangan sistem kehidupan tumbuhan. Pada umumnya senyawa alkaloid ditemukan pada beberapa bagian tumbuhan seperti bunga, biji, daun, ranting, akar dan kulit batang. Alkaloid terbukti sebagai obat dan activator kuat bagi sel imun yang dapat menghambat perkembangan bakteri, virus, jamur dan sel kanker (Maisarah *et al*., 2023).

2. Flavonoid

Flavonoid adalah bagian dari senyawa dengan cincin aromatik dan 3 atom karbon (C) yang dapat dibedakan melalui reaksi warna yang bergantung pada gugus hidroksil fenolik serta cincin piron struktur (Vuolo *et al*., 2019). Ada lebih dari 2000 senyawa flavonoid yang berasal dari tumbuhan yang telah diidentifikasi, diantaranya senyawa antosianin, flavonol dan flavon. Antosianin adalah salah satu senyawa turunan flavonoid dan merupakan pigmen berwarna yang biasanya ditemukan pada bunga merah, ungu dan biru, serta ditemukan di beberapa bagian tumbuhan lain seperti pada batang, daun, buah, bahkan akar. Tempat sintesis flavonoid terletak di luar vakuola sel tumbuhan, tetapi sebagian besar terkait dalam vakuola (Julianto, 2019).

Flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar karena dalam rantai kimianya terdapat sejumlah gugus hidroksil (-OH) yang bersifat polar sehingga untuk mengekstraksi senyawa polar digunakan pelarut yang sifatnya polar juga, salah satunya yaitu etanol dan metanol sehingga pada penelitian ini digunakan pelarut metanol. Flavonoid termasuk dalam senyawa metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk antivirus dan antiinflamasi (Arifin dan Ibrahim, 2018).

3. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol yang larut dalam air yang berfungsi untuk melindungi tanaman dari serangga dan mikroba. Tanin merupakan senyawa yang mengandung inti polihidroksi fenol atau turunannya sehingga dapat mengikat, mengendapkan protein dan menghambat sintesa protein. Selain itu, tanin dalam bidang kesehatan memiliki aktivitas farmakologi sebagai, antidiare, antioksidan, antibakteri dan astringen (Sunani dan Hendriani, 2023).

4. Saponin

Saponin adalah senyawa glikosida kompleks dengan berat molekul rendah yang diproduksi terutama oleh tumbuhan, hewan laut tingkat rendah dan beberapa bakteri. Saponin terdapat di semua bagian tumbuhan seperti akar, batang, umbi, daun, biji dan buah. Tanaman yang rentan terhadap serangan serangga, jamur atau bakteri memiliki

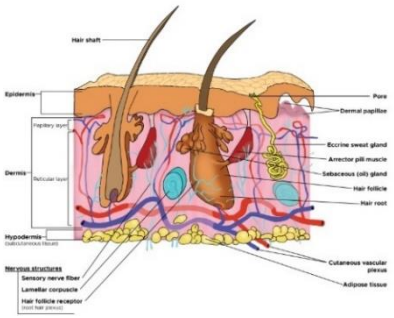
konsentrasi saponin tertinggi dalam jaringannya sehingga senyawa saponin berfungsi sebagai pertahanan bagi tumbuhan (P. A. Putri *et al*., 2023).

5. Terpenoid/ Steroid

Terpenoid adalah turunan terdehidrogenasi dan teroksidasi dari senyawa terpen yang merupakan kelompok hidrokarbon dan terutama diproduksi oleh tumbuhan serta beberapa hewan seperti serangga dengan rumus molekul terpena yaitu $(C_5H_8)n$. Steroid merupakan golongan triterpenoid yang mengandung inti siklopentana perhidrofenantrena, yang terdiri dari tiga cincin sikloheksana dan satu cincin siklopentana. Steroid sangat penting untuk menjaga keseimbangan garam, mengontrol metabolisme dan meningkatkan fungsi organ seksual dan fungsi biologis lainnya yang membedakan jenis kelamin pada tumbuhan (Nola *et al*., 2021). Steroid pada tanaman telah menunjukkan efek penurun kolesterol dan anti kanker (Nasrudin *et al*., 2017).

E. Struktur kulit

Kulit merupakan bagian terluar dari tubuh manusia yang dapat dilihat dari luar dengan mata telanjang. Kesehatan kulit sering mencerminkan keadaan atau kondisi kulit yang sehat atau terbebas dari penyakit (Mundriyastutika dan Habibah, 2022). Kulit merupakan bagian tubuh terbesar pada tubuh manusia, sebab kulit menutupi seluruh permukaan tubuh sehingga kulit merupakan bagian tubuh yang paling utama berinteraksi atau yang melakukan kontak langsung dengan benda asing.



Gambar 2. Struktur kulit (Yusuf *et al*., 2024)

Kulit terdiri dari 3 lapisan yaitu lapisan epidermis, lapisan dermis dan lapisan hipodermis.

1. Epidermis

Epidermis adalah lapisan kulit terluar, berupa epitel berlapis dengan tebal sekitar 5-100 μm; terdiri dari 4 lapisan, yaitu: stratum basal, stratum spinosum, stratum granulosum dan stratum korneum. Keratinosit dan melanosit menyusun sekitar 95% epidermis (Suryani, 2020).

2. Dermis

Dermis memiliki ketebalan sekitar 2-4 mm (Suryani, 2020). Dermis terhubung ke epidermis melalui membran dasar, yang terdiri dari dua lapisan jaringan ikat: lapisan papiler, yang lebih tipis dan terdiri dari jaringan ikat longgar yang bersentuhan dengan epidermis. Lapisan retikuler, yang lebih dalam, lebih tebal dan kurang seluler, terdiri dari jaringan ikat padat yang terdiri dari bundel serat kolagen. Kelenjar keringat, rambut, folikel rambut, otot, neuron sensorik dan pembuluh darah terletak di bawah dermis (Yusuf *et al*., 2024).

3. Hipodermis

Hipodermis atau yang kerap disebut dengan fasia subkutan, terletak di bawah dermis. Lapisan ini merupakan lapisan terdalam dari kulit dan mengandung pembuluh darah, neuron sensorik, lobulus adiposa dan sedikit pelengkap kulit, seperti folikel rambut (Yusuf *et al*., 2024).

F. Melanin

Perbedaan warna kulit pada tubuh manusia dipengaruhi oleh kadar melanin yang terdapat pada kulit. Melanin digunakan untuk menggambarkan sekelompok besar molekul yang saling terkait yang bertanggung jawab atas berbagai fungsi biologis, seperti fotoproteksi kulit dan mata serta pigmentasi kulit dan rambut (Schlessinger *et al*., 2023). Melanosom merupakan organel spesifik yang dibentuk oleh melanosit,

merupakan tempat pembentukan melanin sekaligus sebagai alat transpor melanin dari melanosit menuju keratinosit (Suryani, 2020).

Fungsi pigmen melanin antara lain yaitu sebagai pemberi warna pada kulit, sebagai substansi fotoproteksi atau tabir surya alami pada tubuh, sebagai komponen pengikat obat dan sebagai *energy transducer.* Melanin mampu mengubah beberapa bentuk energi menjadi panas dan kemudian dilepaskan (Wang *et al*., 2017).

Menurut Fitzpatrick, (1988) terdapat beberapa tipe kulit yaitu

1. TIPE 1

   Sangat sensitif, selalu terbakar, tidak pernah kecoklatan.
2. TIPE 2

   Sangat sensitif terhadap sinar matahari, mudah terbakar, sedikit sekali mengalami kecoklatan.
3. TIPE 3

   Kulit sensitif terhadap sinar matahari, kadang-kadang terbakar, perlahan-lahan menjadi coklat muda.
4. TIPE 4

   Sedikit sensitif terhadap sinar matahari, sedikit terbakar, selalu berwarna coklat sedang.
5. TIPE 5

   Kulit tidak sensitif terhadap sinar matahari, jarang terbakar, warna kulit kecoklatan dengan baik.
6. TIPE 6

   Tidak peka terhadap sinar matahari, tidak pernah terbakar, sangat berpigmen.



Gambar 3. Tipe kulit (Fitzpatrick, 1988)

G. Hiperpigmentasi

Hiperpigmentasi adalah kondisi yang menggambarkan adanya kelainan pada pigmentasi kulit yang dapat disebabkan oleh kenaikan jumlah melanin, pengaruh pada hormon, paparan sinar UV, efek samping obat-obatan dan lain-lain. Akumulasi melanin berlebihan dapat menyebabkan hiperpigmentasi kulit seperti melasma, bintik-bintik gelap dan penuaan (Kong *et al*., 2020). Hiperpigmentasi merupakan problem kulit yang dapat mengenai semua tipe kulit meskipun sering terjadi pada kulit yang berwarna lebih gelap (tipe 4 dan 5 menurut Fitzpatrick) (Manivera, 2018).

Hiperpigmentasi dapat dicegah dengan banyak cara, salah satunya dengan cara menjaga atau menghindari kulit dari paparan sinar matahari khususnya sinar UV dengan rutin menggunakan sunscreen (tabir surya), upaya lainnya yaitu dengan menghilangkan faktor penyebab hiperpigmentasi dengan menggunakan bahan-bahan yang memiliki aktivitas penghambat pembentukan melanin seperti vitamin C dan arbutin. Pencegahan pembentukan melanin dengan cara menghambat aktivitas enzim tirosinase merupakan salah satu pencegahan hiperpigmentasi (Goenka dan Toussaint, 2020).

H. Inhibisi Enzim Tirosinase

Enzim adalah protein yang bertindak sebagai biokatalisator dalam reaksi kimia atau dalam sistem metabolisme, dengan adanya enzim proses metabolisme dalam tubuh dapat berlangsung secara cepat (Prihatini dan Dewi, 2021). Tirosinase ini merupakan enzim kunci dari produksi melanin yang menjadi target mekanisme kerja dari *whitening agent*, yaitu dengan menghambat enzim tirosinase (Soyata dan Chaerunisaa, 2021). Enzim tirosinase mengkatalisis langkah pembatas laju dalam sintesis melanin dengan mengkatalisis hidroksilasi L-tirosin menjadi L-DOPA dan mengubahnya menjadi Dopaquinone (Goenka dan Toussaint, 2020).

Salah satu metode terbaru untuk mencerahkan kulit yaitu menggunakan produk yang memiliki aktivitas inhibitor tirosinase, yang memiliki kemampuan untuk

menghentikan sintesis melanin pada kulit (Rauf *et al*., 2020). Kekuatan penghambatan enzim tirosinase memiliki 4 (empat) tingkat kategori berdasarkan nilai IC_{50} yaitu paling kuat (<100 ppm), sedang (100-450 ppm), paling lemah (450-700 ppm) dan tidak memiliki aktivitas antitirosinase (>700 ppm) (Furi *et al*., 2022).

Tabel 1. Kategori Potensi Aktivitas Antitirosinase (Furi *et al*., 2022).

Kategori	**Konsentrasi (ppm)**
Kuat	<100
Sedang	100-450
Lemah	450-700
Tidak beraktivitas	>700

I. Microplate Reader

Pada pengujian inhibitor tirosinase terhadap sampel ekstrak metanol temu putih menggunakan alat *microplate reader*. *Microplate reader* yaitu suatu spektrofotometer khusus yang disusun untuk membaca lempeng mikro (*microplate*) dengan kemudahan pengujian yang tidak menggunakan jumlah sampel yang banyak dalam waktu yang singkat (Wardaniati dan Yanti, 2018).



Gambar 4. *Microplate Reader* (mrc. Laboratory Instruments, 2016)

Microplate reader memiliki prinsip kerja yang hampir sama dengan spektrofotometri. Bedanya, microplate reader dapat melakukan analisis dengan beberapa sampel sekaligus sehingga lebih cepat, memiliki teknik pengerjaan yang relatif sederhana, ekonomis dalam hal jumlah sampel yang digunakan dan cukup sensitive (Santosa, 2021).

J. IC_{50} (*Inhibitory Concentration* 50)

Aktivitas penghambatan dari sampel uji ditentukan dengan IC50 yaitu konsentrasi dimana sampel uji menghambat aktivitas tirosinase sebesar 50% (Syakri *et al*., 2020). Berdasarkan Rumondor *et al*., (2024) persentase inhibisi dihitung menggunakan rumus berikut:

$$\%inhibisi = \frac{Absorbansi\ standar - Absorbansi\ sampel}{Absorbansi\ standar} x100\%$$

Penentuan nilai IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linear. Konsentrasi sampel digambarkan dengan sumbu *x* dan persen inhibisi digambarkan dengan sumbu *y*. Persamaan $y = a + bx$ dapat dihitung nilai IC_{50} untuk menentukan aktivitas antitirosinase pada ekstrak metanol rimpang temu putih. Nilai IC_{50} diperoleh dengan cara melakukan substitusi/pergantian *y* dengan *50* dengan *b* adalah slope dan *a* adalah intersep sehingga *x* dapat diketahui.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Rancangan Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan yaitu penelitian eksperimental dengan tahapan penelitian meliputi determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia rimpang temu putih, pembuatan ekstrak metanol rimpang temu putih, skrining fitokimia dan uji aktivitas penghambat enzim tirosinase secara *in vitro* menggunakan alat *microplate reader*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi dan Kimia Analisis Farmasi Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Samarinda dan Laboratorium Pusat Unggulan Iptek Universitas Airlangga Surabaya.

