

COMPARATION OF SEVERAL PLANTS EXTRACT AND VITAMIN C INHIBITION ACTIVITY TO TYROSINE PHOTODEGRADATION INDUCED BY KETOPROFEN AND ITS TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS

PERBANDINGAN INHIBISI BERBAGAI EKSTRAK TUMBUHAN DAN VITAMIN C PADA FOTODEGRADASI TIROSIN YANG DIINDUKSI KETOPROFEN DAN KANDUNGAN FENOLIK TOTALNYA

Tatang Irianti*, Nanang Fakhrudin, Efendi, Sigit Hartomo, Siluh Putu Yuni Astuti, Ratih Anggar
Kusumaningtyas, dan Argandita Meiftasari

Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRACT

Antioxidant is known to inhibit free radical reaction. Tyrosine photodegradation can be caused by radical reaction. Nowadays, plant with antioxidants are widely used to inhibit free radical reaction. Study of inhibition of photodegradation used four groups. Those groups are: P1 consisted of 2mL tyrosine 0,05 %; P2 consisted of 2 mL tyrosine 0,05 %, and 600 μ L Rhetoflam (topical ketoprofen) 1 %; P3 consisted of 2 mL tyrosine 0,05 %, 60 μ L Rhetoflam 1 %, and 100 μ L tea leaf water ekstrak 0,15 %; P4 consisted of 2 mL tyrosine 0,05 %, 600 μ L Rhetoflam 1 %, and 100 μ L mahkota dewa fruit water ekstrak 0,15 %; P5 consisted of 2 mL tyrosine 0,05 %, 600 μ L Rhetoflam 1 %, and 100 μ L finger root etanolic ekstrak 0,15 %; P6 consisted of 2 mL tyrosine 0,05 %, 600 μ L Rhetoflam 1 %, and 100 μ L vitamin C 0,15 %; each group is added with aquadest up to 5,0 mL and illuminated with mercuric lamp for four hours. Level of remaining tyrosine was measured with visible spectrophotometric method. We used ANOVA to analyse the data with confidence level of 0,95 and then continued by Tukey (HSD). Follin-Ciocalteu method with galic acid calibration curve was used to determine total phenolic level. The level of total phenolic of tea leaf aqueous extract, mahkota dewa fruit aqueous extract, fingerroot ethanolic extract were 29.64 \pm 0.86 %; 8.29 % 0.27 %; and 7.11 %, 0.15 %, respectively. Our investigation also found gallic acid equivalent (GAE) with the inhibition activity of 4.03; 1.58; and 2.09 and they were bigger than Vitamin C with the same concentration of 0.15 %.

Key words: ketoprofen, tyrosine, photodegradation, *Camellia sinensis* leaves, *phaleria macrocarpa* fruit, *Boesenbergia pandurata* root

ABSTRAK

Antioksidan mampu menghambat reaksi radikal bebas dan fotodegradasi tirosin dapat disebabkan oleh reaksi radikal. Antioksidan alami dari tumbuhan dapat dimanfaatkan sebagai inhibitorynya dan saat ini meningkat dengan pesat penggunaannya. Uji inhibisi fotodegradasi dilakukan dengan menggunakan enam kelompok. Kelompok P1 berisi 2 mL tirosin 0,05 %. Kelompok P2 berisi 2 mL tirosin 0,05 %, 600 μ L Rhetoflam (ketoprofen topical) 1 %. Kelompok P3 berisi 2mL tirosin 0,05 %, 600 μ L Rhetoflam 1 %, 100 μ L ekstrak air daun teh 0,15 %. Kelompok P4 berisi 2 mL tirosin 0,05 %, 600 μ L Rhetoflam 1 %, 100 μ L ekstrak air buah mahkota dewa 0,15 %. Kelompok P5 berisi 2 mL tirosin 0,05 %, 600 μ L Rhetoflam 1 %, 100 μ L ekstrak etanol temu kunci 0,15 %. Kelompok P6 berisi 2 mL tirosin 0,05 %, 600 μ L Rhetoflam 1 %, 100 μ L vitamin C 0,15 %. Setiap kelompok ditambahkan akuades hingga 5,0 mL dan dipejani sinar lampu merkuri selama empat jam. Setelah pemajanan, dilakukan pengukuran kadar tirosin sisa menggunakan metode spektrofotometri visibel. Data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji ANOVA dengan tingkat kepercayaan 95 %. Analisis dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur. Uji penentuan kadar fenolik total dilakukan menggunakan metode Follin-Ciocalteu. Hasil pengukuran diinterpolasikan ke dalam kurva baku asam galat. Hasil uji fotodegradasi menunjukkan bahwa ekstrak air daun teh, ekstrak air buah mahkota dewa, dan ekstrak etanol rimpang temu kunci dengan kandungan fenolik total 29,64 \pm 0,86 %; 8,29 % 0,27 %; dan 7,11 % 0,15 % ekuivalen asam galat (EAG) mampu menghambat secara fotodegradasi tirosin dengan aktivitas inhibisi 4,03; 1,58; dan 2,09 kali lebih besar dibanding vitamin C pada kadar sama yaitu 0,15 %.

