Volume 10, No.3, Agustus 2026: 290-304

POTENSI EKSTRAK ETANOL JAMUR SUSU HARIMAU (*Lignosus Rhinocerus*) SEBAGAI INHIBITOR ENZIM TIROSINASE PENGHAMBAT HIPERPIGMENTASI

POTENTIAL OF ETHANOL EXTRACT OF L. RHINOCERUS (Lignosus Rhinocerus) AS TYROSINASE ENZYME INHIBITOR

Like Efriani[1*], Mariam Ulfah[1], Ade Irawan[1], Teguh Adiyas Putra[1], Ismanurrahman Hadi[1], Adinda Faaizah Husnul Khotimah[1], Ahmad Nursidik[1]

[1]Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Cirebon

ABSTRAK

Pendahuluan: Hiperpigmentasi adalah gangguan warna kulit yang berubah menjadi hitam atau cokelat kehitaman akibat produksi pigmen kulit berlebih yang dipicu oleh paparan sinar matahari. Salah satu cara untuk mengatasi hiperpigmentasi adalah dengan menghambat sintesis melanin menggunakan agen depigmentasi yang bekerja dengan menghambat aktivitas enzim tirosinase. Senyawa flavonoid dan fenolik adalah senyawa metabolit pada tumbuhan yang berpotensi menghambat aktivitas enzim tirosinase. Jamur susu harimau atau *Lignosus rhinocerus* (*L. rhinocerus*) mengandung banyak senyawa flavonoid, terpenoid, dan senyawa fenolik. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk menguji potensi penghambatan aktivitas enzim tirosinase dari ekstrak etanol *L. rhinocerus* secara in vitro. **Metode:** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen laboratorium dengan uji skrining fitokimia untuk alkaloid, flavonoid, saponin, steroid/triterpenoid, dan uji fenolik. Kemudian dilakukan uji fenolik total menggunakan standar asam galat dengan spektrofotometri Vis dengan panjang gelombang λ 750 nm. Selanjutnya, dilakukan uji inhibisi enzim tirosinase pada ekstrak etanol jamur susu harimau. **Hasil:** Hasil uji skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak tersebut positif mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, dan metabolit sekunder fenolik, tetapi negatif mengandung senyawa tanin. Pengujian kandungan fenolik total ekstrak *L. rhinocerus* mengandung 44,93 mg GAE/g. Aktivitas inhibisi ekstrak etanol *L. rhinocerus* menunjukkan hasil IC_{50} sebesar 69.292 ppm yang termasuk dalam kategori sedang. Sementara itu, nilai IC_{50} standar asam kojik yang digunakan adalah 13.585 ppm yang memiliki aktivitas inhibisi kategori tinggi. **Kesimpulan:** Dari hasil analisis data, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,025 ($p<0,05$), yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada hasil penghambatan enzim tirosinase antara kelompok *L. rhinocerus* dan asam kojik.
Kata Kunci: Jamur susu harimau, Lignosus rhinocerus, Inhibitor enzim tirosinase

ABSTRACT

Background:*Hyperpigmentation is a skin color disorder that turns black or blackish brown due to excess skin pigment production triggered by exposure to sunlight. One way to overcome hyperpigmentation is by using the principle of inhibiting melanin synthesis using a depigmentation agent which works by inhibiting the activity of the tyrosinase enzyme.* ***Objective:*** *This research is to examine the potential for inhibiting the activity of the tyrosinase enzyme from the ethanol extract of L. rhinocerus in vitro.* ***Method:*** *The research are laboratory experimental with phytochemical screening tests for alkaloids, flavonoids, saponins, steroids/triterpenoids and phenolic tests. Then proceed with testing the total phenolic content using the gallic acid standard using spectrophotometry. Vis with a wavelength of λ 750 nm. Next,*

a tyrosinase enzyme inhibition test was carried out on the ethanol extract of tiger milk jamjur. ***Result:*** *The phytochemical screening test showed that it was positive for containing alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid and phenolic secondary metabolite compounds but negative for containing tannin compounds. Testing the total phenolic content of L. rhinocerus extract contained 44.93 mg GAE/g. The inhibitory activity of L. rhinocerus ethanol extract showed an IC50 result of 69,292 ppm which was included in the moderate category. Meanwhile, the IC50 value of the standard kojic acid used is 13,585 ppm which has high category inhibitory activity.* ***Conclusion:*** *From the results of data analysis, a significance value of 0.025 ($p<0.05$) was obtained, which means that there was a significant difference in the results of tyrosinase enzyme inhibition between the L. rhinocerus and kojic acid groups.*
Keywords: *Tiger milk mushroom, Lignosus rhinocerus, Tyrosinase enzyme inhibitor.*