B. Objek Penelitian

Objek yang diteliti adalah aktivitas penghambat enzim tirosinase dari ekstrak metanol rimpang temu putih.

C. Sampel dan Teknik Sampling

Sampel yang diteliti yaitu rimpang temu putih yang diperoleh di Desa Bangun Rejo, Kecamatan Tenggarong Seberang, Kabupaten Kutai Kartanegara. Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini yaitu menggunakan teknik *purposive sampling. Purposive sampling* adalah teknik penentuan sampel dengan pertimbangan tertentu (Sugiyono, 2013).

Pertimbangan yang dimaksud adalah rimpang dengan ciri fisik kulit rimpang berwarna kecoklatan, jika dibelah rimpang berwarna kuning dan putih kekuningan di bagian tengah. Pemanenan rimpang temu putih dilakukan pada umur 7-12 bulan setelah tanam dengan ciri-ciri tumbuhan telah tumbuh bunga dan bagian atas sampai bawah

tumbuhan telah mengering (batang dan daunnya menguning) yang menandakan bahwa tumbuhan memasuki periode senesens (Evizal, 2013). Rimpang yang telah dikumpulkan selanjutnya diolah menjadi simplisia dan dilanjutkan dengan pembuatan ekstrak kental.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas yaitu variabel yang mempengaruhi variabel terikat. Variabel bebas pada penelitian ini yaitu ekstrak metanol rimpang temu putih.
2. Variabel terikat yaitu variabel yang dipengaruhi oleh variabel bebas. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu aktivitas penghambat enzim tirosinase dari ekstrak metanol rimpang temu putih.
3. Variabel kontrol yaitu variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga pengaruh variabel bebas terhadap variabel terikat tidak dapat dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kontrol pada penelitian ini yaitu L-DOPA sebagai substrat, metanol sebagai pelarut ekstrak, asam kojat sebagai pembanding aktivitas penghambat enzim tirosinase dan *microplate* reader sebagai instrumen yang digunakan dalam pengujian aktivitas penghambat enzim tirosinase secara *in vivo*.

E. Definisi Operasional

1. Ekstrak metanol rimpang temu putih merupakan ekstrak kental yang diperoleh dari simplisia rimpang temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.) yang diekstrak dengan pelarut metanol dengan perbandingan 1:10 menggunakan metode maserasi.
2. Aktivitas penghambat enzim tirosinase adalah kemampuan enzim dalam membatasi laju sintesis melanin yang dapat menyebabkan gangguan

dermatologis seperti bintik hitam pada wajah (hiperpigmentasi) sehingga dapat mengurangi serta mengobati hiperpigmentasi.

3. Metode *Enzymatic Analysis* adalah adalah teknik analisis kimia yang menggunakan enzim sebagai katalis spesifik untuk mendeteksi, mengukur, atau menentukan konsentrasi zat dalam campuran dengan melihat hubungan antara enzim dengan substrat tertentu sehingga memungkinkan analisis yang cepat dan akurat tanpa memerlukan proses pemisahan yang rumit.
4. IC_{50} yaitu konsentrasi yang dibutuhkan sampel (ekstrak) untuk menghambat 50% aktivitas enzim tirosinase.

F. Teknik Pengumpulan Data

1. Alat dan Bahan Penelitian
   a. Alat penelitian

      Alat yang digunakan antara lain wadah, pisau, blender, ayakan 60, maserator, neraca analitik, perangkat gelas, *rotary evaporator*, spatel logam, corong kaca, perangkat labu ukur, kaca arloji, tabung reaksi, rak tabung, penjepit tabung, sendok tanduk, batang pengaduk, pipet tetes, kertas saring, aluminium foil, vial hitam, pH meter, micropipet, eppendorf, *microplate reader*.

   b. Bahan penelitian

      Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu simplisia rimpang temu putih, metanol, aquades, pereaksi *Mayer*, pereaksi *Dragendrof*, pereaksi *Bouchardat*, HCl pekat, amil alkohol, $FeCl_3$ 10%, HCl 2N, $(CH_3CO)_2O$, H_2SO_4 pekat, disodium fosfat, monosodium fosfat, DMSO dan L-DOPA, enzim tirosinase, asam kojat.

2. Prosedur Penelitian

a. Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tanaman, Fakultas MIPA, Universitas Mulawarman Samarinda.

b. Pembuatan Simplisia Temu Putih

Pembuatan simplisia terdiri dari beberapa proses

1) Pengumpulan Bahan Baku Sampel

Sampel yang digunakan adalah rimpang temu putih yang diperoleh di Desa Bangun Rejo Kecamatan Tenggarong Seberang Kabupaten Kutai Kartanegara.

2) Pembuatan simplisia

Rimpang temu putih yang telah dikumpulkan sebanyak 3 kg dicuci dengan air mengalir hingga bersih lalu ditiriskan, rimpang yang telah bersih kemudian dirajang dengan ketebalan 3-5 mm lalu disebarkan di atas wadah untuk dikeringkan. Pengeringan simplisia dilakukan dengan metode pengeringan panas matahari dan ditutupi kain hitam sampai rimpang mengering. Setelah pengeringan, dilakukan sortasi kering untuk membersihkan simplisia dari benda asing selama proses pengeringan, kemudian simplisia dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan mesh 60 untuk memperoleh serbuk simplisia yang halus.

Tujuan pembuatan serbuk simplisia adalah untuk membuat partikelnya menjadi lebih kecil, sehingga memudahkan saat dilakukan ekstraksi. Tujuan dari pengayakan adalah untuk membuat serbuk simplisia yang digunakan menjadi homogen ukurannya (Jayani dan Handojo, 2018).

c. Penetapan Susut Pengeringan Simplisia

Susut pengeringan adalah pengurangan berat bahan setelah dikeringkan dengan cara yang ditetapkan. Penetapan susut pengeringan simplisia dilakukan setelah pembuatan simplisia dengan metode gravimetri, yaitu dengan cara menimbang 1 gram simplisia dan dipanaskan pada suhu 105ºC selama 30 menit hingga diperoleh bobot tetap, pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali yang selanjutnya dihitung persentase susut pengeringan simplisia (DepKes RI., 2008).

$$Susut\ pengeringan\ simplisia\ (\%) = \frac{b-(c-a)}{b}\ x\ 100\%$$

Keterangan:

a = Bobot cawan kosong (g)
b = Bobot simplisia rimpang temu putih sebelum pemanasan (g)
c = Bobot cawan + simplisia rimpang temu putih setelah pemanasan (g)

Berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia edisi II yang diterbitkan oleh (KemenKes RI., 2017) susut pengeringan simplisia rimpang temu putih yang baik yaitu tidak lebih dari 10%, hal tersebut bertujuan untuk mencegah tumbuhnya bakteri atau jamur pada simplisia.

d. Pembuatan Ekstrak Metanol Temu Putih

Simplisia diekstraksi dengan cara maserasi dengan perbandingan 1 bagian simplisia dan 10 bagian pelarut metanol. Pada penelitian ini, simplisia temu putih diekstraksi menggunakan pelarut metanol dengan metode maserasi, dilakukan dengan penambahan metanol sebanyak 1 liter pada 100 gram serbuk simplisia temu putih (1:10) dalam wadah kaca dan dilakukan perendaman selama 24 jam (6 jam pengadukan dan 18 jam perendaman). Setelah 24 jam dilakukan penyaringan dengan kertas saring dan diuapkan dengan alat *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental (DepKes RI., 2008).

e. Penetapan Rendemen Ekstrak

Penetapan rendemen ekstrak dilakukan setelah diperoleh ekstrak kental. Perhitungan rendemen yang diperoleh yaitu persentase bobot (b/b) antara rendemen dengan bobot serbuk simplisia yang digunakan dengan penimbangan. Rendemen harus mencapai angka sekurang-kurangnya sebagaimana ditetapkan pada monografi ekstrak (DepKes RI., 2008).

$$\%Rendemen = \frac{Bobot\ ekstrak\ yang\ diperoleh}{Bobot\ simplisia\ yang\ digunakan} x100\%$$

Ekstrak kental rimpang temu putih dikatakan memiliki rendemen yang baik jika memperoleh persentase tidak kurang dari 19,0% (KemenKes RI., 2017).

f. Penetapan Kadar Air Ekstrak

Penetapan kadar air ekstrak juga dilakukan terhadap ekstrak yang diperoleh. Penentuan kadar air ekstrak dilakukan dengan metode gravimetri yaitu dengan menimbang 1 gram ekstrak metanol rimpang temu putih dan dimasukkan kedalam wadah yang telah ditara kemudian dikeringkan ekstrak pada suhu 105^{o}C selama 5 jam dan ditimbang kembali. Dilanjutkan pengeringan dan ditimbang pada selang waktu 1 jam sampai perbedaan antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25% (KemenKes RI., 2017).

$$Kadar\ air\ ekstrak\ (\%) = \frac{b - (c - a)}{b}\ x\ 100\%$$

Keterangan:

b = Bobot ekstrak metanol rimpang temu putih sebelum pemanasan (g)
a = Bobot cawan kosong (g)
c = Bobot cawan + ekstrak metanol rimpang temu putih setelah pemanasan (g)

Kadar air dalam ekstrak metanol rimpang temu putih tergolong baik jika tidak lebih dari 10% (KemenKes RI., 2017)

g. Skrining Fitokimia

Ekstrak yang telah diperoleh dilakukan uji fitokimia, uji fitokimia merupakan tahap untuk mengetahui adanya kandungan metabolit sekunder dalam sampel uji yang sebagian besar merupakan reaksi pengujian warna dengan suatu pereaksi warna (Marliani *et al*., 2021). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Supriningrum *et al*., (2019), skrining fitokimia yang dilakukan meliputi uji senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin dan triterpenoid/steroid.

Sebelum pengujian, dibuat larutan uji yang terdiri dari 1 gram ekstrak yang dilarutkan dengan 25 ml air panas (suhu antara 60-80^{o}C) kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji berikut:

1) Uji alkaloid

Uji alkaloid dilakukan menggunakan 3 pereaksi yang berbeda.

a) Pereaksi Mayer

Sebanyak 5 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi mayer dan 2-3 tetes HCl 2N. Endapan putih atau kuning yang terbentuk menandakan adanya senyawa alkaloid.

b) Pereaksi Bouchardat

Sebanyak 5 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 2-3 tetes HCl 2N serta 2 tetes pereaksi bouchardat. Endapan coklat sampai hitam yang terbentuk menandakan adanya senyawa alkaloid.

c) Pereaksi Dragendorff

Sebanyak 5 tetes filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2-3 tetes HCl 2N serta 2 tetes pereaksi

dragendorff. Endapan jingga sampai merah coklat yang terbentuk menandakan adanya senyawa alkaloid.

2) Uji flavonoid

Sebanyak 5 tetes filtrat dicampurkan dengan sedikit serbuk magnesium dalam, 1 mL HCl pekat dan 2 mL amil alkohol dalam tabung reaksi kemudian dicampur dan dibiarkan memisah. Warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya senyawa flavonoid.

3) Uji fenolik

Sebanyak 5 tetes filtrat dicampur dengan aquades sampai tidak berwarna, tambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida. Warna biru atau hijau kehitaman yang terbentuk menandakan adanya senyawa tanin.

4) Uji saponin

Sebanyak 5 tetes filtrat dicampur dengan air secukupnya kemudian dikocok selama 10 detik, adanya buih yang terbentuk dalam waktu kurang dari 1 menit dengan ukurannya antara 1-10 cm dan tidak hilang meskipun ditambahkan dengan 1 tetes HCl 2N, menunjukkan adanya senyawa saponin.