Kata kunci: ketoprofen, tirosin, fotodegradasi, daun the, buah mahkota dewa, akar temu kunci

Corresponding Author : Tatang Irianti
Email : itanti@ugm.ac.id

PENDAHULUAN

Peningkatan kerusakan lingkungan membuat masyarakat menyadari pentingnya untuk melindungi kulitnya terhadap agen-agen oksidatif dan dampak selanjutnya adalah pengguna produk-produk kosmetik sebagai pelindung kulit semakin banyak. Antioksidan dapat mengurangi reaksi oksidasi yang dipicu oleh berbagai agen oksidatif walaupun secara topikal untuk mencegah kerusakan akibat radikal bebas Vitamin E, vitamin C, dan flavonoid merupakan beberapa antioksidan terpenting dan banyak digunakan dalam kosmetik (Barel dkk., 2001). Antioksidan ini meliputi karotenoid, vitamin, senyawa fenolik, flavonoid, glutathion, dan metabolit endogen (Al-Saikhan dkk., 1995).

Senyawa golongan flavonoid banyak terdapat dalam tanaman, seperti bunga kecombrang dan buah talok. Irianti dkk. (2013) melaporkan dua tanaman ini dalam fraksi etil asetat mengandung flavonoid dan mempunyai potensi antioksidan cukup tinggi dibanding fraksi yang lainnya. Sedangkan dengan hidrolisis asam pada fraksi air daun mengkudu akan meningkatkan 3 kali lebih besar potensi antioksidannya dan pada hidrolisis asam serta basa pada fraksi air buah talok mampu memperbesar aktivitas penangkapan radikal DPPH sampai dengan 8 kalinya (Irianti dkk., 2013 dan 2016).

Daun teh (*Camellia sinensis*) mengandung senyawa polifenol terutama golongan katekin (Farmiati, 2000) dan golongan senyawa ini mampu menangkap radikal bebas seperti radikal DPPH, anion superoksida, radikal bebas lipid, dan radikal hidroksil (Sang, 2003). Mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) mengandung flavonoid dan polifenol yang memiliki sifat antioksidan. Zin dkk. (2004) melaporkan bahwa senyawa fenolik dianggap sebagai komponen antioksidatif terpenting pada tanaman, memberikan korelasi sepadan antara konsentrasi dan tingkat aktivitas antioksidan. Temu kunci (*Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecht) memiliki kandungan senyawa dengan aktifitas sebagai antioksidan dari golongan flavonoid terutama pinostrobin dan pinoscembrin (Shindo dkk., 2006 dan Tewtrakul dkk., 2003).

Ketoprofen telah banyak digunakan dalam berbagai penelitian sebagai fotosensitizer. Setelah absorpsi foton dari radiasi sinar UV/visibel, fotosensitizer memiliki dua tingkatan eksitasi elektronik, yaitu keadaan tereksitasi singlet dan triplet. Sebagian besar reaksi oksidasi karena fotosensitisasi dihasilkan oleh fotosensitizer triplet. Keadaan tereksitasi triplet dari fotosensitizer dapat bereaksi melalui dua jalur utama, yaitu dengan proses transfer elektron atau

hidrogen radikal (reaksi tipe I) dan reaksi tipe II yaitu dengan transfer energi dari triplet tereksitasi ke oksigen untuk menghasilkan oksigen tereksitasi singlet (Spielmann dkk., 2000). Ketoprofen topikal (Rhetoflam)[®] dapat menginduksi fotodegradasi tirosin (Suhartono dkk., 2006).