Jl Ir. Soekarno Sampiran Talun, Kabupaten Cirebon, Jawa Barat.
Like Efriani; Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Cirebon, Jl. Cideng Indah No.3A, Kertawinangun, Kec. Kedawung, Kabupaten Cirebon, Jawa Barat. 085311350088. apt.likeefriani@gmail.com

PENDAHULUAN

Indonesia adalah negara dengan iklim tropis yang memiliki radiasi ultraviolet (UV) tertinggi (1). Paparan sinar UV yang terus menerus dan jangka panjang akan mengakibatkan hiperpigmentasi (2). Hiperpigmentasi adalah perubahan warna kulit menjadi hitam atau cokelat kehitaman akibat peningkatan jumLah melanin di lapisan kulit karena peningkatan aktivitas enzim tyrosinase (3). Tirosinase adalah enzim utama yang bertanggung jawab atas pembentukan melanin oleh melanosit melalui proses melanogenesis (4). Jika terjadi peningkatan sintesis melanin, maka akan mengakibatkan hiperpigmentasi yang menyebabkan gangguan kulit seperti warna kulit tidak merata, melasma, dan risiko kanker kulit (5). Peningkatan melanin yang mengakibatkan hiperpigmentasi dapat dicegah dengan menggunakan agen depigmentasi melalui prinsip penghambatan sintesis melanin yang bekerja dengan menghambat aktivitas enzim tirosinase. Agen depigmentasi yang banyak digunakan di pasaran saat ini adalah hidrokuinon, asam kojik, aleosin, merkuri, dan solano (6) , tetapi penggunaan jangka panjang bahan kimia ini menyebabkan iritasi kulit (4) dan bahkan efek berbahaya seperti karsinogenesis dan mutagenesis (7). Untuk meminimalkan efek samping ini, perlu dicari agen depigmentasi sebagai penghambat enzim tirosinase yang berasal secara alami dari tumbuhan. Enzim tirosinase dapat dihambat oleh senyawa alami dari tumbuhan termasuk flavonoid dan senyawa fenolik. Kemampuan senyawa flavonoid untuk menghambat enzim tirosinase melalui mekanisme penghambatan kompetitif dengan substratnya (8). Sementara itu, senyawa fenolik memiliki kemampuan

untuk mengkelat Cu^{2+}. Cu^{2+} adalah kofaktor yang membantu substrat mengikat enzim tirosinase. Jika kemampuan enzim untuk mengikat substratnya berkurang, melanin tidak akan terbentuk dan hiperpigmentasi dapat dicegah (9).

Indonesia adalah negara tropis yang memiliki beragam tanaman. Jamur susu harimau atau *Lignosus rhinocerus* (*L. rhinocerus*) banyak ditanam dan dibudidayakan di Indonesia, bahkan Indonesia merupakan produsen *L. rhinocerus* terbesar di dunia. Tanaman ini tumbuh liar di hutan Kalimantan dan Papua (10). *L. rhinocerus* secara tradisional digunakan untuk mengobati kanker, tukak usus, pembengkakan di sekitar mata dan tubuh, asma, dan sistem kekebalan tubuh (11). *L. rhinocerus* banyak digunakan karena mengandung banyak senyawa alkana, asam lemak, karbohidrat, fenolik, dan flavonoid (12).

L. rhinocerus dilaporkan mengandung banyak senyawa flavonoid, dengan nilai konsentrasi total sebesar 33,041 mgEQ/g (11). Kadar ini dua kali lebih tinggi dari kandungan flavonoid total dalam jus apel, yaitu 15,55 mgEQ/g, di mana apel memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi karena senyawa flavonoid yang terkandung di dalamnya (13). Hal ini menunjukkan bahwa *L. rhinocerus* berpotensi sebagai agen depigmentasi untuk menghambat enzim tirosinase, namun belum ada penelitian mengenai hal ini dan belum ada penelitian yang melaporkan kandungan fenolik total *L. rhinocerus*.

METODE

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Cirebon.

Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini meliputi oven (Mommert Ecocell 55), evaporator putar (Buchi 1900), penangas air (RRC), Spektrofotometri Mikroplat (Agillent Biotek Epoch), dan Pembaca ELISA mikroplat.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96% (Pro Analisys), asam sulfat, reagen Mayer dan Wagner, amonia, H_2SO_4, $FeCl_3$, buffer fosfat, asam kojik, L-Tirosinase dan larutan buffer fosfat sebagai pelarut.

Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu sklerotium *L. Rhinocerus* yang diperoleh dari Kota Baru, Kalimantan Selatan.

