



**PENGARUH EKSTRAK BUAH JERUK (*Citrus reticulata*)
TERHADAP AKTIVITAS TIROSINASE (EC 1.14.18.1)**

SKRIPSI

Diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh

**ARIE ANGGRAINI
NIM 042210101073**

**PROGRAM STUDI FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2008**

MOTTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Maka apabila kamu telah selesai (dari sesuatu urusan), kerjakanlah dengan sungguh-sungguh (urusan) yang lain, dan hanya kepada Tuhanmulah hendaknya kamu berharap.

(QS. Alam Nasyrah : 6-8)

Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal.

(QS. Ali 'Imran : 190)

Aku (Allah) adalah menurut persangkaan hamba-Ku kepada-Ku dan Aku bersamanya sepanjang ia ingat kepada-Ku.

(Hadist)

Pengalaman bukanlah guru terbaik, namun belajar dari pengalaman adalah sebaik-baik pelajaran.

(Arie)

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Sang Pencipta Allah SWT.
2. Ayahanda Achmad Hasan dan Ibunda Masrohah tercinta, kuhaturkan terima kasih yang tak terhingga atas segala pengorbanan, kasih sayang dan doa yang terus mengalir.
3. Kakak-kakak, adik, sahabat, dan teman dalam hidupku yang telah memberikan semangat, doa serta bantuannya.
4. Guru-guru sejak TK sampai PT atas kesabarannya dalam membimbing dan menyalurkan ilmunya.
5. Almamater Program Studi Farmasi Universitas Jember.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Arie Anggraini

NIM : 042210101073

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul : *Pengaruh Ekstrak Buah Jeruk (Citrus reticulata) terhadap Aktivitas Tirosinase (EC 1.14.18.1)* adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, dan belum pernah diajukan pada instansi manapun, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 Oktober 2008

Yang menyatakan,

Arie Anggraini
NIM : 042210101073

SKRIPSI

**PENGARUH EKSTRAK BUAH JERUK (*Citrus reticulata*)
TERHADAP AKTIVITAS TIROSINASE (EC 1.14.18.1)**

Oleh

Arie Anggraini
NIM 042210101073

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Dr. Ir. Miswar, M.Si

Dosen Pembimbing Anggota : Ayik Rosita P., S.Farm., Apt.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul *Pengaruh Ekstrak Buah Jeruk (Citrus reticulata) terhadap Aktivitas Tirosinase (EC 1.14.18.1)* telah diuji dan disahkan oleh Program Studi Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Jum'at
Tanggal : 24 Oktober 2008
Tempat : Program Studi Farmasi

Tim Penguji

Ketua,

Sekretaris,

Dr. Ir. Miswar, M.Si.
NIP 131 880 473

Ayik Rosita P., S.Farm., Apt.
NIP 132 320 310

Anggota I,

Anggota II,

Fifteen Aprila F., S.Farm., Apt.
NIP 132 320 308

Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt.
NIP 132 320 307

Mengesahkan

a.n. Ketua Program Studi Farmasi Universitas Jember
Sekretaris I,

Nuri, S.Si., Apt., M.Si.
NIP. 132 296 978

RINGKASAN

Pengaruh Ekstrak Buah Jeruk (*Citrus reticulata*) terhadap Aktivitas Tirosinase (EC 1.14.18.1); Arie Anggraini, 042210101073; 2008; 56 halaman; Program Studi Farmasi Universitas Jember.

Tirosinase (EC 1.14.18.1) merupakan enzim utama dalam proses biosintesis melanin yaitu pigmen yang berperan penting dalam menentukan warna kulit. Tirosinase mengkatalisis oksidasi L-tirosin menjadi dopakrom dalam dua tahap berbeda yaitu aktivitas kresolase dan aktivitas katekolase. Tahap pertama atau aktivitas kresolase adalah hidroksilasi L-tirosin menjadi L-dopa dan tahap kedua adalah aktivitas katekolase atau oksidasi L-dopa menjadi dopakuinon. Hambatan terhadap aktivitas tirosinase akan menyebabkan melanin berkurang atau tidak terbentuk sehingga bahan yang dapat menghambat aktivitas tirosinase dapat digunakan sebagai pemutih kulit.

Vitamin C atau asam askorbat merupakan salah satu senyawa yang dapat menghambat aktivitas tirosinase secara kompetitif melalui aktivitas antioksidan yang akan mengurangi terbentuknya dopakuinon. Dalam rangka pengembangan pemanfaatan bahan alam sebagai bahan pemutih kulit yang aman dan dengan efek samping minimal, maka dilakukan pengujian pengaruh ekstrak buah jeruk (*Citrus reticulata*) yang mengandung vitamin C sebesar 64,416 mg per 100 gram buah terhadap aktivitas tirosinase.