Selain menggunakan fotosensitizer, radikal bebas juga dapat terjadi karena sinar UV. Sinar UV dapat memecah ikatan kovalen. Menurut Emerit dkk. (1990) fotolisis air oleh sinar UVC menghasilkan pembentukan anion superoksida radikal secara langsung. Sedangkan pembentukan anion superoksida radikal secara langsung tidak teramati selama irradiasi dengan sinar UVA atau UVB. Berdasarkan Halliwell dan Gutteridge (1999) pembentukan radikal hidroksil dengan diinduksi oleh sinar UV di laboratorium dapat dilakukan menggunakan lampu merkuri pada panjang gelombang 253,7 nm (UVC).

METODOLOGI

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: daun teh, buah mahkota dewa, rimpang temu kunci, tirosin (Wako Pure), ketoprofen topikal merk Rhetoflam[®] 25 mg (Kimia Farma), vitamin C (E. Merck), HgSO₄ (E. Merck) H₂SO₄ (E. Merck), NaNO₂ (E. Merck), NaOH (E. Merck), reagen Folin-Ciocalteu (E. Merck), Na₂CO₃ (E. Merck), aquadest, dan C₂H₅OH (E. Merck).

Alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi panci infusa, stopwatch (Nokia[®] 3330), vortex (Maxi Mix Plus[™]), neraca analitik (Sartorius[®] BP 221 S), mikropipet (Trasferpette[®]), spektrofotometer (Genesys-10), lampu merkuri (Sankyo Denki 20 watt), dan waterbath (Memmert[®] GmbH + Co. KG), kompor listrik (Robusta[®]), yellow tip, blue tip, dan alat-alat gelas (Pyrex[®]) Laboratorium Bagian Kimia Analisis.

Jalannya Penelitian

Bahan dan Metode Ekstraksi

Pertama dilakukan identifikasi dan pengumpulan bahan. Ekstrak air daun teh dan buah mahkota dewa dilakukan dengan metode infundasi sedangkan ekstrak etanol temu kunci menggunakan metode maserasi. Daun teh dipanen dari perkebunan Sabrang kidul, Purwosari, Giri Mulyo, Kulon Progo, Yogyakarta pada Februari 2007 (waktu sore hari) dan pembuatan serbuk daun pada kedudukan 1-4. Sedangkan rimpang temu kunci dipanen dari desa Ketandan, Sumpiuh, Banyumas, Jawa tengah. Dan buah mahkota dewa diperoleh dari Taman Merapi, Kaliurang, Sleman. Tiga bahan ini dicuci dengan air mengalir dan

proses pengeringan dilakukan pada pemanasan dibawah sinar matahari, ditutup kain hitam (waktu dua hari). Pembuatan ekstrak dengan cara infudasi masing masing secara terpisah 50 g simplisia teh dan mahkota dewa diperoleh 13,47 g ekstrak kental teh (26,94 % b/b) berwarna coklat, lengket dan berbau khas. Sedangkan mahkota dewa dengan rendemen 35,94 % b/b (17,97g) dan temu kunci diekstrak secara maserasi diperoleh rendemen 13,75 % b/b.

Uji aktivitas fotodegradasi tirosin

Kurva baku tirosin dilakukan dengan membuat berbagai seri kadar larutan tirosin dari larutan induk tirosin 0,05% meliputi konsentrasi 0,075; 0,100; 0,125; 0,150; 0,175; 0,200; 0,225; 0,250; 0,275 mg/ml, kemudian dilakukan pengukuran absorbansi tirosin menggunakan metode Millon. Untuk data ketelitian dari metode ini dibuat tiga seri kadar tirosin, yaitu: 0,012 %; 0,014 %; 0,016 % dan masing-masing diambil 1,0 mL sampel dan dilakukan pengukuran absorbansi tirosin. Hasil yang diperoleh dihitung harga standar deviasi relatif terhadap tiap kadar. Tiap kadar dilakukan replikasi sebanyak lima kali.

Pengaruh lama penyinaran terhadap fotodegradasi oleh tirosin dan rhotoflam dilakukan dalam tabung dan detail penambahan serta lamanya penyinaran (Tabel I).

Setelah itu, masing-masing kelompok (beserta blangko) dimasukkan ke dalam kotak penyinaran yang berukuran 73,5 x 48 x 26,5 cm dan dilakukan penyinaran. Di dalam kotak dilengkapi 1 buah lampu UV C 20 watt. Jarak antara tabung dengan lampu 10 cm. Kemudian tirosin sisa ditetapkan absorbansinya.