Tahapan/Jalannya Penelitian

Bagian dari *L. rhinocerus* digunakan sklerotium. Sampel sklerotium disortir basah lalu dikeringkan di udara. Selanjutnya, dipotong tipis-tipis dan dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain hitam (14). Kemudian disortir kering untuk memisahkan polutan dan kemudian dihancurkan menggunakan penggiling untuk mendapatkan bubuk simplisia kering. Bubuk halus *L. rhinocerus* dimaserasi menggunakan pelarut etanol selama 3x24 jam dengan rasio pelarut 1:5. Setiap 1x24 jam dilakukan remaserasi dan penyaringan hingga diperoleh maserat yang kemudian dipekatkan menggunakan evaporator putar pada suhu 40˚C untuk mendapatkan ekstrak pekat (15).

Uji Alkaloid

Sebanyak 0,5 g ekstrak *L. rhinocerus* ditambahkan dengan 2 mL kloroform, 10 mL amonia, dan 10 mL H_2SO_4, kemudian dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan H_2SO_4 yang terbentuk dipindahkan ke dalam 2 tabung reaksi berbeda dengan volume masing-masing 2,5 mL. Pada tabung pertama, ditambahkan 3 tetes reagen Mayer hingga terbentuk endapan putih. Pada tabung kedua, ditambahkan 3 tetes reagen Wagner hingga terbentuk endapan cokelat (16).

Uji Flavonoid

Sebanyak 0,5 g ekstrak *L. rhinocerus* dilarutkan dalam 30 mL aseton, kemudian dibagi menjadi 3 bagian, lalu ditambahkan 2 mL reagen NaOH 10%. Amati perubahan yang terjadi (16).

Uji Saponin

Sebanyak 0,5g *L. rhinocerus* Ekstrak dilarutkan dalam 30 mL aseton. Kemudian, 5 mL air suling ditambahkan dan dikocok. Setelah itu, beberapa tetes HCl ditambahkan. Kemudian dikocok dengan kuat hingga terbentuk busa setinggi 1 cm (16).

Uji Steroid / Triterpenoid

0,5 g ekstrak *L. rhinocerus* diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 2 mL H_2SO_4 pekat. Larutan dikocok dan dibiarkan selama beberapa menit hingga terjadi perubahan warna. Kehadiran larutan berwarna biru hingga hijau

menunjukkan hasil uji steroid positif (16).

Uji Fenol

0,5 g *L. rhinocerus* Ekstrak diambil dan ditambahkan 3-4 tetes $FeCl_3$. Perubahan warna dari hitam kebiruan menjadi hitam pekat menunjukkan adanya fenol (16).

Uji kadar Total Fenol

Sebanyak 1 mg/L *L. rhinocerus* Ekstrak etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 0,1 mL reagen Folin-Ciocalteau dan di-vortex selama 3 menit, kemudian ditambahkan 2 mL larutan Na_2CO_3 dan di-vortex lagi. Campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar dan dalam keadaan gelap. Absorbansi ekstrak dibaca pada panjang gelombang λ 750 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (17). Asam galat digunakan sebagai standar untuk menentukan kandungan fenolik total untuk kurva standar dengan konsentrasi 7,8125, 15,625, 31,25, 62,5, 125, 250, 500, 1000 ppm. Kurva standar untuk asam galat diperlakukan sama seperti menentukan λ max dan absorbansi diukur pada panjang gelombang λ 750 nm (18). Kandungan fenolik total dinyatakan dalam miligram setara asam galat per gram ekstrak (mg GAE/g) (19). Perhitungan kandungan fenolik menggunakan rumus berikut:

$$\textit{Total phenol} = \frac{\mathbf{C \times V \times Fp}}{\mathbf{M}}$$

Catatan:

C = konsentrasi asam galat;

V = volume ekstrak;

M = berat ekstrak;

Fp = faktor pengenceran

Uji penghambatan enzim tirosinase.

Sebanyak 50 µL *L-Tirosinase* 1 mM, 50 µL larutan buffer fosfat 50 mM (pH 6,8), 20 µL larutan enzim tirosinase, dan 100 µl larutan sampel dimasukkan ke dalam mikropelat. Campuran diinkubasi selama 5 menit pada suhu kamar, kemudian absorbansi diukur menggunakan Elisa Microplate Reader pada panjang gelombang λ 490 nm. Uji blanko dilakukan tanpa penambahan enzim, yaitu 170 µL larutan buffer fosfat (pH 6,8). Kontrol negatif menggunakan campuran di atas tanpa sampel tambahan. Kontrol positif menggunakan asam kojik sebagai sampel pengganti. Langkah-langkah di atas dilakukan sebanyak tiga kali. Penentuan persentase aktivitas penghambatan enzim tirosinase sesuai dengan rumus berikut:

$$\textit{\% inhibition} = \frac{\textbf{Absorbance blank-absorbance sample}}{\textbf{absorbance blank}} \; x \; 100\%$$