Pengujian aktivitas ekstrak buah jeruk dilakukan secara *in vitro* dengan metode spektrofotometrik. Kinetika dan pola pengaruh ekstrak buah jeruk ditentukan dengan mengamati nilai absorpsi produk (dopakrom) yang dihasilkan dari reaksi tirosinase dan substrat L-tirosin menggunakan spektrofotometer. Nilai absorpsi digunakan untuk mendapatkan parameter kinetika aktivitas tirosinase yaitu K_m dan V_{maks} . Dari persamaan kurva Lineweaver-Burk aktivitas tirosinase terhadap berbagai konsentrasi L-tirosin, diperoleh harga K_m 0,315 mM dan V_{maks} 0,027 $\mu\text{mol}/\text{menit}$. Dengan

adanya ekstrak buah jeruk dengan konsentrasi 2,5%; 5%; dan 10% b/v, diperoleh harga K_m berturut-turut adalah 0,734; 0,759; dan 6,214 mM dan nilai V_{maks} berturut-turut adalah 0,026; 0,023; 0,052 $\mu\text{mol}/\text{menit}$. Kurva Lineweaver Burk yang dihasilkan ekstrak buah jeruk terhadap kurva reaksi enzimatik tanpa ekstrak buah jeruk menunjukkan bahwa pola pengaruh ekstrak buah jeruk terhadap aktivitas tirosinase adalah hambatan kompetitif. Nilai % inhibisi ekstrak buah jeruk terhadap aktivitas tirosinase menurun dengan meningkatnya konsentrasi L-tirosin dan menunjukkan pola penghambatan kompetitif.

Hambatan kompetitif ekstrak buah jeruk terhadap aktivitas tirosinase diduga disebabkan oleh vitamin C. Analisis Probit terhadap hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan vitamin C dalam ekstrak buah jeruk yang dapat memberikan % inhibisi sebesar 50 adalah sebesar 0,130 mM. Vitamin C digunakan sebagai pembanding dan penentuan nilai % inhibisi terhadap 0,139 mM vitamin C menghasilkan nilai % inhibisi sebesar 41,67. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat senyawa lain dalam ekstrak buah jeruk yang dapat meningkatkan pengaruh hambatan aktivitas tirosinase dan senyawa yang diperkirakan turut memberikan pengaruh hambatan aktivitas tirosinase adalah flavonid nobiletin, naringin, dan neohesperidin. Untuk mengetahui senyawa-senyawa dalam ekstrak buah jeruk yang dapat menghambat aktivitas tirosinase, diperlukan penelitian lebih lanjut efek senyawa-senyawa hasil isolasi ekstrak buah jeruk terhadap aktivitas tirosinase.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini yang berjudul *Pengaruh Ekstrak Buah Jeruk (Citrus reticulata) terhadap Aktivitas Tirosinase (EC 1.14.18.1)*. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Program Studi Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, oleh karena itu penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada :

1. Drs. Bambang Kuswandi, M. Sc., Ph. D selaku Ketua Program Studi Farmasi dan Ari Satia Nugraha, S.F., Apt serta Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama menjadi Mahasiswa;
2. Dr. Ir. Miswar, M.Si selaku dosen pembimbing utama dan Ayik Rosita P., S.Farm., Apt selaku dosen pembimbing anggota yang dengan penuh kesabaran memberikan pengarahan, bimbingan, dan saran dalam penulisan skripsi ini;
3. Fifteen Aprila F., S.Farm., Apt.; Yuni Retnaningtyas, S.Si., Apt., dan Nia Kristiningrum, S.Farm., Apt. sebagai dosen penguji yang banyak memberikan kritik, saran dan masukan yang membangun dalam penulisan skripsi ini;
4. Ayah dan Ibuku, atas kasih sayang dan doa yang terus mengalir serta segala pengorbanan selama ini;
5. Kakakku Arief dan Aries serta adikku Arul, keributan dan keceriaan yang kalian ciptakan selalu menyemangatiku, juga segenap keluarga terima kasih atas doa dan bantuannya;
6. Rekan kerjaku Siti Nur Asiyah, teman-temanku Veryst, Diah, Unin, Hilmi, Yudi THP, teman-teman seperjuangan di Lab. Kimia dan Biomedik farmasi serta rekan-rekan 2004 yang tidak dapat disebutkan satu persatu. Terima kasih atas seluruh perhatian, dukungan dan bantuan kalian;
7. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna sehingga saran dan kritik dari semua pihak diterima dengan senang hati demi kesempurnaan penulisan skripsi ini. Akhirnya penulis berharap, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua. Amin.