Komposisi bahan dalam tabung perlakuan untuk uji pengaruh ekstrak dan vitamin C terhadap fotodegradasi tirosin dapat dilihat pada Tabel II. Kemudian dilakukan penyinaran selama 4 jam sesuai dengan hasil uji pengaruh lama penyinaran.

Tirosin sisa diukur menggunakan metode Millon. Larutan uji yang telah disinari diambil dan dimasukkan dalam tabung reaksi sebanyak 1 ml. Kemudian, ditambahkan larutan NaOH 1,2 N sebanyak 1 ml dan diinkubasi dalam *waterbath* selama 1 jam dengan suhu 60° C. Setelah 1 jam, ditambahkan 1,5 ml HgSO₄ 15 % dalam H₂SO₄ 5N dan 1 ml NaNO₂ 0,2 %, kemudian divortex. Setelah 23 menit, diukur absorbansi larutan dengan spektrofotometer pada *operating time* (6 menit) dan panjang gelombang maksimum (492 nm).

Penetapan kadar fenolik total

Penetapan kadar fenolik total ekstrak etanol temu kunci dilakukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Untuk kurva dibuat larutan induk (Li) asam galat dengan konsentrasi 1 mg/ml dalam etanol. Sebanyak 10; 20; 30; 40; 50; 60; dan 70 µl Li dimasukkan dalam labu takar 10 ml, ditambah dengan 0,4 ml reagen Folin-Ciocalteu, dan dibiarkan selama 5-8 menit. Selanjutnya larutan ini ditambah dengan Na₂CO₃ 7 % sebanyak 4 ml dan ditambah aquadest sampai batas tanda. Setelah 2 jam, absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 750 nm. Dilakukan juga pembacaan blangko yang terdiri atas aqua bidestilata dan reagen Folin-Ciocalteu. Penentuan kandungan fenolik total sampel, diambil 75 µl ekstrak etanol rimpang temu kunci 1 % dan dilanjutkan sebagaimana perlakuan pada pembuatan kurva baku. Pengukuran dilakukan replikasi sebanyak enam kali.

Analisis Hasil

Data absorbansi tirosin sisa dianalisis dengan menggunakan uji ANOVA (analisis varian) dengan tingkat kepercayaan 95 % menggunakan program SPSS *for windows* versi 12. Kemudian, dilanjutkan dengan uji lanjutan Beda Nyata Jujur (*Tukey HSD*) untuk menentukan adanya perbedaan absorbansi tirosin pada masing-masing perlakuan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sembilan kadar tirosin terhadap absorbansinya dibuat kurva baku dan dihitung linearitasnya (lihat gambar 1). Persamaannya adalah $y = 2,496x + 0,0542$ dengan nilai koefisien korelasinya ($r_{hitung} = 0,9978$) lebih besar dari r_{tabel} untuk $n = 9$ (derajat kebebasan = 7); $P = 0,95$ sebesar 0,666; hal ini berarti korelasi X dan Y signifikan. Korelasi antara X dan Y adalah hubungan linier. Harga LOD dan LOQ dari hasil perhitungan adalah sebagai berikut:

$$LOD = 9,94 \mu\text{g/ml}$$

$$LOQ = \frac{10}{3} \times LOD = 0,033 \text{ mg/ml}$$

Sembilan kadar tirosin terhadap absorbansinya dibuat kurva baku dan dihitung linearitasnya. Persamaannya adalah $y = 2,496x + 0,0542$; $R^2 = 0,9978$ dan $R = 0,9989$ (Gambar 1).

Uji akurasi memiliki nilai di antara 90 % hingga 110 % dan metode ini akurat mempunyai kedekatan antara kadar tirosin terukur dengan kadar tirosin dalam sampel. Semua pengujian presisi (*repeatability*) memberikan nilai standard deviasi kurang dari 2 %.