Aktivitas penghambatan sampel uji ditentukan oleh IC_{50}, yaitu konsentrasi di mana sampel uji menghambat aktivitas

enzim tirosinase sebesar 50%, yang dihitung menggunakan persamaan berikut (20):

$$Y = a + bx$$

Catatan:

Y = variabel dependen;

x = variabel independen;

a = konstanta;

b = koefisien regresi

Analisa Data

Data dari pengujian enzim tirosinase, ekstrak etanol dari *L. rhinocerus* dengan asam kojik, diuji menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk melihat signifikansi antara kelompok uji untuk *L. rhinocerus* dan kelompok standar, yaitu asam kojik ($p<0,05$).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pemeriksaan fitokimia bertujuan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam *L. rhinocerus* yang berpotensi bertindak sebagai penghambat enzim tirosinase. Hasil uji pemeriksaan fitokimia *L. rhinocerus* menunjukkan bahwa tanaman tersebut mengandung alkaloid, flavonoid, steroid/triterpenoid, dan fenol. Namun, uji saponin menunjukkan hasil negatif. Hasil pemeriksaan fitokimia alkaloid menggunakan reagen Mayer menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan pembentukan endapan putih dan reagen Wagner ditandai dengan endapan cokelat.

Endapan ini merupakan hasil reaksi kompleks kalium-alkaloid. Alkaloid memiliki atom nitrogen yang berpasangan bebas yang akan membentuk ikatan kovalen dengan ion logam kalium (K^+) dari kalium tetraiodomercurat (ii) yang akan membentuk kompleks pengendali kalium-alkaloid. Sementara itu, endapan

Penelitian ini menggunakan bagian Sclerotium dari *L. rhinocerus.* yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol. Ekstraksi adalah proses pemisahan senyawa aktif menggunakan pelarut tertentu dengan tujuan memperoleh senyawa aktif dari sampel. Hasil ekstraksi yang diperoleh adalah 1,18% dari 600 g simplisia kering dan berat ekstrak kentalnya adalah 7,09 g. Hasil ekstraksi ditunjukkan pada Tabel 1. Tabel 1. Hasil Estrak etanol *L. rhinocerus*

Simplisa	Berat ekstrak tebal	Rendemen	Karakteristik ekstrak	
			Warna	Penampilan
600 g	7,09 g	1,18 %	Cokelat	Pekat

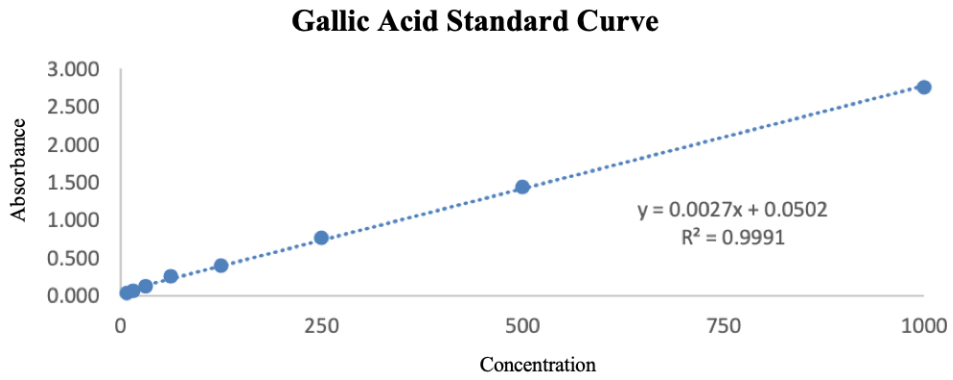
coklat pada reagen Wagner adalah ion I_3^- dari reaksi yodium dengan ion I^- dari kalium iodide (21). Uji fitokimia flavonoid menggunakan reagen NaOH menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan oleh pembentukan warna merah kecoklatan. Perubahan warna menjadi merah kecoklatan adalah hasil dari reaksi yang membentuk asetofenon. Perubahan warna merah menunjukkan bahwa flavonoid yang diuji adalah kelompok fenol (22). Uji saponin yang dilarutkan dalam air hangat menunjukkan hasil negatif. Hal ini ditunjukkan oleh tidak adanya busa setelah sampel dilarutkan dalam air hangat dan dikocok. Hasil uji skrining fitokimia steroid menggunakan reagen H_2SO_4 pekat menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan perubahan warna dari biru menjadi hijau tua. Perubahan warna ini disebabkan karena senyawa steroid/triterpenoid mampu membentuk warna dalam pelarut anhidrit asetat dan perubahan warna tersebut disebabkan oleh perbedaan atom C-4 (23). Penyaringan fitokimia fenol menggunakan reagen $FeCl_3$ menunjukkan hasil positif yang ditunjukkan oleh perubahan warna dari hitam kebiruan menjadi hitam pekat. Pembentukan warna hitam kebiruan atau hitam pekat ini merupakan peran ion Fe^{3+} yang mengalami hibridisasi (24). Hasil uji penyaringan fitokimia untuk *L. rhinocerus* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Uji skrining fitokimia ekstrak etanol *L. rhinocerus* .

