



9 772686 250000
e-ISSN : 2686-2506



Limbah Biji Buah Pepaya sebagai Pemutih dengan Mekanisme Penghambatan Tirosenase

Saparuddin Latu^{1*}, Aisyah Nur Sapriati², Tamzil Azizi Musdar¹, Hilmati Wahid¹

¹ Jurusan Farmasi, Universitas Megarezky, Makassar

² Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi, Makassar

*email: saparuddinlatu@gmail.com

(Submit 19/12/2021, Revisi 20/12/2021, Diterima 30/12/2021, Terbit 31/12/2021)

Abstrak

Pemanfaatan kosmetik tradisional sebagai upaya pemeliharaan kecantikan berupa kosmetik tradisional oleh masyarakat terus meningkat. Oleh karena itu perlu dilakukan explorasi sumber alam yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan kosmetik. Biji pepaya (*Carica papaya*) merupakan limbah dari pepaya yang tidak digunakan oleh masyarakat sehingga perlu diteliti kemanfaatannya agar bernilai ekonomis. Biji papaya mengandung senyawa flavonoid yaitu kaempferol dan quercetin. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan nilai penghambatan enzim tyrosinase dari ekstrak metanol biji papaya. Pengujian aktivitas penghambatan terhadap enzim tirosinase dilakukan dengan menggunakan L-DOPA atau L-Tyrosin sebagai substrat dan asam kojik sebagai kontrol positif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak methanol biji papaya memiliki aktivitas penghambatan enzyme tyrosinase dengan IC₅₀ 177 µg/ml. Oleh karena itu dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol biji papaya memiliki potensi dalam pengembangan kosmetik tradisional.

Kata kunci: Kosmetik, Biji pepaya, Enzim tyrosinase

Pendahuluan

Produk kosmetik untuk mencerahkan kulit semakin digemari oleh kaum hawa saat ini. Menurut Frawisandi, putih menjadi komoditas yang diperjualbelikan, sehingga saat ini banyak produk-produk pemutih kulit yang dipasarkan di Indonesia⁽¹⁾. Iklan produk kecantikan berhasil mempresentasikan bahwa cantik itu putih, putih itu bersih, bahkan putih itu sehat. Sehingga banyak wanita ingin mendapatkan wajah lebih putih dan bersih. Beberapa penelitian di Indonesia juga menunjukkan bahwa 55% dari 85% wanita ingin memiliki kulit yang lebih putih. Penelitian lainnya juga menunjukkan bahwa 70%-80% perempuan di Asia (yaitu: Cina, Thailand, Taiwan dan Indonesia) menginginkan kulit yang lebih putih^(2, 3).

Senyawa inhibitor tyrosinase banyak digunakan sebagai produk kosmetik dan farmasi. Senyawa ini mampu memblokir proses pembentukan melanin berlebih dengan

menghambat enzim tyrosinase dan memperlambat pembentukan melanin^(4,5). Beberapa inhibitor tyrosinase sintetik telah ditemukan, namun terkendala dari segi keamanan dan efikasi yang kurang memadai, sehingga perlu dicari inhibitor tyrosinase dari sumber lain. Produk alam inhibitor tyrosinase menarik untuk dieksplorasi lebih dalam karena diharapkan bebas dari efek samping yang merugikan^(6,7).

Berdasarkan penelitian Maisarah, biji pepaya (*Carica papaya L.*) memiliki aktivitas antioksidan dengan kandungan kimia berupa senyawa fenolik, flavonoid dan vitamin E. Senyawa flavonoid dapat menghambat reaksi oksidasi L-tirosin dan levodopa dalam mekanisme pembentukan melanin⁽⁸⁾. Selain itu, penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa biji papaya (*Carica papaya seed*) mengandung senyawa flavonoid berupa kaempferol dan quercetin yang memiliki kemampuan menghambat oksidasi L-DOPA yang dikatalisis oleh jamur tirosinase yang dapat menghambat oksidasi L-DOPA dan akan menghambat aktivitas tirosinase yang akan membuat kulit menjadi lebih putih⁽⁹⁾.