Tabel I. Komposisi bahan dalam tiap tabung perlakuan pada uji pengaruh lama penyinaran terhadap fotodegradasi tirosin

Kelompok perlakuan	Isi bahan dalam tabung			Lama Penyinaran (menit)
	Tirosin 0,05% (ml)	Rhetoflam 1% (µl)	Aquadest (ml)	
P ₀	2,0			0
B ₀	-			
P ₁	2,0			60
B ₁	-			
P ₂	2,0			120
B ₂	-			
P ₃	2,0	600	ad 5	180
B ₃	-			
P ₄	2,0			240
B ₄	-			
P ₅	2,0			300
B ₅	-			

Keterangan : P : tabung perlakuan, masing-masing kelompok dibuat tiga; B : tabung blangko, masing-masing kelompok dibuat satu.

Tabel II. Komposisi bahan dalam tiap tabung perlakuan pada uji pengaruh ekstrak dan vitamin C terhadap fotodegradasi tirosin

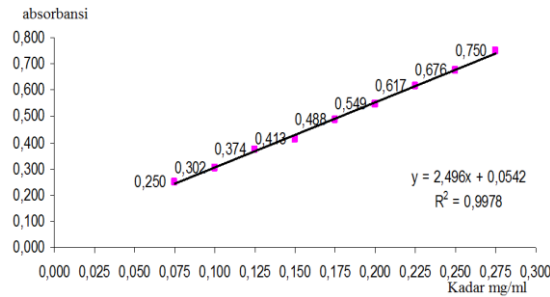
Kelompok perlakuan	Isi bahan dalam tabung						
	Tirosin 0,05% (ml)	Rhetoflam 1% (µl)	Ekstrak air daun teh 0,15% (µl)	Ekstrak air buah mahkota dewa 0,15% (µl)	Ekstrak etanol temu kunci 0,15% (µl)	Vitamin C 0,15% (µl)	Aquadest (ml)
P ₁	2,0	-	-	-	-	-	
B ₁	-	-	-	-	-	-	
P ₂	2,0	600	-	-	-	-	
B ₂	-	600	-	-	-	-	
P ₃	2,0	600	100	-	-	-	
B ₃	-	600	100	-	-	-	ad 5
P ₄	2,0	600	-	100	-	-	
B ₄	-	600	-	100	-	-	
P ₅	2,0	600	-	-	100	-	
B ₅	-	600	-	-	100	-	
P ₆	2,0	600	-	-	-	100	
B ₆	-	600	-	-	-	100	

Keterangan : P : tabung perlakuan, masing-masing kelompok dibuat enam; B: tabung blangko, masing-masing kelompok dibuat satu.

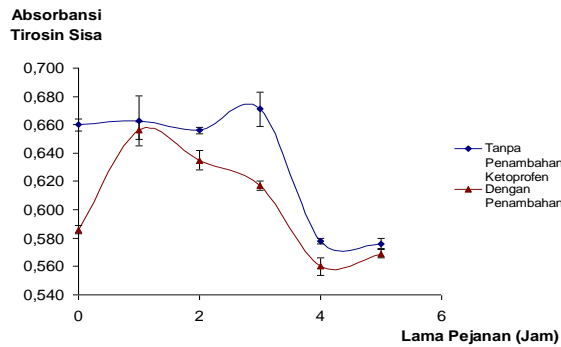
Artinya metode ini memenuhi syarat presisi (mempunyai tingkat kesesuaian antara tiap-tiap hasil pengukuran absorbansi tirosin).

Pengaruh lama penyinaran (0, 60, 120, 180, 240 dan 300 menit) terhadap fotodegradasi tirosin menunjukkan bahwa nilai absorbansi terkecil ditunjukkan pada pejanan lampu UV selama 4 jam (Gambar 2). Karena nilai absorbansi berbanding lurus dengan kadar tirosin sisa maka ini berarti fotodegradasi tirosin optimal pada penyinaran selama 4 jam. Dengan demikian pejanan selama 4 jam dijadikan dasar pemejanan lampu UV selanjutnya dalam penelitian ini.

Spielman (2000) menyatakan Pemejanan dengan lampu merkuri (UV C) mengakibatkan pembentukan radikal tirosin yang diinduksi ketoprofen. Tirosin dapat menjadi radikal tirosil jika bereaksi dengan senyawa reaktif, seperti oksigen singlet. Reaksi fotodegradasi tirosin dimulai dari absorpsi foton oleh ketoprofen dan senyawa ini sebagai spesies electron tereksitasi, yakni triplet dan singlet. Keadaan eksitasi triplet dari ketoprofen melibatkan dua macam tipe reaksi, yaitu transfer hydrogen atau electron (reaksi tipe I) dan transfer energy dari triplet