Kelompok	Reaktor	Hasil	Informasi
Alkaloid	Mayer	+++	Terbentuk endapan berwarna putih.
	Wagner	+++	Terbentuk endapan berwarna cokelat.
Flavonoid	NaOH	+++	Terbentuknya warna merah kecoklatan
Saponin	Air hangat	-	Tidak ada busa setinggi 1 cm yang terbentuk.
Steroid/ Triterpenoid	H_2SO_4 pekat	+++	Pembentukan warna biru kehijauan
Fenol	$FeCl_3$	+++	Terbentuknya warna biru kehitaman hingga hitam pekat

Senyawa fenolik adalah senyawa terbesar yang ditemukan pada tumbuhan. Hasil pengujian kandungan fenolik total *L. rhinocerus* menggunakan

spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang λ 750 nm dan menggunakan asam galat sebagai standar. Penggunaan asam galat sebagai standar karena asam galat merupakan fenol alami yang diklasifikasikan sebagai senyawa fenolik yang berasal dari asam hidroksibenzoat sederhana. Asam galat merupakan senyawa fenolik yang stabil dan murni. Hasil kadar total senyawa fenolik dinyatakan dalam *Gallic Acid Equivalent* (GAE) (25). Hasil pengujian kandungan fenol total yang diperoleh adalah 44,93 mg GAE/g. Hasil antara asam galat dan absorbansi dinyatakan dalam persamaan y=0,0027x+0,0502 dan nilai R^2= 0,9991 (R^2<1) yang menyatakan bahwa persamaan regresi tersebut linear. Gambaran hubungan antara asam galat dan absorbansinya dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Kurva hubungan antara asam galat dan absorbansinya.

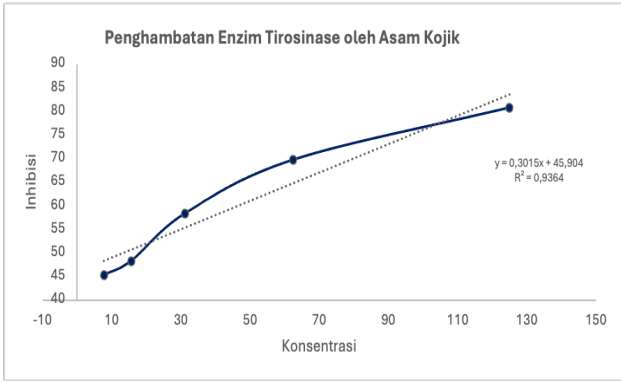
Pengujian aktivitas penghambatan ekstrak etanol *L. rhinocerus* pada enzim tirosinase menggunakan L-tirosinase sebagai substrat. Enzim tirosinase berperan dalam proses pembentukan pigmen kulit ketika berikatan dengan substratnya. Enzim ini mengatur biosintesis melanin yang akan menghidrolisis L-tirosinase menjadi L-DOPA dan akhirnya menjadi dopaquinon. L-tirosinase akan menghasilkan dopaquinon dan diubah menjadi dopakrom melalui reaksi autooksidasi sehingga menjadi dihidroksi-indol (DHI) atau asam dihidroksi-indol-karboksi-siklik (DHICA) untuk membentuk melanin yang menyebabkan hiperpigmentasi. Penghambatan enzim tirosinase ditandai dengan penurunan intensitas warna yang diukur karena penghambatan pembentukan dopakrom (26). Asam

kojik digunakan sebagai standar dalam uji penghambatan enzim tirosinase. Asam kojik dipilih sebagai standar karena memiliki stabilitas yang tinggi. Asam kojik dapat menghambat enzim tirosinase melalui pembentukan khelat tembaga (Cu^{2+}) pada situs aktif enzim. Khelat yang terbentuk berarti enzim tidak dapat mengikat substratnya sehingga melainin tidak dapat terbentuk (27).

Inhibisi enzim tirosinase dijelaskan melalui nilai IC_{50}, yaitu konsentrasi inhibitor 50% yang dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase. Semakin kecil nilai IC_{50} , semakin baik aktivitas penghambatannya. Uji inhibisi enzim tirosinase menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang λ 490 nm. Konsentrasi standar asam kojik yang digunakan adalah 7,81, 15,63, 31,25, 62,5 dan 125 ppm. Hasil uji inhibisi enzim tirosinase pada asam kojik menunjukkan hasil IC_{50} sebesar 13,585 ppm dengan nilai y=0,3015x+45,904 dan R^2=0,9364. Nilai IC_{50} sebesar 13.585 ppm menunjukkan bahwa penghambatan enzim tirosinase oleh asam kojik termasuk dalam kategori sangat kuat. Hasil uji penghambatan enzim tirosinase terhadap asam kojik menggunakan substrat L-Tirosinase ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Persentase penghambatan enzim tirosinase terhadap asam kojik menggunakan Substrat L-Tirosinase.