5) Uji triterpenoid/steroid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak dimaserasi dengan 10 mL n-heksan selama 1 jam lalu disaring. Filtrat diuapkan dalam cawan penguap dan sisanya ditambahkan 1-2 tetes $(CH_3CO)_2O$ dan H_2SO_4 pekat. Warna ungu atau merah menunjukkan adanya triterpenoid, warna hijau dan biru yang terbentuk menunjukkan adanya steroid.

h. Uji Aktivitas Inhibisi Tirosinase Secara *In Vitro*

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Furi *et al*., (2022). Prosedur pengujian inhibitor enzim tirosinase secara in vitro yaitu sebagai berikut

1) Pembuatan Latihan uji

a) Pembuatan larutan dapar fosfat 0,1 M pH 6,9

Pembuatan larutan dapar fosfat terdiri dari 2,84 gram di-Sodium Hydrogen Phosphate (Na_2HPO_4) dan dilarutkan dengan 100 ml aquades (larutan 1). Dilarutkan 2,72 gram Potassium Dihydrogen Phosphate (KH_2PO_4) ke dalam 100 ml aquades (larutan 2). Campurkan larutan 1 dengan larutan 2 lalu ukur pH larutan menggunakan pH meter, kemudian tambahkan dengan NaOH 1M sampai memperoleh larutan sesuai pH yang diinginkan.

b) Pembuatan larutan enzim tirosinase 250 unit/ml

Diambil 1 gram serbuk enzim tirosinase 25.000 unit dilarutkan dengan 100 ml larutan dapar fosfat sehingga diperoleh konsentrasi larutan enzim yaitu 250 unit/ml.

c) Pembuatan larutan L-DOPA 2,5 mM

Diambil 24,64 mg L-Dopa dimasukkan dalam labu ukur 50 mL, lalu ditambahkan dapar fosfat sedikit demi sedikit dan dikocok sampai homogen selama 20 menit.

d) Pembuatan larutan kontrol positif (asam kojat)

Asam kojat dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm dengan cara ditimbang asam kojat sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 10 ml larutan DMSO, kemudian larutan asam kojat diencerkan sampai konsentrasi larutan asam sama dengan larutan uji (125, 62,5, 31,25 dan 15,625 ppm).

e) Pembuatan larutan uji ekstrak metanol temu putih (*Curcuma zedoaria* Roxb.)

Ekstrak metanol temu putih ditimbang sebanyak 10 mg dan ditambahkan dengan 10 ml DMSO (dimetil sulfoksida) sehingga diperoleh konsentrasi ekstrak 1000 ppm. Larutan diencerkan menjadi konsentrasi 500, 250, 125 dan 62,5 ppm.

f) Penentuan inhibitor tirosinase

(1) Blanko (B_1) dan Blanko Kontrol (B_0)

Blanko dibuat dengan mengambil 30 µl larutan dapar fosfat dicampurkan dengan 30 µl enzim tirosinase, 20 µl substrat L-DOPA dan 20 µl larutan DMSO.

Blanko kontrol dibuat dengan prosedur yang sama dengan pengujian pada blanko, tetapi 30 µL larutan enzim tirosine digantikan dengan 30 µL larutan dapar fosfat.

(2) Sampel (S_1) dan Kontrol Sampel (S_0)

Pengujian sampel dilakukan dengan cara mengambil sampel yang telah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan (1000, 500, 250, 125, 62,5 ppm) masing-masing diambil sebanyak 20 µl kemudian dicampurkan dengan 30 µl larutan dapat fosfat, 30 µl enzim tirosinase dan 20 µl L-DOPA.

Pengujian kontrol sampel dilakukan dengan cara yang sama seperti pengujian sampel, tetapi 30 µl larutan enzim tirosine digantikan dengan 300 µl larutan dapar fosfat.

(3) Asam Kojat (A_1) dan Kontrol Asam Kojat

Pengujian kontrol positif asam kojat dilakukan dengan cara mengambil larutan asam kojat yang telah diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan (125, 62,5, 31,25,

15,625, 7,81 ppm) masing-masing diambil sebanyak 20 µl kemudian dicampurkan dengan 30 µl larutan dapar fosfat, 30 µl enzim tirosinase dan 20 µl substrat L-DOPA.

Pengujian kontrol asam kojat dilakukan dengan cara yang sama seperti pengujian sampel, tetapi 30 µl larutan enzim tirosine digantikan dengan 30 µl larutan dapar fosfat.

Penelitian ini menggunakan plate sebagai media penempatan larutan uji yang terdiri dari baris A-H yang masing-masing barisnya terdiri dari 12 kolom (berjumlah 96 sumuran). Pada kolom 1 dimasukkan 60 µL dapar fosfat, 20 µL substrat L-DOPA dan 20 µL sampel. Larutan uji ini disebut sebagai kontrol sampel (tanpa penambahan enzim tirosine pada sumuran). Pada kolom 2 sampai 6 dimasukkan 30 µL dapar fosfat, 30 µL enzim tirosine, 20 µL substrat L-DOPA dan 20 µL sampel. Setiap baris pada plate diisi dengan larutan uji yang berbeda. Larutan blanko menggunakan DMSO sebagai pengganti sampel.

Baris A : Larutan blanko
Baris B : Larutan sampel 1000 ppm
Baris C : Larutan sampel 500 ppm
Baris D : Larutan sampel 250 ppm
Baris E : Larutan sampel 125 ppm

Prosedur serupa diterapkan untuk sampel asam kojat dengan konsentrasi 125, 62,5, 31,25 dan 15,625 ppm yang ditempatkan pada kolom B sampai E pada plate. Semua sampel diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37ºC untuk memaksimalkan reaksi kemudian diukur serapannya menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 475 nm (*visible*). Pada panjang gelombang tersebut,

terlihat nilai serapan cahaya yang paling tinggi, yang menunjukkan bahwa dopakrom terbentuk dalam jumlah paling banyak.

Tabel 2. Perlakuan Sampel Uji

Bahan	**Volume (µL)**					
	B_0	**B_1**	**S_0**	**S_1**	**A_0**	**A_1**
Ekstrak metanol rimpang temu putih			20	20		
Dapar fosfat	60	30	60	30	60	30
Enzim Tirosinase		30		30		30
L-DOPA	20	20	20	20	20	20
DMSO	20	20				
Asam kojat					20	20

Keterangan : B_1 : Blanko
B_0 : Kontrol Blanko
S_1 : Sampel (1000, 500, 250, 125 ppm)
S_0 : Kontrol Sampel
A_1 : Asam Kojat (125, 62,5, 31,25, 15,625 ppm)
A_0 : Kontrol Asam Kojat

Penghambat aktivitas tirosinase ekstrak metanol rimpang temu putih diukur dari absorbansi yang dihasilkan dan dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\boldsymbol{I = \frac{blanko - sampel}{blanko}\, x\, 100\%}$$

Penentuan penghambat aktivitas tirosinase asam kojat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

$$\boldsymbol{I = \frac{blanko - asam\ kojat}{blanko}\, x\, 100\%}$$

g) Penentuan Nilai IC_{50}

Aktivitas antitirosinase dari sampel uji ditentukan dengan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi larutan sampel yang dapat menghambat 50% aktivitas tirosinase. Konsentrasi sampel dan persen inhibisi yang diperoleh dihitung menggunakan persamaan regresi linier. IC_{50} dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, log konsentrasi sampel sebagai sumbu *x* dan probit % inhibisi sebagai sumbu *y*, dari persamaan $y = bx \pm a$ dapat dihitung nilai IC_{50} (Syakri, *et al*., 2020).

$$y = bx \pm a$$

Keterangan:

y : Persen inhibisi (%)
x : Konsentrasi (µg/ml)
b : Slope
a : Intersep

Nilai IC_{50} diperoleh dengan cara melakukan substitusi *y* dengan 50, dengan *b* adalah slope dan *a* adalah intersep, sehingga *x* dapat diketahui.

G. Analisis Data

Data yang diperoleh berupa data kualitatif dan kuantitatif yang dianalisis secara deskriptif, disajikan dalam bentuk narasi, tabel dan grafik. Data kualitatif diperoleh dari hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak metanol rimpang temu putih. Data kuantitatif diperoleh dengan mengukur aktivitas enzim berdasarkan hasil absorbansi. Dikatakan sampel memiliki aktivitas penghambat enzim tirosinase jika terjadi penghambatan dalam produksi melanin.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan bertujuan untuk mengetahui jenis tumbuhan yang akan diteliti serta untuk memastikan bahwa tumbuhan tersebut telah sesuai dan meminimalisir kesalahan dalam pengumpulan sampel penelitian, selain itu determinasi tumbuhan juga bertujuan untuk mengetahui klasifikasi tumbuhan secara spesifik. Determinasi tumbuhan rimpang temu putih dilakukan di Laboratorium Anatomi dan Sistematika Tanaman, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Mulawarman Samarinda Kalimantan Timur. Hasil dari determinasi yaitu rimpang temu putih termasuk dalam famili *Zingiberaceae* yang memiliki nama ilmiah *Curcuma zedoaria* Roxb. Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 2.

B. Pembuatan Simplisia dan Penetapan Susut Pengeringan Simplisia

Rimpang temu putih diperoleh dari perkebunan warga yang berada di Desa Bangun Rejo Kecamatan Tenggarong Seberang Kabupaten Kutai Kartanegara Kalimantan Timur. Bagian tanaman yang digunakan yaitu rimpang dengan berat 3 kg yang telah dicuci bersih dan dirajang tipis menggunakan pisau dengan ketebalan antara 3-5 mm, perlakuan ini bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan simplisia. Pengeringan simplisia dilakukan dengan metode pengeringan alami dengan memanfaatkan panas matahari yang dilapisi kain hitam selama 3 hari. Perlakuan tambahan dengan kain hitam saat proses pengeringan sinar matahari bertujuan untuk mempercepat proses pengeringan. Hal ini dikarenakan kain hitam dapat menyerap panas dengan baik sehingga dapat memperlambat oksidasi dan meminimalisir adanya kontaminasi seperti debu (Sartini *et al*., 2017).

Simplisia yang telah kering kemudian dilakukan sortasi kering, tahapan ini bertujuan untuk memisahkan simplisia dari pengotor selama proses pengeringan

dilakukan, setelah itu simplisia dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan mesh 40. Tujuan dari pembuatan serbuk adalah untuk menghasilkan partikel yang lebih halus dan memperluas permukaan simplisia agar lebih mudah saat proses ekstraksi dilakukan, sementara itu tujuan dari pengayakan adalah untuk menyeragamkan ukuran serbuk simplisia (Jayani dan Handojo, 2018).

Penetapan susut pengeringan simplisia dilakukan setelah memperoleh serbuk simplisia, proses ini bertujuan untuk menetapkan batas maksimum (rentang) jumlah senyawa yang dapat hilang selama proses pengeringan (Sinaga *et al*., 2024). Hasil penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil Penetapan Susut Pengeringan Simplisia Rimpang Temu Putih

Sampel	**Replikasi (%)**			**Rata-rata (%)**
	1	**2**	**3**	
Simplisia Rimpang Temu Putih	10,70	11,10	10,20	10,67 ± 0,45

Susut pengeringan simplisia rimpang temu putih yang baik menurut KemenKes RI. (2017) yaitu tidak lebih dari 10%. Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan memperoleh nilai rata-rata susut pengeringan sebesar 10,67% yang melebihi batas maksimal yang telah ditetapkan. Tingginya nilai susut pengeringan disebabkan oleh beberapa faktor, seperti lamanya waktu penyimpanan simplisia, kondisi tempat penyimpanan yang tidak memadai serta proses pengeringan simplisia yang tidak optimal sehingga diperoleh nilai susut pengeringan yang tidak sesuai dengan persyaratan (Firdaus *et al*., 2023).

C. Ekstraksi Rimpang Temu Putih

Proses ekstraksi rimpang temu putih dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol. Metode maserasi digunakan sebab terdapat beberapa senyawa yang bersifat tidak stabil dalam pemanasan khususnya senyawa flavonoid yang rusak pada suhu >60^{o}C, selain itu waktu kontak yang lebih lama antara simplisia

dan pelarut memungkinkan proses penarikan senyawa aktif lebih optimal sebab pada proses maserasi terjadi perendaman selama 24 jam (Marliani *et al*., 2021).

Ekstraksi dilakukan dengan merendam 100 gram serbuk simplisia rimpang temu putih dengan metanol sebanyak 1 liter yang pada prosesnya terjadi pengadukan selama 6 jam lalu didiamkan selama 18 jam dan disaring menggunakan kertas saring sehingga filtrat dan ampas terpisah, yang kemudian ampas tersebut di remaserasi. Metanol termasuk dalam golongan alkohol yang paling sederhana (Daryono *et al*., 2022). Metanol merupakan pelarut organik yang dapat menarik senyawa-senyawa aktif yang bersifat polar seperti flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid (Verdiana *et al*., 2018). Pelarut metanol memiliki konstanta dielektrik yang lebih tinggi dibandingkan pelarut etanol, yakni sebesar 33,640 untuk metanol dan 25,16 untuk etanol. Konstanta dielektrik yang tinggi menunjukkan tingkat polaritas pelarut yang lebih besar, sehingga metanol merupakan pelarut yang lebih polar dibandingkan etanol (Putri *et al*., 2023).