Gambar 1. Kurva baku tirosin



Gambar 2. Kurva hubungan lama pejanan lampu UV terhadap absorbansi tirosin sisa

Tabel III. Absorbansi tirosin sisa pada masing-masing kelompok perlakuan setelah penyinaran 4 jam diukur pada λ 492 nm

Replikasi	Absorbansi perlakuan					
	P ₁	P ₂	P ₃	P ₄	P ₅	P ₆
1	0,586	0,540	0,676	0,592	0,606	0,573
2	0,580	0,545	0,676	0,590	0,591	0,565
3	0,586	0,544	0,678	0,593	0,614	0,575
4	0,581	0,543	0,661	0,592	0,617	0,585
5	0,579	0,537	0,671	0,595	0,615	0,575
6	0,578	0,536	0,684	0,594	0,611	0,568
Rerata	0,582	0,541	0,674	0,593	0,609	0,574
Standar Deviasi	0,004	0,004	0,008	0,002	0,010	0,007
Standar Deviasi Relatif (%)	0,602	0,696	1,151	0,30	1,58	1,207

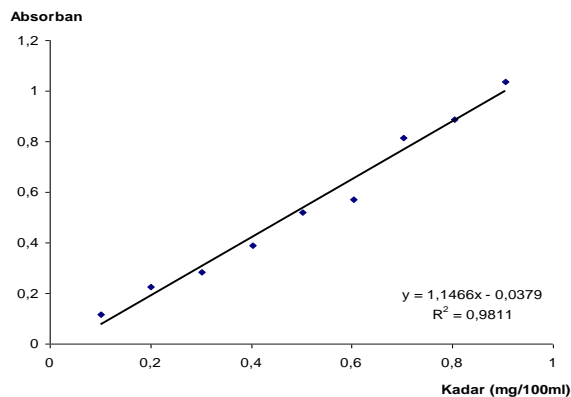
Keterangan : P₁ : Tirosin; P₂ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen; P₃ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen dan ekstrak air daun teh; P₄ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen dan ekstrak air buah mahkota dewa; P₅ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen dan ekstrak etanol rimpang temu kunci; P₆ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen dan vitamin C

tereksitasi ke oksigen yang dapat menghasilkan oksigen singlet (reaksi tipe II).

Metode Millon (Millon test) digunakan pada penetapan tirosin sisa dan merupakan metode spesifik untuk pengujian tirosin (satu satunya asam amino yang memiliki gugus fenol). Pada metode ini, mula mula gugus fenol pada tirosin dinitrasi dengan asam nitrat dari reaksi natrium nitrit dan asam sulfat (Aroca et al, 1993).

Pengaruh Tiga Jenis Ekstrak dan Vitamin C terhadap Fotodegradasi Tirosin

Hasil pengukuran absorbansi tirosin sisa pada berbagai kelompok perlakuan disajikan pada tabel IV dan hasil analisis statistik menunjukkan bahwa ketiga ekstrak mampu menghambat secara signifikan fotodegradasi tirosin yang diinduksi ketoprofen. Penghambatan paling tinggi terjadi pada ekstrak air teh kemudian ekstrak etanol



Gambar 3. Kurva baku asam galat

Tabel V. Kadar fenolik total ekstrak yang dihitung sebagai % b/b EAG

Repli Kasi	Absorbansi			Kadar (% b/b EAG)		
	Teh	M.dewa	T. kunci	Teh	M.dewa	T. kunci
1	0,840	0,42	0,570	30,50	8,28	7,05
2	0,816	0,41	0,591	29,67	8,26	7,29
2	0,772	0,44	0,580	28,14	8,71	7,17
4	0,827	0,40	0,559	30,05	7,91	6,92
5	0,808	0,41	0,566	29,39	8,26	7,00
6	0,827	0,42	0,583	30,05	8,35	7,20
	\bar{X}			29,64	8,29	7,11
	$\bar{X} \pm LE$			29,64 ± 0,86	8,29 ± 0,27	7,11 ± 0,15
	CV (%)			2,78	3,08	1,9

temu kunci dan ekstrak air buah mahkota dewa. Aktivitas inhibisi ekstrak dibanding vitamin C :