Sementara itu, biji pepaya merupakan limbah yang terus meningkat jumlahnya seiring dengan peningkatan produksi papaya nasional. Produksi buah papaya di Indonesia pada tahun 2015 mencapai 851.533 ton kemudian mengalami peningkatan sebanyak 6,19% pada tahun 2016, menjadi 904.284 ton⁽¹⁰⁾. Sedangkan berdasarkan Badan Pusat Statistik Sulawesi Selatan tahun 2013 produksi papaya di Sulawesi Selatan sebanyak 31.718,0 ton dengan jumlah produksi di Makassar sebanyak 35,7 ton. Olehkarena itu, pemanfaatan limbah biji papaya menjadi produk yang bernilai ekonomi tinggi perlu dilakukan sebagaimana pemanfaatan limbah yang telah banyak diteliti dewasa ini⁽¹¹⁻¹³⁾. Dalam penelitian ini kami bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan ekstrak biji pepaya terhadap enzim tyrosinase. Pengujian aktivitas penghambatan ekstrak biji pepaya terhadap enzim tirosinase dilakukan dengan menggunakan L-DOPA atau L-Tyrosin sebagai substrat dan asam kojik sebagai kontrol positif.

Metode

Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat-alat gelas yang digunakan di laboratorium, aluminium foil, batang pengaduk, cawan porselin, *freeze dryer*, gegep, handscoot steril, kaca arloji, kertas saring, micro plate reader, micro pipet, micro tip, micro well 96, penggaris, pipet tetes, refluks, *rotary evaporator*, sendok ekstrak, sendok tanduk, spatel, tabung eppendorf, thermometer, timbangan analitik, tisu, toples, dan vial.

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah asam kojat, aquadest, biji papaya, buffer fosfat pH 7, DMSO, enzim tirosinase, L-Tyrosin, methanol, n-Heksan.

Prosedur

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah limbah biji buah pepaya (*Carica papaya*) yang diambil di Kota Makassar, Provinsi Sulawesi Selatan.

Pengolahan Sampel

Limbah biji buah pepaya (*Carica papaya*) yang diperoleh dari pasar tradisional ataupun buah pepaya itu sendiri dibersihkan dan dicuci dengan air yang mengalir, sebelum diproses lebih lanjut. Limbah biji buah pepaya (*Carica papaya*) yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan dengan matahari langsung ataupun lemari pengering hingga mendapatkan simplisia biji buah pepaya⁽¹⁴⁾.

Ekstraksi Sampel

Limbah biji pepaya diekstraksi dengan 700 mL metanol tetapi sebelumnya sampel direndam selama sehari dengan pelarut n-Heksan dengan tujuan menghilangkan komponen minyak dari sampel biji setelah itu maserasi dengan menggunakan methanol selama 24 jam dengan pengadukan sesekali untuk mempercepat kontak antara sampel dengan pelarut. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan dilanjutkan dengan meletakkan ekstrak di atas *water bath* sehingga diperoleh ekstrak kering⁽¹⁴⁾.

Penghambatan Enzim Tyrosinase

Pengujian aktivitas penghambatan terhadap enzim tyrosinase dilakukan dengan metode Wong *et al.*, dimana menggunakan L-DOPA atau L-Tyrosin sebagai substrat dan asam kojik sebagai kontrol positif. Masing-masing sampel diambil 40 μ L dengan konsentrasi tertentu dan ditambahkan 80 μ L buffer fosfat (0.1 M, pH 6.8), 40 μ L enzim tyrosinase (1000 units/mL), dan 40 μ L of L-DOPA (2.5 mM), selanjutnya diukur serapannya pada panjang gelombang 450 nm. Dilakukan pula pengukuran terhadap blanko dan kontrol positif asam kojak. Aktivitas penghambatan enzim tyrosinase diekspresikan sebagai harga IC₅₀⁽¹⁵⁾.