Konsentrasi	Inhibisi Rata-Rata	IC_{50}
7,81	45.345	13.585
15,63	48.267	
31,25	58.377	
62,5	69.741	
125	80.801	



Gambar 2. Kurva inhibisi enzim tirosinaseoleh asam kojik dengan substrat L-Tirosinase.

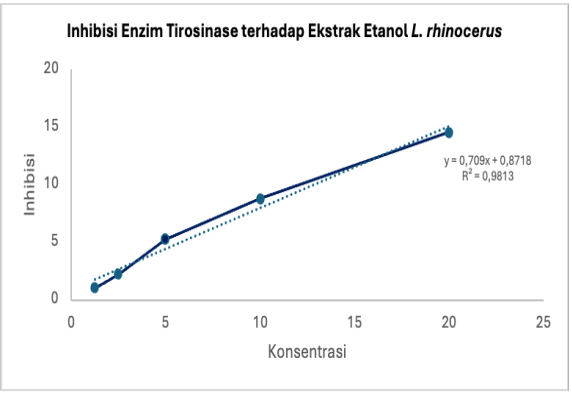
Hasil uji inhibisi enzim tirosinase pada ekstrak etanol *L. rhinocerus* dengan konsentrasi 1, 25, 2, 5, 5, 10, dan 20 ppm menunjukkan hasil IC_{50} sebesar 69,292 ppm dengan nilai y=0,709x+0,8718 dan R^2=0,9813. Nilai IC_{50} sebesar 69,292 ppm menunjukkan bahwa ekstrak etanol *L. rhinocerus* menunjukkan potensi

aktivitas inhibisi enzim tyrosinase (28). Nilai IC_{50} diestimasi menggunakan analisis regresi linier. Karena inhibisi 50% tidak langsung tercapai dalam rentang konsentrasi yang diuji, IC_{50} diperoleh melalui ekstrapolasi persamaan regresi. Nilai R^2 yang tinggi menunjukkan linearitas yang baik dan mendukung keandalan estimasi.

L. rhinocerus dapat menghambat enzim tirosinase karena mengandung senyawa flavonoid dan fenolik yang bertindak sebagai pengkelat logam tembaga (CU^{2+}) dari struktur enzim tirosinase yang mengandung 2 atom Cu, yaitu CuA dan CuB. Atom ini akan mengikat asam amino histidin sebagai kofaktor dalam enzim tirosinase sehingga kemampuan katalitik enzim tirosinase berkurang dengan mereduksi atau menghilangkan Cu dari enzim sehingga menyebabkan dopakrom tidak terbentuk (29). Hasil uji penghambatan enzim tirosinase pada ekstrak etanol *L. rhinocerus* menggunakan substrat L-Tirosinase ditunjukkan pada Tabel 4 .

Tabel 4. Inhibisi enzim tirosinase terhadap ekstrak etanol *L. rhinocerus* menggunakan substrat L-Tirosinase.

Konsentrasi	Inhibisi Rata-rata	IC_{50}
20	14.541	69.292
10	8.765	
5	5.232	
2,5	2.231	
1,25	1.063	



Gambar 3. Kurva hubungan konsentrasi ekstrak etanol L. rhinocerus terhadap inhibisi enzim tirosinase menggunakan substrat L-Tirosinase.

Hasil analisis data menggunakan uji *Mann-Whitney* untuk penghambatan ekstrak *L. rhinocerus* dengan standar yang digunakan, yaitu asam kojik, memperoleh nilai signifikansi 0,025 ($p<0,05$), yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada hasil penghambatan enzim tirosinase antara kelompok *L. rhinocerus* dan asam kojik.

Nilai IC_{50} ekstrak etanol *L. rhinocerus* pada penelitian ini sebesar 69,292 ppm, sedangkan penelitian Kim *et al*. melaporkan nilai IC_{50} ekstrak 50% etanol *P. linteus* sebesar 6,34 µg/mL (30). Nilai IC_{50} yang lebih rendah menunjukkan aktivitas inhibisi yang lebih kuat, sehingga berdasarkan nilai tersebut ekstrak *P. linteus* menunjukkan aktivitas inhibisi tirosinase yang lebih kuat. Perbedaan nilai IC_{50} tersebut dapat berkaitan dengan perbedaan spesies jamur dan komposisi senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Selain itu, perbedaan konsentrasi etanol dan kondisi pengujian juga dapat memengaruhi aktivitas inhibisi yang diperoleh.