Filtrat maserasi dan remaserasi digabungkan dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* yang dilengkapi dengan *vacuum pump* kemudian diuapkan kembali diatas *waterbath* pada suhu 60^{o}C hingga diperoleh ekstrak kental dengan ciri ekstrak berwarna coklat tua. Suhu ekstraksi sebaiknya tidak jauh berbeda dengan titik didih pelarut, metanol memiliki titik didih sebesar 64,7^{o}C, titik didih tersebut lebih rendah dibandingkan pelarut etanol yaitu 78^{o}C sehingga penguapan ekstrak dengan suhu 60^{o}C diharapkan dapat menguapkan seluruh pelarut yang terkandung pada ekstrak (Komala dan Husni, 2021).

Tujuan dilakukan penguapan pelarut adalah untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga diperoleh ekstrak kental (Makalunsenge *et al*., 2022). Dilakukan perhitungan rendemen ekstrak rimpang temu putih dengan hasil yang tertera pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Rendemen Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

Sampel	Rendemen (%)
Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih	9,92

Berdasarkan KemenKes RI. (2017) rendemen ekstrak kental rimpang temu putih yang baik yaitu tidak kurang dari 19% yang menandakan bahwa nilai tersebut tidak memenuhi syarat (<19%). Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Putri *et al*. (2023) dan Saridewi *et al*. (2018) ekstrak metanol rimpang temu putih dengan perbandingan 1:10 memperoleh rendemen ekstrak kurang dari 19%. Beberapa faktor yang mempengaruhi hasil rendemen adalah metode ekstraksi, pemilihan jenis pelarut, suhu dan lamanya waktu ekstraksi, ukuran partikel simplisia serta perbandingan antara jumlah simplisia dan pelarut yang digunakan (Kusuma dan Aprileili, 2022). Rimpang temu putih yang digunakan pada penelitian ini tidak termasuk dalam tanaman budidaya sehingga umur tanaman tidak ukur dengan teliti. Umur panen dapat mempengaruhi kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam tanaman, variasi umur panen tersebut berpotensi menyebabkan perubahan pada profil metabolik maupun profil fitokimia yang terkandung pada tanaman (BPOM RI., 2023).

D. Penetapan Kadar Air Ekstrak

Pada ekstrak kental metanol rimpang temu putih dilakukan penetapan kadar air ekstrak dengan tujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang besarnya kandungan air pada ekstrak (BPOM RI., 2023). Penetapan kadar air dilakukan dengan metode gravimetri yaitu dengan menimbang 0,5 gram ekstrak dan panaskan pada suhu 105^{o}C hingga memperoleh bobot yang konstan, hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Penetapan Kadar Air Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

Sampel	**Replikasi (%)**			**Rata-rata (%)**
	1	**2**	**3**	
Ekstrak Metanol Temu Putih	9,40	15,40	14,00	12,93 ± 3,13

Berdasarkan KemenKes RI. (2017) kadar air pada ekstrak kental rimpang temu putih yang baik yaitu tidak lebih dari 14%. Hasil penetapan kadar air ekstrak metanol rimpang temu putih menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memenuhi syarat kadar air

yang baik serta ekstrak termasuk dalam kategori ekstrak kental. Ekstrak cair merupakan hasil ekstraksi yang masih berbentuk cair dan dapat dituangkan serta kandungan airnya >30%. Ekstrak kental merupakan ekstrak yang memiliki kandungan air berkisar antara 5-30%. Ekstrak kering memiliki kadar air <5% (Anggraini dan Khabibi, 2022).

E. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan uji yang bertujuan untuk mengetahui secara kualitatif keberadaan senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Uji ini dilakukan dengan mengamati perubahan warna yang terjadi akibat reaksi antara sampel (ekstrak) dengan reagen tertentu (Emilia *et al*., 2023). Skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak metanol rimpang temu putih dalam penelitian ini meliputi pengujian terhadap golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik (tanin), saponin, serta steroid/terpenoid.

Tabel 6. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

Senyawa	Pereaksi	Hasil Reaksi	Hasil
Alkaloid	Mayer	Endapan putih/kuning	(+)
	Dragendorf	Endapan merah bata	(-)
	Bouchardat	Endapan hitam	(+)
Flavonoid	Serbuk Mg + HCl pekat + amil alkohol	Terbentuk warna kuning pada lapisan amil alkohol	(+)
Fenolik (tanin)	$FeCl_3$ 10%	Terbentuk warna biru kehitaman	(+)
Saponin	Sampel + aquades dikocok kuat + HCl 2N	Terbentuk busa 1-10 cm yang tidak hilang	(+)
Terpenoid	n-Heksan + $(CH_3CO)_2O$ + H_2SO_4 (p)	Terbentuk warna ungu atau merah	(+)

Keterangan:
(-) = negatif mengandung senyawa
(+) = positif mengandung senyawa

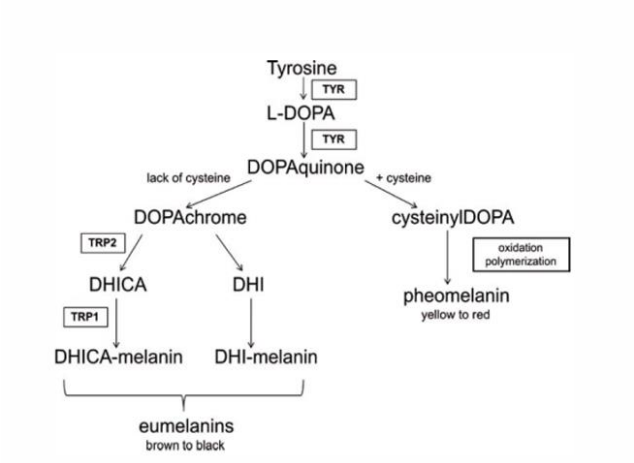
Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak metanol rimpang temu putih menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenolik (tanin), saponin dan terpenoid. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Rahmawati *et al*. (2023) yang menyatakan bahwa ekstrak rimpang temu putih positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid.

Uji senyawa alkaloid dilakukan menggunakan 3 jenis pereaksi yaitu mayer, dragendorff dan bouchardat. Suatu ekstrak dikatakan positif mengandung alkaloid apabila terbentuk endapan paling sedikit dua dari tiga uji yang dilakukan (DepKes RI., 1995). Pada penelitian yang dilakukan, terbentuk endapan pada pereaksi mayer dan bouchardat sehingga ekstrak positif senyawa alkaloid. Uji flavonoid, suatu ekstrak dikatakan positif mengandung flavonoid apabila terbentuk lapisan amil alkohol berwarna merah, oranye atau hijau tergantung struktur flavonoid pada ekstrak tersebut (Emilia *et al*., 2023). Pada ekstrak rimpang temu putih yang diuji, terbentuk lapisan amil alkohol berwarna kuning yang menandakan ekstrak positif mengandung senyawa flavonoid. Pengujian fenolik (tanin) dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan dengan $FeCl_3$ 10% sehingga membentuk warna biru-hitam yang menunjukkan ekstrak positif mengandung tanin terhidrolisis yaitu senyawa ester dari gula sederhana dengan satu atau lebih polifenol asam karboksilat, mudah mengalami hidrolisis dengan asam, basa atau enzim (Soenardjo dan Supriyantini, 2017). Senyawa saponin positif terkandung dalam ekstrak yang ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil tidak hilang selama 10 menit dan senyawa terpenoid positif terkandung dalam ekstrak yang menunjukkan warna ungu kemerahan pada dinding cawan.

F. Uji Aktivitas Penghambat EnzimTirosine Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

Penghambat enzim tirosinase merupakah salah satu upaya dalam mencegah hiperpigmentasi kulit sebab enzim tirosinase berperan dalam mengkatalis pembentukan melanin pada kulit atau yang disebut dengan melanogenesis. Pada proses melanogenesis, enzim tirosinase mengatur pembentukan melanin dengan mengubah L-

tirosine menjadi L-DOPA melalui reaksi hidroksilasi, kemudian mengoksidasi L-DOPA menjadi dopaquinon. Selanjutnya, dopaqionon akan mengalami reaksi auto-oksidasi menjadi dopakrome yang kemudian akan berubah bentuk menjadi *dihydroxy-indole* (DHI) atau *dihydroxy-indole-carboxylic acid* (DHICA) sebagai prekursor dalam pembentukan melanin (Furi *et al*., 2022).



Gambar 5 Proses Pembentukan Melanin (Soyata dan Chaerunisaa, 2021)

Pengujian penghambat tirosinase dilakukan menggunakan metode analisis enzimatis menggunakan alat *microplate reader*. Metode ini dipilih karena bersifat sederhana, hemat biaya, memiliki tingkat sensitivitas yang tinggi, serta hanya memerlukan volume sampel yang sedikit (Syakri *et al*., 2020). Prinsip kerja metode ini serupa dengan cara kerja spektrofotometri UV-Vis yaitu dengan cara membaca nilai absorbansi cahaya yang dipancarkan pada panjang gelombang tertentu dari suatu sampel yang di analisis (Abriyani *et al*., 2022). Pengujian dilakukan terhadap ekstrak metanol rimpang temu putih dengan L-DOPA sebagai substrat dan asam kojat sebagai kontrol positif. Berdasarkan Kai et al. (2018) substrat L-DOPA merupakan substrat yang lebih kompeten dibandingkan L-tirosine dalam uji tirosinase karena mampu menghasilkan bercak yang lebih gelap setelah bereaksi selama 10 menit dengan enzim tirosine dibandingkan substrat L-tirosine. Asam kojat merupakan inhibitor tirosinase yang memiliki efektivitas penghambat enzim tirosine yang sangat kuat dan kestabilan

yang sangat baik serta kerap diformulasikan dalam kosmetik sebagai agen pencerah kulit (Rauf *et al*., 2020).

Tahapan uji diawali dengan pembuatan larutan induk ekstrak metanol rimpang temu putih pada konsentrasi 1000 ppm yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi 500, 250 dan 125 ppm, dilanjutkan dengan pembuatan larutan induk asam kojat pada konsentrasi 1000 ppm yang diencerkan menjadi konsentrasi 125, 62,5, 31,25 dan 15,625 ppm. Pembacaan absorbansi dilakukan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 475 nm, sehingga diperoleh hasil sebagai berikut.

Tabel 7. Nilai IC_{50} Aktivitas Penghambat Enzim Tirosinase

Sampel	**IC_{50} (ppm)**	**Rata-rata IC_{50} (ppm)**	**Kategori IC_{50}**
Asam Kojat	125	12,495 ± 1,65	Kuat
	62,5		
	31,25		
	15,625		
Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih	1000	296,076 ± 24,27	Sedang
	500		
	250		
	125		

Berdasarkan nilai IC_{50} yang diperoleh, ekstrak metanol rimpang temu putih menunjukkan aktivitas sedang dalam menghambat aktivitas enzim tirosine dengan nilai IC_{50} sebesar 296,076 ± 24,27 ppm. Pada penelitian sebelumnya, rimpang temu putih dilaporkan memiliki aktivitas penghambat enzim tirosinase yang kuat. Perbedaan hasil ini disebabkan oleh beberapa faktor, salah satunya adalah perbedaan daerah tumbuh dibandingkan dengan penelitian terdahulu, selain itu rimpang temu putih yang digunakan pada penelitian ini berasal dari tanaman liar yang tumbuh secara alami dan tidak termasuk sebagai tanaman budidaya, perbedaan tersebut berpengaruh terhadap kandungan kimia atau kandungan aktif serta profil senyawa bioaktif dalam tanaman tersebut (BPOM RI., 2023).

Asam kojat yang digunakan sebagai pembanding menunjukkan aktivitas sangat kuat dalam menghambat aktivitas enzim tirosine dengan nilai IC_{50} sebesar 12,495 ± 1,65 ppm. Nilai tersebut diperoleh dari hasil perhitungan nilai absorbansi yang dilakukan tiga kali (triplo) untuk setiap konsentrasi. Nilai IC_{50} asam kojat yang jauh lebih rendah menunjukkan aktivitas yang lebih tinggi sebagai penghambat enzim tirosinase dibandingkan dengan ekstrak metanol rimpang temu putih.

BAB V

PENUTUP

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol rimpang temu putih (*Curcuma* zedoaria Roxb.) memiliki aktivitas penghambat enzim tirosine dengan nilai IC_{50} sebesar 296,076 ± 24,27 ppm termasuk dalam kategori sedang. Nilai IC_{50} tersebut memiliki perbedaan nilai yang cukup signifikan terhadap nilai IC_{50} asam kojat yang digunakan sebagai kontrol positif yaitu sebesar 12,495 ± 1,65 ppm.

B. Saran

1. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk membandingkan aktivitas penghambatan enzim tirosine terhadap rimpang temu putih hasil budidaya dengan tanaman liar guna mengetahui pengaruh lingkungan tumbuh terhadap kandungan senyawa bioaktif dan efektivitas penghambatan enzim tirosinase.
2. Disarankan kepada peneliti selanjutnya untuk melakukan pengujian lebih lanjut terkait aktivitas penghambat enzim tirosin dengan pelarut yang berbeda serta metode ekstraksi yang berbeda untuk mengetahui perbedaan aktivitas penghambat tirosinase pada rimpang temu putih.
3. Diharapkan penelitian terkait rimpang temu putih dikembangkan menjadi formulasi sediaan topikal sebagai agen pencerah kulit.