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak air daun the} &= \frac{P3-P2}{P6-P2} = \frac{0,674-0,041}{0,574-0,541} \\ &= \frac{0,133}{0,033} = 4,03 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak air Buah Mahkota Dewa} &= \frac{P4-P2}{P6-P2} = \frac{0,593-0,541}{0,574-0,541} \\ &= \frac{0,523}{0,033} = 1,58 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Ekstrak etanol rimpang temu kunci} &= \frac{P5-P2}{P6-P2} = \frac{0,609-0,541}{0,574-0,541} \\ &= \frac{0,068}{0,033} = 2,06 \end{aligned}$$

(Keterangan : P₁ : Tirosin, P₂ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen, P₃ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen dan ekstrak air daun the, P₄ : Tirosin dengan penambahan

ketoprofen dan ekstrak air buah mahkota dewa, P₅ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen dan ekstrak etanol rimpang temu kunci, dan P₆ : Tirosin dengan penambahan ketoprofen dan vitamin C. Nilai P₁, P₂, P₃, P₅ dan P₆ dari rata rata replikasi 5 kali)

Hasil uji statistika ANAVA dan Tukey antara P₂, P₃ berbeda secara signifikan dengan mean difference (I-J) dari hasil perhitungan diketemukan 0,50333 (lebih besar dari table 0,05) dengan tingkat kepercayaan 95 %.

Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak

Pembuatan kurva baku asam galat dengan seri kadar (9 kadar, 0,1005 s/d 0,9045 mg/100 ml) terhadap absorbansi pada panjang gelombang 750 nm. Dari data diperoleh persamaan regresi y = 1,146x - 0,037 (x = kadar asam galat dalam mg/100 ml dan y = Absorbansi) dan nilai koefisien korelasinya 0,99 (rhitung) yang lebih besar dari r table untuk n = 9; P = 0,95 sebesar 0,666, sehingga persamaan kurva baku diatas dapat digunakan untuk menghitung kadar fenolik total dalam ke tiga jenis ekstrak pada penelitian ini. Kurva baku ini disajikan pada Gambar 3.

Kandungan senyawa fenolik total diekspresikan dengan % b/b ekivalen asam galat (EAG) karena belum diketahuinya struktur kimia senyawa fenolik pada ketiga jenis ekstrak. Kandungan fenolik total terbesar terdapat pada ekstrak air daun teh kemudian berturut-turut ekstrak buah mahkota dewa dan ekstrak etanol rimpang temu kunci. Table V menyajikan hasil kandungan senyawa fenolik total dari ekstrak teh, temu kunci dan mahkota dewa.

Kadar fenolik total ekstrak mahkota dewa lebih tinggi daripada ekstrak temu kunci, namun aktivitas inhibisi fotodegradasinya lebih kecil. Hal ini dikarenakan ekstrak mahkota dewa mengandung senyawa polifenol yang mampu mereduksi reagen fenol tetapi tidak mampu menghambat fotodegradasi tirosin.

KESIMPULAN

Ekstrak daun teh mempunyai aktivitas inhibisi fotodegradasi tirosin tertinggi dibanding ekstrak buah mahkota dewa dan temu kunci. Tingkat aktivitas ini proporsional dengan kandungan fenolik total ekivalen asam galat (EAG) yang diukur menggunakan metode Folin-Ciocalteu.

Ekstrak air daun teh, ekstrak air buah mahkota dewa, dan ekstrak etanol rimpang temu kunci memiliki kandungan fenolik total $29,64 \pm 0,86$ %; $8,29 \pm 0,27$ %; dan $7,11 \pm 0,15$ % EAG. Sedangkan aktivitas penghambatan fotodegradasi tirosin berturut turut adalah 4,03 (teh); 2,09 (temu kunci) dan 1,58 kali (mahkota dewa) lebih besar dibanding vitamin C pada kadar yang sama yaitu 0,15 %.

UCAPAN TERIMAKASIH

Kami ucapkan terimakasih kepada Bapak Dekan Fakultas Farmasi Prof. Dr. Subagus Wahyuono, M.Sc., Apt. atas inspirasi awal penelitian ini dan Bapak Prof. Dr. Kuswandi, M.Phil., Apt. atas dukungan morilnya. Kami juga mengucapkan terimakasih kepada Bapak Dr. Ir. Sindu Nuranto, M.Eng. dan dr. Intan Farida Yasmin atas kesediaan mendampingi saat penelitian ini berlangsung.