Studi ini memiliki beberapa keterbatasan. Nilai IC_{50} diperkirakan dari rentang konsentrasi yang terbatas dan titik inhibisi 50% tidak diamati secara langsung. Selain itu, pengujian ini dilakukan secara *in vitro*, sehingga aktivitas biologis mungkin berbeda dalam kondisi *in vivo*. Oleh karena itu, studi lebih lanjut menggunakan rentang konsentrasi yang lebih luas dan model biologis diperlukan untuk mengkonfirmasi potensi inhibisi dan mekanisme ekstrak tersebut.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan bahwa ekstrak *L. rhinocerus* memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase kategori sedang dengan nilai IC_{50} sebesar 69.292 ppm dan menunjukkan perbedaan yang signifikan dibandingkan dengan asam kojik. Efek ini mungkin terkait dengan senyawa fenolik dan flavonoid yang menghambat aktivitas tirosinase, menunjukkan potensinya sebagai antihiperpigmentasi alami.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset, Teknologi dan Perguruan Tinggi atas pemberian dana hibah penelitian dalam skema penelitian dasar pemula. Dan penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Universitas Muhammadiyah Ahmad Dahlan Cirebon.

DAFTAR PUSTAKA

1. Arifianti AE, Anwar E, Nurjanah. Aktivitas Penghambatan Tirosinase dan Antioksidan Serbuk Rumput Laut dari *Sargassum plagyphyllum* Segar dan Kering. Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan

Indonesia. 2017;20(3):488-493..

2. Aprilliani A. Uji Inhibisi Aktivitas Enzim Tirosinase Beberapa Jenis Tumbuhan Anggota Suku *Zingiberaceae*. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2018;14(1):46-57. doi:10.20885/jif.vol14.iss1.art05.
3. Jelantik NPC, Cahyaningsih E. Potensi Antioksidan Bunga Telang (*Clitoria ternatea* L.) sebagai Inhibitor Hiperpigmentasi Akibat Paparan Sinar Ultraviolet. Jurnal Ilmiah Farmasi. 2022;18(1):45-54. doi:10.20885/jif.vol18.iss1.art5.
4. Allgisna KN, Hindun S, Rantika N. Review: Perbandingan Beberapa Ekstrak Kulit Buah sebagai Anti-Hiperpigmentasi. Jurnal Sains dan Kesehatan. 2021;3(2):335-342. doi:10.25026/jsk.v3i2.403.
5. Zolghadri S, Bahrami A, Khan MTH, et al. A Comprehensive Review on Tyrosinase Inhibitors. Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry. 2019;34(1):279-309. doi:10.1080/14756366.2018.1545767.
6. Pratiwi NMG, Saraswati NMA, Dewi NMIFP, et al. Potensi Sinamaldehid sebagai Anti Hiperpigmentasi secara *In Silico*. Jurnal Ilmiah Medicamento. 2021;7(2):95-101. doi:10.36733/medicamento.v7i2.1507.
7. Hindun S, Rusdiana T, Abdasah M, Hindritiani R. Potensi Limbah Kulit Jeruk Nipis (*Citrus auronfolia*) sebagai Inhibitor Tirosinase. Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology. 2017;4(2):64-69. doi:10.15416/ijpst.v4i2.12642.
8. El-Nashar HAS, Gamal El-Din MI, Hritcu L, Eldahshan OA. Insights into the Inhibitory Power of Flavonoids on Tyrosinase Activity: A Survey from 2016 to 2021. Molecules. 2021;26(24):7546. doi:10.3390/molecules26247546.
9. Maack A, Pegard A. Populus nigra (*Salicaceae*) Absolute Rich in Phenolic Acids, Phenylpropanoids and Flavonoids as a New Potent Tyrosinase Inhibitor. Fitoterapia. 2016;111:95-101. doi:10.1016/j.fitote.2016.04.001.
10. Ulfah M, Efirani L, Hadi I. Alpha-Glucosidase Inhibitory Activity of Tiger Milk Mushroom (*Lignosus rhinocerus*) Ethanolic Extract. Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science.

2024;5(1):44-57. doi:10.18196/jfaps.v5i1.20299.