DAFTAR PUSTAKA

Abriyani, E., Putri, N. S., Rosidah, R. S. N., dan Ismanita, S. S., 2022. Analisis Kafein Menggunakan Metode Uv-Vis: Tinjauan Literatur. *Jurnal Pendidikan Dan Konseling*, *4*(6), 12732–12739.

Anggraini, R., dan Khabibi, J., 2022. Karakterisasi Ekstrak Serbuk Gergajian Kayu Tembesi (Fagraea fragrans), Rengas (Gluta renghas) dan Medang (Litsea Sp.) Sebagai Larvasida Lalat Rumah (Musca domestica). *Jurnal Tengkawang*, *12*(1), 86–93.

Arifin, B., dan Ibrahim, S., 2018. Struktur, Bioaktivitas daan Antioksidan Flavonoid. *Jurnal Zarah*, *6*(1), 21–29.

Bergmeyer, H.-U., 1965. *Methods of Enzymatic Analysis (Second Printing, Revised)* (2nd ed.). Verlag Chemie.

BPOM RI., 2023. *Pedoman Penyiapan Bahan Baku Obat Bahan Alam Berbasis Ekstrak/ Fraksi Cetakan Pertama* (1nd ed.). Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.

Cintya, H., Chan, M. A., Purba, A., Kokita, T., Destinyie, F., dan Bernardi, W., 2021. Isolasi Kurkumin dari Kunyit Putih dengan Menggunakan Metode Maserasi dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). *Jurnal Pro-Life*, *8*(3), 205–217.

Daryono, E. D., Rahman, F. F. A., dan Zukhriyah., 2022. Penggunaan Metanol Sisa Reaksi Sebagai Reaktan Pada Proses Transesterifikasi Minyak Kelapa Sawit Menjadi Biodisel. *Jurnal Teknologi*, *14*(2), 155–162.

DepKes RI., 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV* (IV). Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

DepKes RI., 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama* (1nd ed.). Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

DepKes RI., 2008. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I* (1nd ed.). Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

El-Nashar, H. A. S., El-Din, M. I. G., Hritcu, L., dan Eldahshan, O. A., 2021. Insights on the Inhibitory Power of Flavonoids on Tyrosinase. *Molecules*, *26*(24), 1–22.

Emilia, I., Setiawan, A. A., Novianti, D., Mutiara, D., dan Rangga., 2023. Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sungkai (Peronema canescens Jack.) Secara Infundasi dan Maserasi. *Jurnal Indobiosains*, *5*(2), 95–102.

Evifania, R. D., Apridamayanti, P., dan Sari, R., 2020. Uji parameter spesifik dan nonspesifik simplisia daun senggani (Melastoma malabathricum L.). *Jurnal Cerebellum*, *6*(1), 17–20.

Evizal, R., 2013. *Tanaman Rempah dan Fitofarmaka* (1st ed.). Lembaga Penelitian Universitas Lampung.

Firdaus, N. L., Patricia, V. M., dan Sadiyah, E. R., 2023. Karakterisasi dan Pengujian Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Kombucha Bunga Telang (Clitoria ternatea L.). *Bandung Conference Series: Pharmacy*, *3*(2), 585–590.

Firmansyah, T., dan La, E. O. J., 2022. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit Putih Curcuma zedoaria (Christm.) Roscoe. *Acta Holistica Pharmaciana*, *4*(1), 20–24.

Fitzpatrick., T. B., 1988. The Validity and Practicality of Sun-Reactive Skin Types I Through VI. *Arch Dermatol*, *124*(6), 71–869.

Furi, M., Alfatma, A., Dona, R., Fernando, A., Aryani, F., dan Utami, R., 2022. Uji Inhibitor Enzim Tirosinase Ekstrak dan Fraksi Daun Kedabu (Sonneratia ovata Backer) Secara In-Vitro. *Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi Dan Kesehatan*, *8*(2), 201–214.

Goenka, S., dan Toussaint, J., 2020. Citrate-Coated Platinum Nanoparticles Exhibit a Primary Particle-Size Dependent Effect on Stimulating Melanogenesis in Human Melanocytes. *Cosmetics*, *7*(4), 88.

Himawan, H. C., Padua, A., dan Miani, M., 2016. Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, *1*(2), 63–69.

Jayani, N. I. E., dan Handojo, H. O., 2018. Standarisasi Simplisia Daun Tempuyung (Sonichi folium) Hasil Budaya di Ubaya Trainning Center Trawas Mojokerto. *Journal of Pharmacy Science and Technology*, *1*(1), 68–79.

Julianto, T. S., 2019. *Fitokimia: Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia* (1nd ed.). Universitas Islam Indonesia.

Kai, D. H., Yu, H. C., Hong, J. C., Shi, P. L., dan Kuan, C. C., 2018. Tyrosinase-based TLC Autography for anti-melanogenic drug screening. *Scientific Reports*, *8*(401), 1–10.

KemenKes RI., 2017. *Farmakope Herbal Indonesia Edisi II* (2nd ed.). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.

Komala, P. T. H., dan Husni, A., 2021. Pengaruh Suhu Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanolik Eucheuma spinosum. *JPHPI*, *24*(1), 1–10.

Kong, S., Choi, H. R., Kim, Y. J., Lee, Y. S., Park, K. C., dan Kwak, S. Y., 2020. Milk Protein-Derived Antioxidant Tetrapeptides as Potential Hypopigmenting Agents. *Antioxidants*, *9*(10), 1106.

Kusuma, A. E., dan Aprileili, D. A., 2022. Pengaruh Jumlah Pelarut Terhadap Rendemen Ekstrak Daun Katuk (Sauropus androgynus L. Merr). *Jurnal Farmasi Sains Dan Obat Tradisional*, *1*(2), 125–135.

Maisarah, M., Chatri, M., Advinda, L., dan Violita, 2023. Karakteristik dan Fungsi Senyawa Alkaloid sebagai Antifungi pada Tumbuhan. *Serambi: Biologi*, *8*(2), 231–236.

Makalunsenge, M. O., Yudistira, A., dan Rumondor, E. M., 2022. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Dari Callyspongia aerizusa yang Diperoleh Dari Pulau Manado Tua. *Pharmacon*, *11*(4), 1679–1684.

Manivera, P., 2018. Hiperpigmentasi Kulit. *Staf Pengajar Jurusan Kesejahteraan Keluarga Fakultas Teknik Universitas Negeri Padang*.

Marliani, L., Anandari, Y., dan Budiana, W., 2017. Pengaruh Pelarut, Waktu dan Suhu Ekstraksi Terhadap Kandungan Senyawa Flavanoid dan Kurkuminoid Kestrak Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoaria Christm.). *Jurnal Farmasi Galenika*, *4*(Edisi Khusus SemNas TOI), 35–39.

Marliani, L., Sukmawati, I. K., Juanda, D., Anjani, E., dan Anggraen, I., 2021. Penapisan Fitokimia, KadarKurkuminoid dan Aktivitas Antibakteri Temu Hitam (Curcuma aeruginosa (Christm) Roscoe.), Temu Putih (Curcuma zedoaria Roxb.) dan Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb.). *Herb-Medicine Journal*, *4*(1), 57–64.

mrc. Laboratory Instruments., 2016. *Microplate Reader*. Mrc. Laboratory Instruments.

Mundriyastutika, Y., dan Habibah, I. A., 2022. Hubungan Tingkat Pengetahuan dan Sikap Pemilihan Krim Pelembab Wajah Terhadap Kesehatan Kulit Remaja Putih. *Indoneisa Jurnal Farmasi*, *7*(1).

Nasrudin, Wahyono, Mustofa, dan Susidarti, R. A., 2017. Isolasi Senyawa Steroid dari Kulit Akar Senggugu (Clerodendrum serratum L.Moon). *Pharmacon: Jurnal Ilmiah Farmasi*, *6*(3), 332–340.

Ningsih, I. S., Chatri, M., dan Advinda, L., 2023. Flavanoid Active Compounds Found In Plants: Senyawa Aktif Flavanoid yang Terdapat Pada Tumbuhan. *Serambi Biologi*, *8*(2).

Noer, S., Pratiwi, R. D., dan Gresinta, E., 2018. Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggu (Ruta angustifolia L.). *Eksakta: Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*, *18*(1).

Nola, F., Putri, G. K., Malik, L. H., dan Andriani, N., 2021. Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Steroid dan Terpenoid dari 5 Tanaman. *Syntax Idea*, *3*(7), 1612–1619.

Obaid, R. J., Mughal, E. U., dan Naeem, N., 2021. Natural and synthetic flavonoid derivatives as new potential tyrosinase inhibitors: a systematic review. *Royal Society of Chemistry*, *11*(1), 22159–22198.

Petrillo, A. Di, González-Paramás, A. M., Era, B., Medda, R., Pintus, F., Santos-Buelga, C., dan Fais, A., 2016. Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of Asphodelus microcarpus extracts. *National Library of Medicine: National Center for Biotechnology Information*, 453.

Prihatini, I., dan Dewi, R. K., 2021. Kandungan Enzim Papain pada Pepaya (Carica papaya L) Terhadap Metabolisme Tubuh. *Jurnal Tadris IPA Indonesia*, *1*(3), 449–558.

Putri, J. Y., Nastiti, K., dan Hidayah, N., 2023. Pengaruh Pelarut Etanol 70% dan Metanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Ekstrak Daun Sirsak (Annona muricata Linn.). *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*, *3*(2), 20–29.

Putri, P. A., Chatri, M., Advinda, L., dan Violita, 2023. Karakteristik Saponin Senyawa Metabolit Sekunder pada Tumbuhan. *Serambi: Biologi*, *8*(2), 251–258.

Rahmawati, Y., Ningsih, A. W., Rahmawati, Y., Agustin, F., A., S. R., Ariyani, E., dan D., R. A. R., 2023. Review Artikel: Studi Fitokimia dan Farmakologi Temu Putih (Curcuma zedoaria). *Journal Of Pharmacy Science and Technology*, *4*(1), 9–16.

Rauf, A., Ningsi, S., Hasriani, A., dan Mukhriani, 2020. Aktivitas Penghambat Enzim Tirosinase Ekstrak Metanol Klika Anak Dara (Croton oblongus Burm F.). *Jurnal Kesehatan*, *1*(1), 17–24.

Rumondor, E. M., Yudistira, A., Wewengkang, D. S., South, E. J., Rotinsulu, H., Tumundo, B. T., dan Kindangen, E. E., 2024. Penentuan nilai IC50 Karang Lunak Lobophytum sp. dan Sarcophyton sp. dari Perairan Pantai Parentek Kabupaten Minahasa. *Pharmacy Medical Journal*, *7*(2), 78–83.

Sagita, N. D., Sopyan, I., dan Hadisaputri, Y. E., 2022. Kunir Putih (Curcuma zedoaria Rocs.): Formulasi, Kandungan Kimia dan Aktivitas Biologi. *Majalah Farmasetika*, *7*(3), 189–205.

Santosa, B., 2021. *TEKNIK ELISA: Metode Elisa Untuk Pengukuran Protein Metallothionein Pada Daun Padi Ir Bagendit* (1nd ed.). Unimus Press.

Saridewi, A. I., Bogoriani, N. W., dan Suarya, P., 2018. Aktivitas Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih (Curcuma zedoaria Rosc.) Sebagai Hipolipidemia Pada Tikus Wistar Putih Obesitas dengan Diet Tinggi Kolesterol. *Jurnal Kimia*, *12*(2), 140–146.

Sartini, Asri, R. M., dan Ismail, 2017. Pengaruh Pra Perlakuan Sebelum Pengeringan Sinar Matahari dari Kulit Buah Kakao Terhadap Kadar Komponen Fenolik dalam Ekstrak. *Bioma: Jurnal Biologi Makassar*, *2*(1), 15–20.

Sasmaini, D., Lestari, W., Hapida, Y., ’Aini, K., dan Nurokhman, A., 2024. Identification of the Zingiberaceae Family in Banuayu Village, South Kikim District, Lahat Regency, South Sumatra. *Jurnal Biologi Tropis*, *24*(2), 664–674.

Schlessinger, D. I., Anoruo, M., dan Schlessinger, J., 2023. Biochemistry: Melanin. *National Library of Meficine: National Center for Biotechnology Information*.

Sinaga, B., Sondak, E. S., dan NIngsih, A. W., 2024. Pengaruh Metode Pengeringan Terhadap Kualitas Simplisia Daun Jambu Biji Merah (Psidium guajava L.). *Prosiding*, *1*(1), 111–120.

Soenardjo, N., dan Supriyantini, E., 2017. Analisis Kadar Tanin Dalam Buah Mangrove Avicennia marina dengan Perebusan dan Lama Perendaman Air yang Berbeda. *Jurnal Kelautan Tropis*, *20*(2), 90–95.