Analisis Data

Analisis dan pengolahan data mencakup penentuan aktivitas penghambatan enzyme tyrosinase melalui perhitungan *half inhibitory concentration* (IC₅₀). Analisis statistic berupa korelasi antara konsentrasi dan aktivitas menggunakan GraphPad Prism versi 8.4.3

Hasil

Ekstrak

Dari 400 gram biji buah papaya terlebih dahulu dikeringkan dan didapatkan berat simplisia 100 gram kemudian diekstraksi menggunakan metanol dengan metode maserasi, diperoleh ekstrak kental metanol biji buah pepaya sebanyak 2.64 gram (**Gambar 1**).



Gambar 1. Ekstrak methanol biji papaya

Pengujian Penghambatan Enzim Tyrosinase

Pengujian aktivitas penghambatan tirosinase ditujukan untuk mengetahui potensi dari sampel ekstrak biji papaya (*Carica papaya*) dalam kemampuannya menghambat tirosinase pada mekanisme pembentukan melanin, sehingga dapat digunakan sebagai bahan pemutih kosmetik. Penentuan penghambatan tyrosinase dilakukan dengan menggunakan enzim tyrosinase dan L-Tyrosin sebagai substrat serta asam kojik sebagai kontrol positif. Pengujian ini dilakukan pada 3 ekstrak hasil ekstraksi sebelumnya dan didapatkan yang dapat menghambat tirosinase hanya ekstrak dengan perlakuan biji di maserasi dengan pelarut n-Heksan selama 24 jam kemudian disaring dan di maserasi dengan pelarut methanol. Hasil pengujinya menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 177 $\mu\text{g/ml}$ yang tergolong sedang tetapi masih mampu dalam menghambat pembentukan enzim tirosinase sehingga dapat digunakan sebagai bahan pemutih kosmetik (**Tabel 1**).

Tabel 1. Aktivitas ekstrak biji pepaya terhadap penghambatan enzim tyrosinase

Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	% Penghambatan	IC_{50} ($\mu\text{g/ml}$)
31.25	9.39	
62.5	31.10	
125	44.2	
250	53.44	
500	73.69	177

Pembahasan

Papaya lebih dari sekedar buah yang lezat, pepaya adalah sumber nutrisi dengan sejumlah manfaat kesehatan. Manfaat pepaya dapat dikaitkan dengan kandungan vitamin A, B, C yang tinggi, enzim proteolitik seperti papain dan chymopapain yang memiliki sifat antibakteri, antijamur, dan sifat antivirus^(16,17). Selain itu, limbah kulit dan biji yang dihasilkan setelah pengolahan dan konsumsi buah papaya yang biasanya mencemari habitat kita ini sebenarnya bisa dimanfaatkan karena biji papaya ini mengandung asam lemak, protein kasar, serat kasar, minyak pepaya, carpaine, benzylisothiocynate, benzylglucosinolate, glucotropacolin, benzylthiourea, hentriaccontane, -sistosterol, caricin dan enzim nyrosin^(18,19). Selain itu, biji papaya ini juga memiliki aktivitas antioksidan dari beberapa senyawa sekunder metabolit dalam organ papaya^(20, 21).