DAFTAR PUSTAKA

Al-Saikhan, M.S., Howard, L.R. dan Miller Jr, J.C., 1995, Antioxidant activity and Total Phenolics in Different Genotypes of Potato (*Solanum tuberosum* L.), *J. Food Science*, 60(2), 341-342.

Aroca, A., Byrem, T.M., Nair, M.G. & Strasburg, G.M., 2000, Modulation of Liposomal Membrane

Fluidity by Flavonoids and Isoflavonoids, *Arch. Biochem. Biophys.*, **373**, 102-109.

- Barel, A.O. dkk., 2001, *Handbook of Cosmetic Science and Technology*, 299-306, Marcel Dekker, Inc., New York.
- Emerit, I., Packer, L., Auclair, C., 1990, *Antioxidant in Therapy and Preventive Medicine*, 533-536, Plenum Press, New York.
- Farmiati, B., 2000, Uji Toksisitas dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BST) dan Identifikasi Katekin dalam Beberapa Produk Teh Hijau, *Skripsi*, 9-10, Fakultas Farmasi UGM.
- Halliwell, B. dan Gutteridge, J.M.C., 1999, *Free Radical in Biology and Medicine*, 1-231, 353-425, Oxford University Press, New York.
- Irianti, T., Yosi, MB., Farida S., dan Kanistri DN., 2013, Aktivitas Penangkapan Radikal 2-2' Difenil-1-Pikril Hidrazil (DPPH) Fraksi Air Dari Ekstrak Etanolik Bunga Kecombrang dan Buah Talok (*Muntingia calabura*, L.), *Jurnal Bahan Alam Indonesia* Vol. 8 No. 6, halaman 276-383.
- Irianti, T., Puspitasari A., dan Machwiyah L., 2013, Aktivitas Penangkapan Radikal 2-2' Difenil-1-Pikril Hidrazil (DPPH) Fraksi Air dan terhidrolisisnya dari Ekstrak Etanolik daun Mengkudu, *Jurnal Bahan Alam Indonesia* Vol. 8 No. 5, halaman 302-309.
- Irianti, T., Yosi, MB., Kanistri DN., Pratiwi DR., Kuswandi dan Kusumaningtyas RA., 2016, Pengaruh Hidrolisis Asam dan basa pada Aktivitas Penangkapan Radikal 2-2' Difenil-1-Pikril Hidrazil (DPPH) pada Fraksi Air Dari Ekstrak Buah Talok (*Muntingia calabura*, L.), *Majalah Obat Tradisional* Vol. 21 No. 1, halaman 38-47.
- Sang, S., Tian S., Wang, H., Stark, R.E., Rosen, R.T., Yang, C.S., dan Ho, C.T., 2003, Chemical Studies of the Antioxidant Mechanism of Tea Catechins : Radical Reaction Products of Epicatechin with Peroxyl Radical, *J Bioorganic & Medical Chemistry*, 1, 3371-3378.
- Shindo, K., Kato, M., Kinoshita, A., Kobayashi, A., Koike, Y., 2006, Abstrak, Analysis of Antioxidant Activities Contained in the *Boesenbergia pandurata* Schult. Rhizome, *Biosci Biotechnol Biochem.*;70(9), 2281-4.
- Spielmann, H., dkk., 2000, *In vitro phototoxicity testing*, *ATLA* **28**, 777-814.
- Suhartono, E., dkk., 2006, Perbandingan antara Aktivitas Inhibisi Gel Lidah Buaya (*Aloe Vera*) dengan Vitamin C Pada Fotodegradasi Tirosin yang Diinduksi Ketoprofen, *Majalah Obat Tradisional* 11, 33-7.

- Tewtrakul, S., Subhadhirasakul, S., Puripattanavong, J., Panphadung, T, 2003, HIV-1 Protease Inhibitory Substances from the Rhizomes of *Boesenbergia pandurata* Holtt., *Songklanakar J. Sci. Technol.*, 25(4), 503-508.
- Thiele, J.J., Dreher, F., Packer, L., 2000, Antioxidant Defense Systems in Skin, in Eisner P., Maibach, H.I. (Eds), *Cosmeceuticals: Drugs vs. Cosmetics*, 145-187, *Marcel Dekker*, New York.
- Zin, Z.M., Hamid, A.A., Osman, A., dan Saari, N., 2004, Antioxidative Activities of Chromatographic Fractions Obtained from Root, Fruit, and Leaf of Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), *Food Chem.*, 94, 169-178.