Soyata, A., dan Chaerunisaa, A. Y., 2021. Whitening Agent: Mekanisme, Sumber Dari Alam dan Teknologi Formulasinya. *Majalah Farmasetika*, *6*(2), 169–186.

Sugiyono, 2013. *Metode Penelitian Kuantitatif Kualitatif dan R*dan*D* (1nd ed.). Penerbit Alfabeta Bandung.

Sunani, dan Hendriani, R., 2023. Review Article: Classification and Pharmacological Activities of Bioactive Tannins. *Indonesian Journal of Biological Pharmacy*, *3*(2), 130–136.

Supriningrum, R., Fatimah, N., dan Purwanti, Y. E., 2019. Karakterisasi Spesifik dan Non Spesifik Ekstrak Etanol Daun Putat (Planchonia valida). *Al Ulum Sains Dan Teknologi*, *5*(1), 6–12.

Suryani, A., 2020. Faktor-Faktor yang Memengaruhi Pigmentasi Manusia. *CDK-290*, *47*(9), 682–685.

Syakri, S., Khaerani, dan Hasrawati, 2020. Pengujian Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Ekstrak N-Heksan dari Umbi Wortel (Daucus carrota L.). *Jurnal Farmasi: Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar*, *8*(2), 1–8.

Tran, T. Van, Luong, H.-K. Q., Le, L. T., dkk., 2024. Melanogenesis Inhibition Activity of Ethyl Acetate Fraction from Curcuma zedoaria in B16 Cell Line. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *60*(1), 1–9.

Verdiana, M., Widarta, I. W. R., dan Permana, I. D. G. M., 2018. Pengaruh Jenis Pelarut Pada Ekstraksi Menggunakan Gelombang Ultrasonik Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Buah Lemon (Citrus limon (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmudan Teknologi Pangan*, *7*(4), 213–222.

Vuolo, M. M., Lima, V. S., dan Marostica, M. R., 2019. Chapter 2 Phenolic Compounds, Structure, Classification, and Antioxidant Power. *Bioactive Compounds*, 33–50.

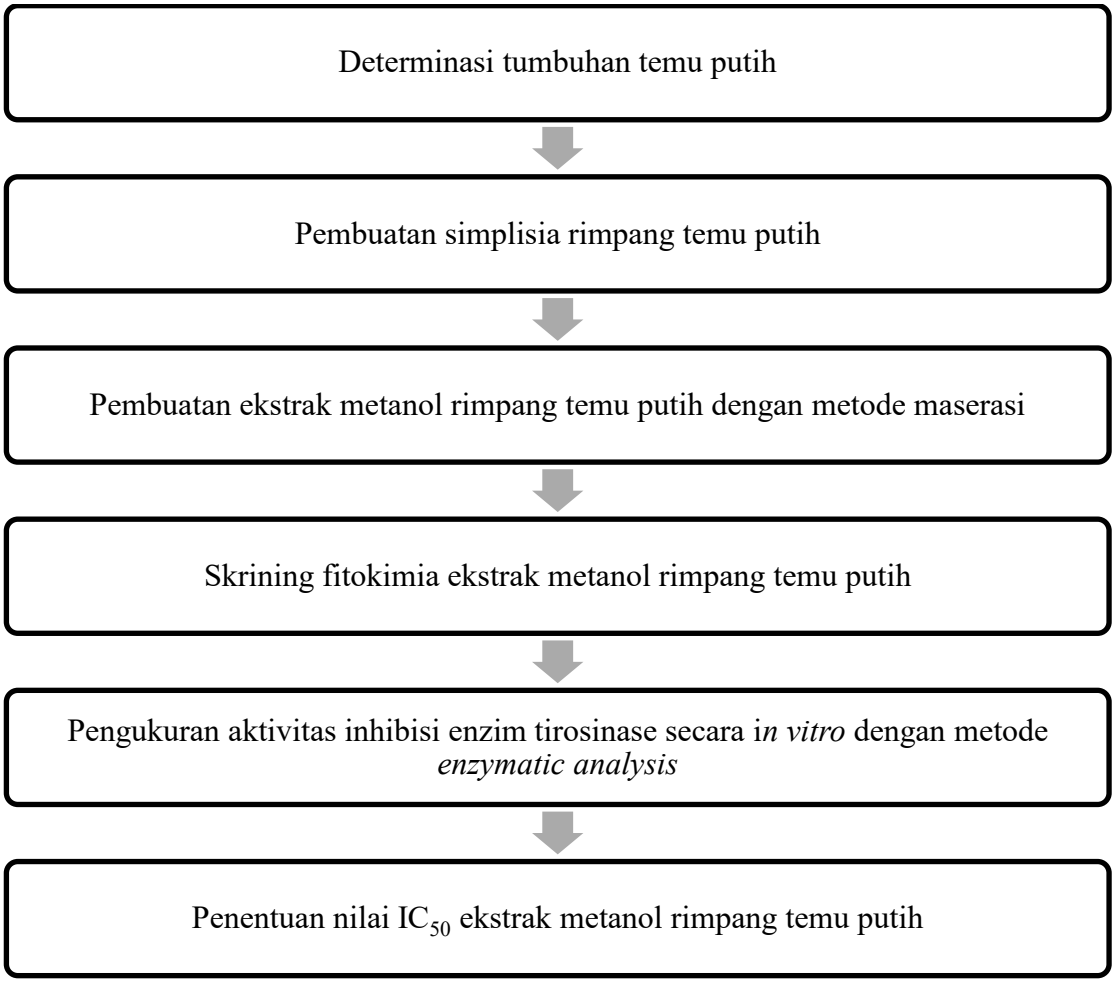
Wang, Y., Viennet, C., Robin, S., Berthon, J.-Y., He, L., dan Humber, P., 2017. Precise Role of Dermal Fibroblasts on Melanocyte Pigmentation. *Journal Dermatol Science*, *88*(2), 159–166.

Wardaniati, I., dan Yanti, R., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Propolis Lebah Trigona (Trigona itama) Menggunakan Metode DPPH. *Journal of Pharmacy and Science*, *2*(1), 14–21.

Yusuf, H., Alhajj, M., Fakoya, A. O., dan Sharma, S., 2024. Anatomi, Kulit (Integumen), Epidermis. In *National Library of Medicine: National Center for Biotechnology Information* (1st ed.). Stat Pearls.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Alur Penelitian



Lampiran 2. Surat Determinasi Tanaman Temu Putih (*Curcuma zedoaria*)

KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI, SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS MULAWARMAN
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
JURUSAN BIOLOGI
LABORATORIUM ANATOMI DAN SISTEMATIKA TUMBUHAN
Jl. Barong Tongkok No. 4 Kampus Gunung Kelua Samarinda – Kalimantan Timur 75123 IndonesiaTelp./Fax:+62541747974,
Email:Lab.Anatomi&sistematikaTumbuan@gmail.com,https://www.fmipa.unmul.ac.id

SURAT KETERANGAN HASIL IDENTIFIKASI TUMBUHAN
Nomor : 004/UN17.7.025.16/ HAI/2025.

Bersama ini menerangkan bahwa bahan yang dibawa oleh:

Nama	: Sari Nur Aisyah
NIDN/NIM	: 21482011295
Institusi	: STIKSAM
Tanggal Kirim Bahan/Sampel	: 19 Desember 2024
Bentuk Bahan/Sampel	: Sampel Segar

Adalah memiliki klasifikasi sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: *Curcuma*
Spesies	: *Curcuma zedoaria* Roxb.

Nama Indonesia/Lokal : Tanaman Temu Putih

Demikian surat keterangan hasil identifikasi tumbuhan ini dibuat, agar dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Samarinda, 09 Januari 2025.
Kepala Laboratorium
Anatomi dan Sistematika
Tumbuhan

Dr. Medi Hendra, M.Si
NIP. 19710516 199903 1 003

Tanggal Identifikasi	Di buat oleh :	Jabatan	Tanda Tangan
08 Januari 2025	Nur Khatimah, S.Si	Teknisi/Laboran Laboratorium Anatomi dan Sistemetika Tumbuhan	

Lampiran 3. Tahapan Pembuatan Simplisia

 Pengumpulan rimpang temu putih sebanyak 3 kg	 Sortasi basah dan pencucian rimpang temu putih dengan air mengalir
 Perajangan rimpang temu putih dengan ketebalan 3-5 mm	 Penjemuran simplisia dengan metode panas matahari
 Diperoleh hasil simplisia kering	 Penghalusan dan pengayakan simplisia

Lampiran 4. Perhitungan Susut Pengeringan dengan Metode Gravimetri

Rumus perhitungan susut pengeringan:

$$\%Susut\ Pengeringan = \frac{b-(c-a)}{b}\ x\ 100\%$$

Keterangan:

a = Berat krus kosong (g)
b = Berat sampel (g)
c = Berat krus dan sampel (g)

Berat krus kosong (g)	
Krus 1	35,967
Krus 2	37,530
Krus 3	38,369

Oven	Berat krus dan sampel		
	Krus 1	Krus 2	Krus 3
I	36,860	38,419	39,258
II	36,860	38,419	39,258

Perhitungan susut pengeringan

1. Krus 1

$$\%Susut\ Pengeringan = \frac{1-(36{,}860-35{,}967)}{1}\ x\ 100\%$$
$$= \frac{1-0{,}893}{1}\ x\ 100\%$$
$$= 10{,}7\%$$

2. Krus 2

$$\%Susut\ Pengeringan = \frac{1-(38{,}419-37{,}530)}{1}\ x\ 100\%$$
$$= \frac{1-0{,}889}{1}\ x\ 100\%$$
$$= 11{,}1\%$$

(lanjutan)

3. Krus 3

$$\%Susut\ Pengeringan = \frac{1-(39{,}258-38{,}360)}{1}\ x\ 100\%$$

$$= \frac{1-0{,}898}{1}\ x\ 100\%$$

$$= 10{,}2\%$$

Rata-rata $= \frac{10{,}7\% + 11{,}1\% + 10{,}2\%}{3}$

$= 10{,}67\%$

Lampiran 5. Penetapan Susut Pengeringan

	Krus 1	Krus 2	Krus 3
Krus kosong			
Oven I			
Oven II			
Oven III			

Oven IV			

Lampiran 6. Tahapan Pembuatan Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

 Ditimbang serbuk simplisia sebanyak 100 gram	 Dilarutkan dengan metanol dan dimaserasi selama 6 jam dan direndam selama 24 jam
 Penyaringan ekstrak	 Ekstrak dikentalkan dengan rotary evaporator
 Diuapkan menggunakan *waterbath* pada suhu 60ºC	 Diperoleh ekstrak kental rimpang temu putih sebanyak 9,92 gram

Lampiran 7. Perhitungan Rendemen Ekstrak

Bobot cawan kosong = 65,33 gram

Bobot cawan + ekstrak = 75,25 gram

Bobot ekstrak = 75,25 gram – 65,33 gram

= 9,92 gram

Bobot simplisia = 100 gram

% Rendemen ekstrak $= \frac{Bobot\ ekstrak\ yang\ diperoleh\ (g)}{Bobot\ simplisia\ yang\ digunakan\ (g)}\ x\ 100\%$

$= \frac{9{,}92\ gram}{100\ gram}\ x\ 100\%$

= 9,92%

Lampiran 8. Perhitungan Kadar Air Ekstrak

Rumus perhitungan susut pengeringan:

$$\%Kadar\ air = \frac{b-(c-a)}{b}\ x\ 100\%$$

Keterangan:

a = Berat cawan kosong (g)
b = Berat ekstrak (g)
c = Berat cawan dan ekstrak (g)

Berat krus kosong (g)	
Cawan 1	40,360
Cawan 2	49,400
Cawan 3	37,950

Oven	Berat cawan dan sampel		
	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
I	40,813	49,823	38,380
II	40,813	49,823	38,380

(lanjutan)

Perhitungan kadar air ekstrak

1. Cawan 1

$$\%Kadar\ air = \frac{0{,}5-(40{,}813-40{,}360)}{0{,}5}\ x\ 100\%$$
$$= \frac{0{,}5-0{,}453}{0{,}5}\ x\ 100\%$$
$$= 9{,}4\%$$

2. Cawan 2

$$\%Kadar\ air = \frac{0{,}5-(49{,}823-49{,}400)}{0{,}5}\ x\ 100\%$$
$$= \frac{0{,}5-0{,}423}{0{,}5}\ x\ 100\%$$
$$= 15{,}4\%$$