Jember, Oktober 2008

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN MOTTO	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1 . PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Batasan Masalah	4
1.4 Tujuan penelitian	4
1.5 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kulit	5
1.1.1 Tinjauan Umum Kulit	5
1.1.2 Melanogenesis.....	6
2.2 Tirosinase	8
2.3 Kinetika Reaksi Enzimatik	9
2.4 Pola penghambatan Enzim	12
2.5 Mekanisme Pemutihan Kulit	13

2.6 Jeruk	14
2.6.1 Taksonomi Jeruk	14
2.6.2 Kandungan Kimia	15
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	17
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	17
3.2.1 Bahan Penelitian	17
3.2.2 Alat Penelitian	17
3.3 Tahapan penelitian	17
3.3.1 Penyiapan Larutan.....	17
a. Penyiapan larutan Tirosinase.....	18
b. Penyiapan Larutan L-tirosin	18
c. Penyiapan Ekstrak Buah Jeruk.....	18
d. Penyiapan larutan Asam Askorbat	18
3.3.2 Penentuan Kadar Vitamin C dalam Ekstrak Buah Jeruk.....	18
3.3.3 Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Dopakrom	19
3.3.4 Optimasi Waktu Inkubasi	19
3.3.5 Penentuan Parameter Kinetika Aktivitas Tirosinase.....	19
3.3.6 Penentuan Kinetika dan Pola Pengaruh Ekstrak Buah Jeruk..	20
3.3.7 Penentuan Persen Inhibisi Asam Askorbat	21
3.4 Analisis Data	21
3.4.1 Penentuan Kadar Vitamin C	21
3.4.2 Penentuan Kinetika dan Pola Pengaruh Ekstrak Buah Jeruk..	21
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1. HASIL	24
4.1.1. Penentuan Kadar Vitamin C dalam Ekstrak Buah Jeruk.....	24
4.1.2. Hasil Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Dopakrom.....	24

4.1.3. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi.....	25
4.1.4. Hasil Penentuan Parameter Kinetika Aktivitas Tirosinase.....	26
4.1.5. Hasil Penentuan Kinetika dan Pola Pengaruh Ekstrak Buah Jeruk..	27
4.1.6. Hasil Penentuan Persen Hambatan Asam Askorbat	29
4.2 PEMBAHASAN	30
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1. KESIMPULAN	36
5.2. SARAN	36
DAFTAR PUSTAKA.....	38
LAMPIRAN	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Komposisi pereaksi penentuan parameter kinetika aktivitas tirosinase	20
2. Komposisi pereaksi untuk penentuan kinetika dan pola hambatan ekstrak buah jeruk.....	20
3. Data Penentuan Parameter Kinetika Aktivitas Tirosinase.....	26
4. Resiprokal aktivitas reaksi enzimatik dalam berbagai konsentrasi L-tirosin dengan dan tanpa ekstrak buah jeruk	28
5. Harga parameter kinetika aktivitas tirosinase dengan dan tanpa ekstrak buah jeruk.....	29
6. Data nilai % inhibisi ekstrak buah jeruk.....	29

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Diagram melanosit	7
2. Skema biokimia pembentukan melanin	9
3. Kurva Michaelis-Menten.....	11
4. Kurva hubungan Lineweaver-Burk.....	12
5. Kuva lineweaver-Burk pola penghambatan enzim.....	13
6. Mekanisme penghambatan vitamin C terhadap enzim tirosinase.....	16
7. Hasil optimasi panjang gelombang maksimum dopakrom	25
8. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi	25
9. Kurva Michaelis-Menten penentuan parameter kinetika aktivitas tirosinase	26
10. Kurva Lineweaver-Burk penentuan parameter kinetika aktivitas tirosinase	27
11. Kurva Lineweaver-Burk ekstrak buah jeruk	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Identifikasi Jeruk	41
B. Hasil Optimasi Panjang Gelombang Maksimum Dopakrom	42
C. Hasil Optimasi Waktu Inkubasi.....	43
D. Laju Pembentukan Dopakrom.....	44
E. Laju Pembentukan Dopakrom dengan Ekstrak Buah Jeruk	45
F. Nilai Absorpsi Dopakrom dengan Asam Askorbat	47
G. Hasil Analisis Probit	48
H. Certificate of Analysis Tirosinase	51
I. Certificate of Analysis Asam Askorbat	52
J. Dokumentasi Penelitian	54