11. Sari DY, Widyasari R, Taslima AN. Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Jamur Susu Harimau (*Lignosus rhinocerus*). Jurnal Farmasi Udayana. 2021;10(1):23-30. doi:10.24843/JFU.2021.v10.i01.p03.
12. Johnathan M, Gan SH, Ezumi MFW, Faezahtul AH, Nurul AA. Phytochemical Profiles and Inhibitory Effects of *Lignosus rhinocerus* Extract on Ovalbumin-Induced Airway Inflammation in a Rodent Model of Asthma. BMC Complementary and Alternative Medicine. 2016;16:167. doi:10.1186/s12906-016-1141-x.
13. Pavun L, Uskoković-Marković S, Jeličić-Stankov M, Đikanović D, Đurđević P. Determination of Flavonoids and Total Polyphenol Contents in Commercial Apple Juices. Czech Journal of Food Sciences. 2018;36(3):233-238. doi:10.17221/211/2017-CJFS.
14. Sembiring B, Suhirman S. Pengaruh Cara Pengeringan dan Teknik Ekstraksi terhadap Kualitas Simplisia dan Ekstrak Meniran. Seminar Nasional Pengembangan Teknologi Pertanian. 2014:509-514.
15. Tumundo CS, Wewengkang DS, Jumriadi. Uji Potensi Antibakteri Ekstrak Spons *Stylissa carteri* dari Perairan Poopoh Minahasa terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*. PHARMACON. 2024;13(1):529-539. doi:10.35799/pha.13.2024.49697.
16. Simaremare ES. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd). PHARMACY: Jurnal Farmasi Indonesia. 2014;11(1):98-107. doi:10.30595/pji.v11i1.855.
17. Mondong FR, Sangi MS, Kumaunang M. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Patikan Emas (*Euphorbia prunifolia* Jacq.) dan Bawang Laut (*Proiphys amboinensis* (L.) Herb). Jurnal MIPA. 2015;4(1):81-87. doi:10.35799/jm.4.1.2015.6910.
18. Wahdaningsih S, Wahyuono S, Riyanto S, Murwanti R. Penetapan Kadar Fenolik Total dan Flavonoid Total Ekstrak Metanol dan Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Naga Merah (*Hylocereus polyrhizus* (F.A.C.

Weber) Britton dan Rose). PHARMACON. 2017;6(3):295-301. doi:10.35799/pha.6.2017.16942.

19. Rollando R, Monica E. Penetapan Kandungan Fenolik Total dan Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Air Ekstrak Metanol Kulit Batang Faloak (*Sterculia quadrifida* R.Br.). Scientia: Jurnal Farmasi dan Kesehatan. 2018;8(1):30-36. doi:10.36434/scientia.v8i1.119.
20. Kim YM, Jeong YK, Wang MH, Lee WY, Rhee HI. Inhibitory Effect of Pine Extract on α-Glucosidase Activity and Postprandial Hyperglycemia. Nutrition. 2005;21(6):756-761. doi:10.1016/j.nut.2004.10.014.
21. Marliana SD, Suryanti V, Suyono. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Biofarmasi. 2005;3(1):26-31. doi:10.13057/biofar/f030106.
22. Sholikhah RM. Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Fraksi n-Heksan Ekstrak Rumput Bambu (*Lophantherum gracile* Brongn.) dengan Metode UPLC-MS. Skripsi. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. 2016:61-62.
23. Habibi AI, Firmansyah RA, Setyawati SM. Skrining Fitokimia Ekstrak n-Heksan Korteks Batang Salam (*Syzygium polyanthum*). Indonesian Journal of Chemical Science. 2018;7(1):1-4.
24. Manongko PS, Sangi MS, Momuat LI. Uji Senyawa Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan Tanaman Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). Jurnal MIPA. 2020;9(2):64-69. doi:10.35799/jmuo.9.2.2020.28725.
25. Septiani NKA, Parwata IMO, Bawa AA. Penentuan Kadar Total Fenol, Kadar Total Flavonoid dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gaharu (*Gyrinops versteegii*). Wahana Matematika dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya. 2018;12(1):78-89.
26. Furi M, Alfatma A, Dona R, Fernando A, Aryani F, Utami R, et al. Uji Inhibitor Enzim Tirosinase Ekstrak dan Fraksi Daun Kedabu (*Sonneratia ovata* Backer) secara *In Vitro*. Jurnal Ilmiah Manuntung: Sains Farmasi dan Kesehatan. 2022;8(2):201-214. doi:10.51352/jim.v8i2.529.

27. Chang TS. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. International Journal of Molecular Sciences. 2009;10(6):2440-2475. doi:10.3390/ijms10062440.
28. Kholifah E, Nurazizah D, Noviyanto F. Antioxidant Activity and Vitamin C Concentration Analysis of Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff.) Ethanol Extract Using Spectrophotometry UV-Vis. Journal of Fundamental and Applied Pharmaceutical Science. 2023;3(2):54-63. doi:10.18196/jfaps.v2i1.15992.
29. Ripaldo F, Sagala Z. Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Harendong (*Melastoma malabathricum* L.) secara In Vitro. Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal. 2020;5(1):114-129.
30. Kim AR, Kim JE, Park SN. Antioxidative activity and component analysis of Phellinus linteus extracts. J Soc Cosmet Scientists Korea. 2011;37(4):309-318.