3. Cawan 3

$$\%Kadar\ air = \frac{0,5 - (38,380 - 37,950)}{0,5}\ x\ 100\%$$

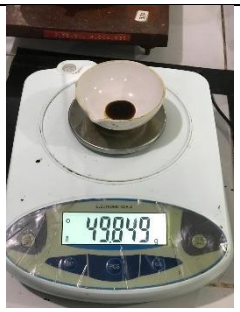
$$= \frac{0,5 - 0,43}{0,5}\ x\ 100\%$$

$$= 14,0\%$$

Rata-rata $= \frac{9,4\% + 15,4\% + 14,0\ \%}{3}$

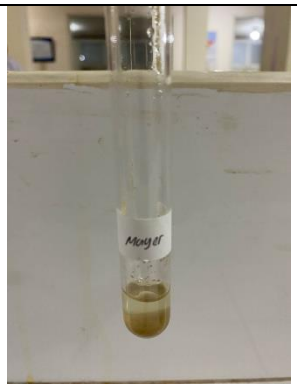
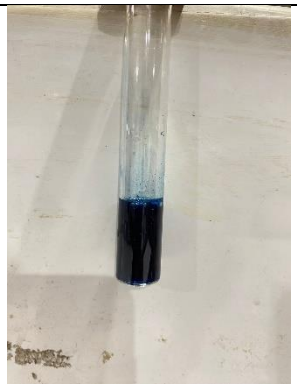
$= 12,93\%$

Lampiran 9. Penetapan Kadar Air Ekstrak

	Cawan 1	Cawan 2	Cawan 3
Cawan kosong			
Oven I			
Oven II			
Oven III			

Oven IV			

Lampiran 10. Skrining Fitokimia

 Senyawa Alkaloid (Pereaksi Mayer)	 Senyawa Alkaloid (Pereaksi Bouchardat)
 Senyawa Alkaloid (Pereaksi Dragendorff)	 Senyawa Flavonoid
 Senyawa Tanin	 Senyawa Saponin

(lanjutan)



Senyawa Triterpenoid

Lampiran 11. Perhitungan Larutan Enzim dan Kontrol Positif

A. Perhitungan Larutan Enzim Tirosinase 250 unit/ml

Larutan enzim tirosinase 250 unit/ml	$\frac{25.000\ unit}{100\ ml} = 250\ unit/ml$

B. Perhitungan Larutan Kontrol Positif Asam Kojat

Larutan induk asam kojat 1000 ppm	$\frac{1\ mg}{0{,}001\ L} = 1000\ ppm$
Larutan seri asam kojat 125 ppm	$V_1C_1 = V_2C_2$ V_1 x 1000 ppm = 1 ml x 125 ppm $V_1 = \frac{1\ ml\ x\ 125\ ppm}{1000\ ppm}$ V_1 = 0,125 ml = 125 µL
Larutan seri asam kojat 62,5 ppm	$V_1C_1 = V_2C_2$ V_1 x 125 ppm = 1 ml x 62,5 ppm $V_1 = \frac{1\ ml\ x\ 62{,}5\ ppm}{125\ ppm}$ V_1 = 0,5 ml = 500 µL
Larutan seri asam kojat 31,25 ppm	$V_1C_1 = V_2C_2$ V_1 x 62,5 ppm = 1 ml x 31,25 ppm $V_1 = \frac{1\ ml\ x\ 31{,}25\ ppm}{62{,}5\ ppm}$ V_1 = 0,5 ml = 500 µL
Larutan seri asam kojat 15,625 ppm	$V_1C_1 = V_2C_2$ V_1 x 31,25 ppm = 1 ml x 15,625 ppm $V_1 = \frac{1\ ml\ x\ 15{,}625\ ppm}{31{,}25\ ppm}$ V_1 = 0,5 ml = 500 µL

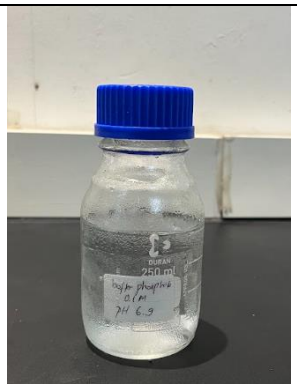
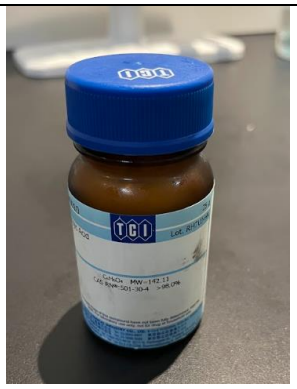
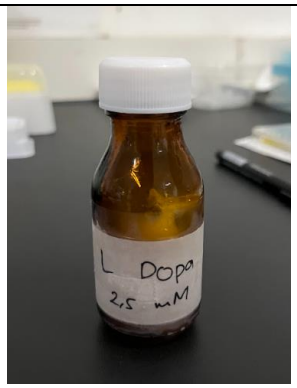
Masing-masing seri larutan asam kojat dibuat dengan cara mengambil 0,5 ml (500 µL) larutan asam kojat dilarutkan dengan larutan DMSO dalam eppendorf ukur 1 ml.

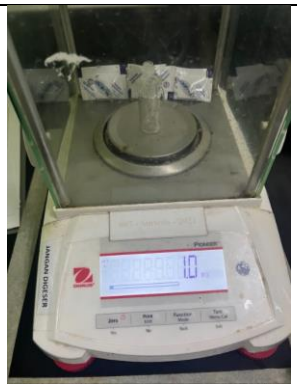
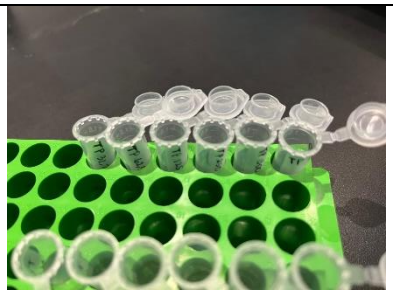
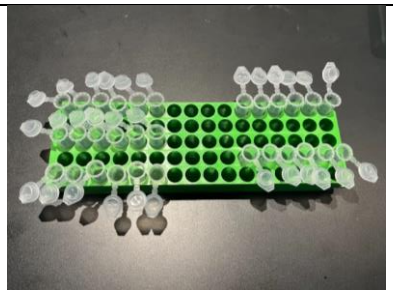
Lampiran 12. Perhitungan Larutan Uji Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

Larutan induk ekstrak 1000 ppm	$\frac{1\ mg}{0{,}001\ L} = 1000\ ppm$
Larutan seri ekstrak 500 ppm	$V_1C_1 = V_2C_2$ V_1 x 1000 ppm = 1 ml x 500 ppm $V_1 = \frac{1\ ml\ x\ 500\ ppm}{1000\ ppm}$ V_1 = 0,5 ml = 500 µL
Larutan seri ekstrak 250 ppm	$V_1C_1 = V_2C_2$ V_1 x 500 ppm = 1 ml x 250 ppm $V_1 = \frac{1\ ml\ x\ 250\ ppm}{500\ ppm}$ V_1 = 0,5 ml = 500 µL
Larutan seri ekstrak 125 ppm	$V_1C_1 = V_2C_2$ V_1 x 250 ppm = 1 ml x 125 ppm $V_1 = \frac{1\ ml\ x\ 125\ ppm}{250\ ppm}$ V_1 = 0,5 ml = 500 µL
Larutan seri ekstrak 62,5 ppm	$V_1C_1 = V_2C_2$ V_1 x 125 ppm = 1 ml x 62,5 ppm $V_1 = \frac{1\ ml\ x\ 62{,}5\ ppm}{125\ ppm}$ V_1 = 0,5 ml = 500 µL

Masing-masing seri larutan ekstrak metanol rimpang temu putih dibuat dengan cara mengambil 0,5 ml (500 µL) ekstrak dan dilarutkan dengan larutan DMSO dalam eppendorf ukur 1 ml.

Lampiran 13. Uji Aktivitas Antitirosine Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih dan Asam Kojat

 Larutan dapar fosfat pH 6,5	 Potassium dihydrogen phosphate dan di-Sodium hydrogen phosphate
 Enzim tyrosine 25.000 unit	 Asam kojat
 Larutan L-DOPA 2,5 mM	 DMSO

 Ditimbang 1 mg ekstrak metanol rimpang temu putih	 Ditimbang 1 mg asam kojat
 Larutan induk 1000 ppm dan larutan seri ekstrak metanol rimpang temu putih konsentrasi, 500, 250 dan 125 ppm	 Larutan induk 1000 ppm dan larutan seri asam kojat konsentrasi 125, 62,5, 31,25, 15,625, 7,81 ppm
 Pengujian antitirosine ekstrak temu putih	 Pengujian antitirosine asam kojat

Lampiran 14. Perhitungan Persen Inhibisi Asam Kojat

Replikasi 1							
No	**Konsentrasi (ppm)**		**Absorbansi**		**Persen Inhibisi (%)**	**Persamaan Regresi Linear**	**IC_{50}**
	Initial Rate	**Final Concentration**	**Blanko**	**Sampel**			
1	125	25	0,0662	0,0142	78,5606	y = 1,9729x + 29,019 r = 0,9996	10,634
2	62,5	12,5		0,0310	53,1958		
3	31,25	6,25		0,0389	41,2682		
4	15,625	3,125		0,0427	35,5310		

Replikasi 2							
No	**Konsentrasi (ppm)**		**Absorbansi**		**Persen Inhibisi (%)**	**Persamaan Regresi Linear**	**IC_{50}**
	Initial Rate	**Final Concentration**	**Blanko**	**Sampel**			
1	125	25	0,0662	0,0182	72,5214	y = 2,2019x + 19,579 r = 0,9739	13,815
2	62,5	12,5		0,0318	51,9879		
3	31,25	6,25		0,0441	33,4172		
4	15,625	3,125		0,0506	23,6034		

Replikasi 3							
No	**Konsentrasi (ppm)**		**Absorbansi**		**Persen Inhibisi (%)**	**Persamaan Regresi Linear**	**IC_{50}**
	Initial Rate	**Final Concentration**	**Blanko**	**Sampel**			
1	125	25	0,0662	0,0149	77,5038	y = 2,3581x + 19,258 r = 0,9949	13,036
2	62,5	12,5		0,0325	50,9311		
3	31,25	6,25		0,0448	32,3603		
4	15,625	3,125		0,0485	26,7740		

Replikasi 1

A. Perhitungan % Inhibisi Asam Kojat

1. Konsentrasi 125 ppm $= \frac{0,0662-0,0142}{0,0662}\ x\ 100\% = 78,560\%$
2. Konsentrasi 62,5 ppm $= \frac{0,0662-0,0310}{0,0662}\ x\ 100\% = 53,195\%$
3. Konsentrasi 31,25 ppm $= \frac{0,0662-0,0389}{0,0662}\ x\ 100\% = 41,268\%$

4. Konsentrasi 15,625 ppm = $\frac{0,0662-0,0427}{0,0662}$ x 100% = 35,531%

B. Perhitungan IC_{50} Asam Kojat

y = bx ± a

y = 1,9729x + 29,019

50 = 1,9729x + 29,019

50 - 29,019 = 1,9729x

x = $\frac{20,981}{1,9729}$

x = 10,634 ppm

Replikasi 2

A. Perhitungan % Inhibisi Asam Kojat

1. Konsentrasi 125 ppm = $\frac{0,0662-0,0182}{0,0662}$ x 100% = 72,521%
2. Konsentrasi 62,5 ppm = $\frac{0,0662-0,0318}{0,0662}$ x 100% = 51,987%
3. Konsentrasi 31,25 ppm = $\frac{0,0662-0,0441}{0,0662}$ x 100% = 33,417%
4. Konsentrasi 15,625 ppm = $\frac{0,0662-0,0506}{0,0662}$ x 100% = 23,603%

B. Perhitungan IC_{50} Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

y = bx ± a

y = 2,2019x + 19,579

50 = 2,2019x + 19,579

50 - 19,579 = 2,2019x

x = $\frac{30,421}{2,2019}$

x = 13,815 ppm

Replikasi 3

A. Perhitungan % Inhibisi Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

1. Konsentrasi 125 ppm $= \frac{0,0662-0,0149}{0,0662} \; x \; 100\% = 77,503\%$
2. Konsentrasi 62,5 ppm $= \frac{0,0662-0,0325}{0,0662} \; x \; 100\% = 50,931\%$
3. Konsentrasi 31,25 ppm $= \frac{0,0662-0,0448}{0,0662} \; x \; 100\% = 32,360\%$
4. Konsentrasi 15,625 ppm $= \frac{0,0662-0,0485}{0,0662} \; x \; 100\% = 26,774\%$

B. Perhitungan IC_{50} Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

$y = bx \pm a$

$y = 2,3581x + 19,258$

$50 = 2,3581x + 19,258$

$50 - 19,258 = 2,3581x$

$x = \frac{30,742}{2,3581}$

$x = 13,036$ ppm

C. Perhitungan Rata-rata Nilai IC_{50} Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

$$IC_{50} = \frac{replikasi\ 1 + replikasi\ 2 + replikasi\ 3}{3}$$

$$IC_{50} = \frac{10,634 + 13,815 + 13,036}{3}$$

$$IC_{50} = 12,495\ ppm$$

Lampiran 15. Perhitungan Standar Deviasi IC_{50} Asam Kojat

No	x	$\bar{x}$	$(x - \bar{x})$	$(x - \bar{x})^2$	$\Sigma (x - \bar{x})^2$
1	10,634	12,495	-1,861	3,46332	5,498402
2	13,815		1,32	1,7424	
3	13,036		0,541	0,29268	

Perhitungan Standar Deviasi Asam Kojat

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma\,(x - \bar{x}^2}{n-1}}$$

$$SD = \sqrt{\frac{5,498}{2}} = 1,65$$

Lampiran 16. Perhitungan Persen Inhibisi Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

Replikasi 1							
No	**Konsentrasi (ppm)**		**Absorbansi**		**Persen Inhibisi (%)**	**Persamaan Regresi Linear**	**IC_{50}**
	Initial Rate	**Final Concentration**	**Blanko**	**Sampel**			
1	1000	200	0,2144	0,1487	30,6329	y = 0,2203x - 10,08 r = 0,9622	272,72
2	500	100		0,1958	8,6612		
3	250	50		0,2049	4,4161		
4	125	25		0,2311	-7,8059		

Replikasi 2							
No	**Konsentrasi (ppm)**		**Absorbansi**		**Persen Inhibisi (%)**	**Persamaan Regresi Linear**	**IC_{50}**
	Initial Rate	**Final Concentration**	**Blanko**	**Sampel**			
1	1000	200	0,2144	0,1506	29,7465	y = 0,1767x - 6,7513 r = 0,9659	321,17
2	500	100		0,1985	7,4016		
3	250	50		0,2046	4,5561		
4	125	25		0,2196	-2,4413		

Replikasi 3							
No	**Konsentrasi (ppm)**		**Absorbansi**		**Persen Inhibisi (%)**	**Persamaan Regresi Linear**	**IC_{50}**
	Initial Rate	**Final Concentration**	**Blanko**	**Sampel**			
1	1000	200	0,2144	0,1444	32,6388	y = 0,1924x - 6,6316 r = 0,9806	294,34
2	500	100		0,1930	9,9673		
3	250	50		0,2030	5,3024		
4	125	25		0,2193	-2,3014		

Replikasi 1

A. Perhitungan % Inhibisi Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

1. Konsentrasi 1000 ppm $= \frac{0,2144-0,1487}{0,2144}\ x\ 100\% = 30,6329\%$
2. Konsentrasi 500 ppm $= \frac{0,2144-0,1958}{0,2144}\ x\ 100\% = 8,6612\%$
3. Konsentrasi 250 ppm $= \frac{0,2144-0,2049}{0,2144}\ x\ 100\% = 4,4161\%$

4. Konsentrasi 125 ppm $= \frac{0,2144-0,2311}{0,2144}\ x\ 100\% = -7,8059\%$

B. Perhitungan IC_{50} Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

y = bx ± a

y = 0,2203x – 10,08

50 = 0,2203x – 10,08

50 + 10,08 = 0,2203x

x = $\frac{60,08}{0,2203}$

x = 272,719 ppm

Replikasi 2

A. Perhitungan % Inhibisi Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

1. Konsentrasi 1000 ppm $= \frac{0,2144-0,1506}{0,2144}\ x\ 100\% = 29,7465\%$
2. Konsentrasi 500 ppm $= \frac{0,2144-0,1985}{0,2144}\ x\ 100\% = 7,4016\%$
3. Konsentrasi 250 ppm $= \frac{0,2144-0,2046}{0,2144}\ x\ 100\% = 4,5561\%$
4. Konsentrasi 125 ppm $= \frac{0,2144-0,2196}{0,2144}\ x\ 100\% = -2,4413\%$

B. Perhitungan IC_{50} Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

y = bx ± a

y = 0,1767x – 6,7513

50 = 0,1767x – 6,7513

50 + 6,7513 = 0,1767x

x = $\frac{56,7513}{0,1767}$

x = 321,173 ppm

Replikasi 3

A. Perhitungan % Inhibisi Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

1. Konsentrasi 1000 ppm $= \frac{0,2144-0,1444}{0,2144}\ x\ 100\% = 32,6388\%$
2. Konsentrasi 500 ppm $= \frac{0,2144-0,1930}{0,2144}\ x\ 100\% = 9,9673\%$
3. Konsentrasi 250 ppm $= \frac{0,2144-0,2030}{0,2144}\ x\ 100\% = 5,3024\%$
4. Konsentrasi 125 ppm $= \frac{0,2144-0,2193}{0,2144}\ x\ 100\% = -2,3014\%$

B. Perhitungan IC_{50} Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

y = bx ± a

y = 0,1924x – 6,6316

50 = 0,1924x – 6,6316

50 + 6,6316 = 0,1924x

x = $\frac{56,6313}{0,1924}$

x= 294,343 ppm

C. Perhitungan Rata-rata Nilai IC_{50} Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

$$IC_{50} = \frac{replikasi\ 1 + replikasi\ 2 + replikasi\ 3}{3}$$

$$IC_{50} = \frac{272,719 + 321,173 + 294,343}{3}$$

$$IC_{50} = 296,078\ ppm$$

Lampiran 17. Perhitungan Standar Deviasi IC_{50} Ekstrak Temu Putih

No	x	$\bar{x}$	$(x - \bar{x})$	$(x - \bar{x})^2$	$\Sigma (x - \bar{x})^2$
1	272,72	296,0766667	-23,35667	545,5339	1.178,225267
2	321,17		25,093333	629,6754	
3	294,34		-1,736667	3,016011	

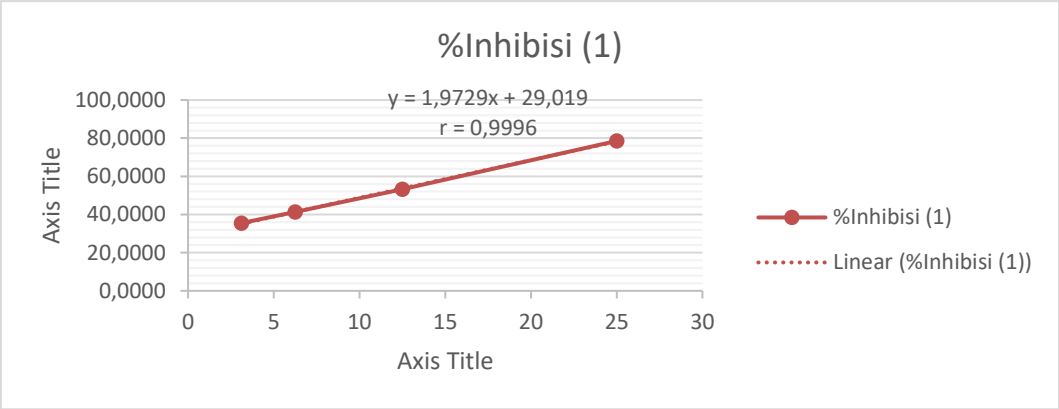
Perhitungan Standar Deviasi Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

$$SD = \sqrt{\frac{\Sigma\,(x - \bar{x}^2}{n-1}}$$

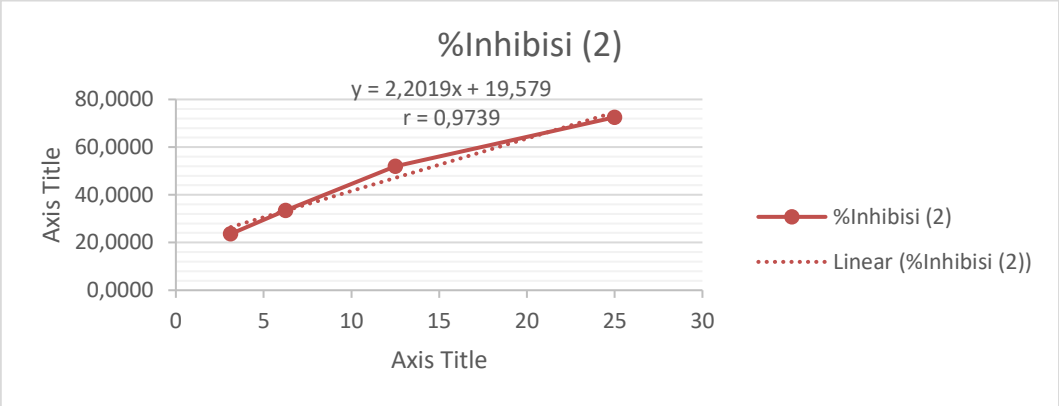
$$SD = \sqrt{\frac{1.178,225}{2}} = 24,27$$

Lampiran 18. Persamaan Regresi Linier Asam Kojat

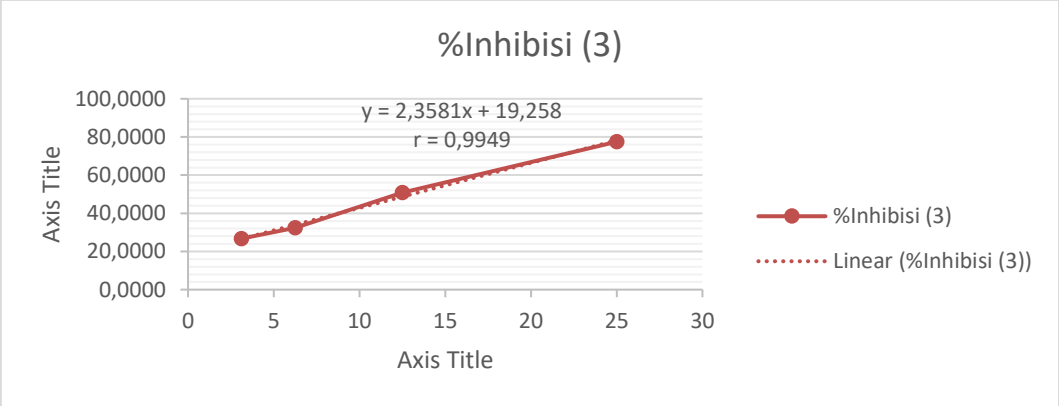
Replikasi 1



Replikasi 2

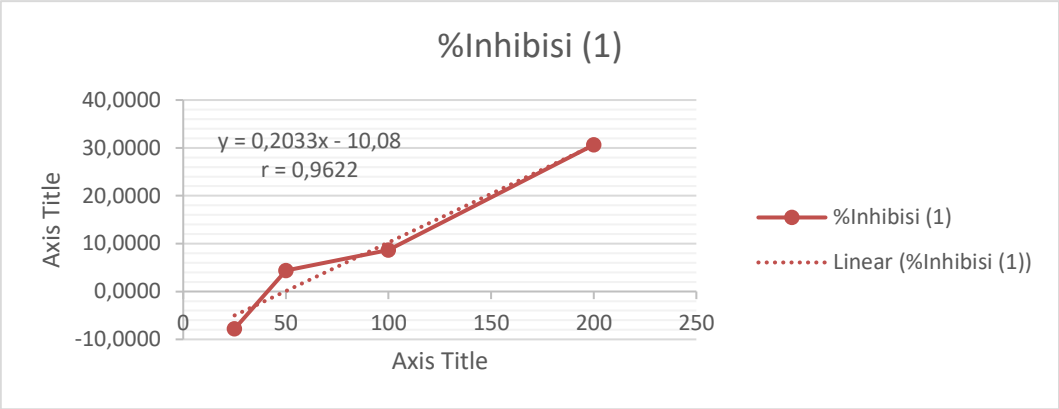


Replikasi 3

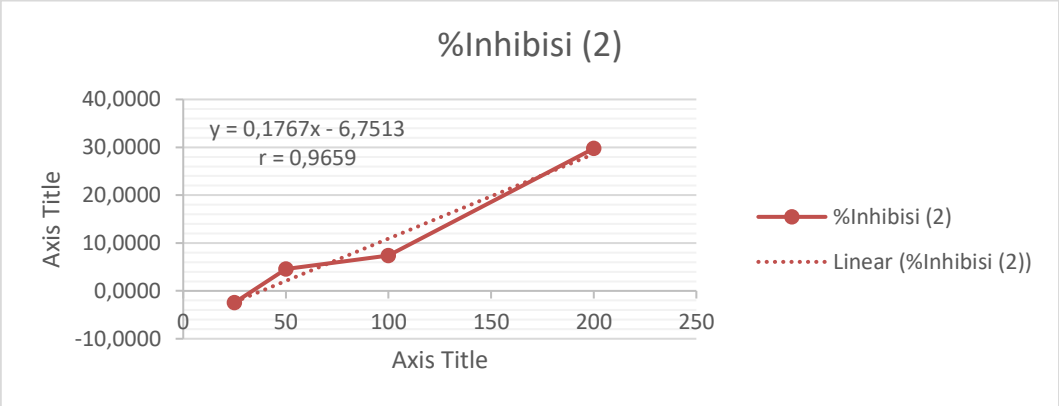


Lampiran 19. Persamaan Regresi Linier Ekstrak Metanol Rimpang Temu Putih

Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