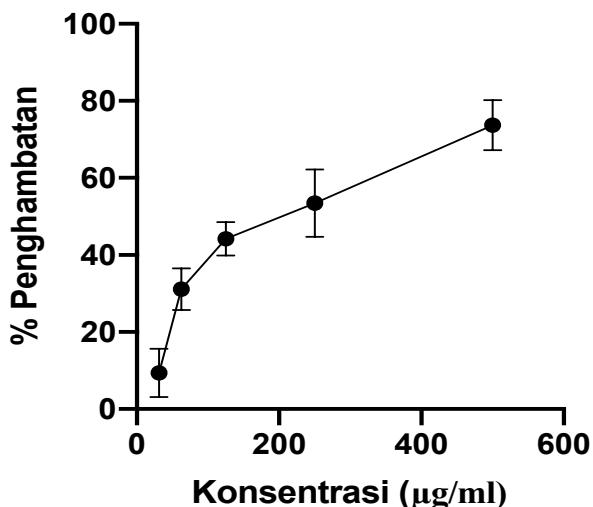
Karena banyak manfaat dan kandungan dari biji papaya ini sehingga peneliti melakukan pengujian biji papaya ini terhadap penghambatan enzim tyrosinase. Enzim tyrosinase merupakan enzim yang paling penting dalam jalur biosintesis melanin karena satu-satunya enzim yang mutlak diperlukan untuk produksi melanin. Pigmentasi yang terlihat pada manusia dihasilkan dari sintesis dan distribusi melanin di kulit, rambut, dan mata⁽²²⁾. Melanin dapat terdiri dari dua tipe dasar: eumelanin, yang berwarna coklat atau hitam, dan phaeomelanin, yang berwarna merah atau kuning, pada manusia biasanya ada campuran dari kedua jenis tersebut. Melanin diproduksi oleh sel-sel khusus, yang disebut melanosit, yang terletak terutama di kulit, umbi rambut, dan mata. Melanosit mensintesis melanin dalam organel melanosom yang dapat diproduksi dalam berbagai ukuran, jumlah, dan kepadatan^(23,24). Melanosom kemudian diteruskan, dari kulit ke keratinosit dan dari bulbus rambut ke batang rambut. Distribusi ini memainkan peran penting dalam menentukan warna keragaman warna pada kulit, rambut, dan mata manusia. Stimulus fisiologis utama melanogenesis adalah radiasi UV dari sinar matahari, yang dapat bekerja secara langsung pada melanosit atau secara tidak langsung melalui pelepasan faktor turunan keratinosit seperti melanocyte stimulating hormone (MSH)^(25, 26).

Proses ekstraksi menentukan data IC₅₀ sebab dalam penelitian ini sebenarnya kami menggunakan tiga jenis ekstrak yang dibedakan berdasarkan cairan penyari yang digunakan. Dalam penelitian ini digunakan methanol dan air sebagai cairan penyari, namun yang memberikan aktivitas penghambatan tyrosinase hanya pada ekstrak methanol. Proses ekstraksi dengan pelarut methanol dimodifikasi dengan merendam sampel pada n-heksan terlebih dahulu. Hal ini bertujuan untuk melarutkan lemak yang terdapat pada permukaan sampel biji papaya. Dengan demikian, ekstrak yang diperoleh dari proses maserasi menggunakan methanol dapat dipastikan bersumber dari komponen kimia biji papaya.

Hasil penelitian menunjukkan adanya korelasi positif antara konsentrasi sampel dan peningkatan aktivitas penghambatan enzim tyrosinase sebagaimana ditunjukkan pada **Gambar 2**. Hasil perhitungan diperoleh nilai IC₅₀ sebesar 177 µg/ml. Hal ini

menunjukkan bahwa limbah biji papaya memiliki potensi sebagai anti-tyrosinase. Ekstrak methanol biji papaya dapat meredam proses pigmentasi kulit yang berlebihan sehingga dapat berefek mencerahkan kulit. Aktivitas penghambatan tyrosinase dari ekstrak biji papaya sangat dipengaruhi oleh komponen kimia didalamnya yang tersusun dari komponen flavonoid dan fenolik⁽²⁷⁾. Komponen ini juga berperan dalam aktivitas ekstrak biji papaya sebagai antioksidan⁽²⁸⁻³¹⁾.

Gambar 2. Grafik hubungan konsentrasi ekstrak dengan aktivitas penghambatan enzim tyrosinase



Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol biji pepaya memiliki aktivitas penghambat tyrosinase yang baik. Dengan demikian limbah biji papaya bisa dikembangkan dalam produksi kosmetik sebagai pencerah kulit.

Daftar Pustaka

1. Frawisandi H. Karya Fotografi Fotomontase Sebagai Media Kritik Fotografi Periklanan Produk Kecantikan Di Indonesia. Bandung: Universitas Pasundan Bandung.; 2015.
2. Elsner P. Cosmeceuticals: Drug vs Cosmetics. New York: Marcel Dekker, Inc; 2000.
3. Nandityasari I. Hubungan Antara Ketertarikan Iklan Pond's di Televisi Dengan Keputusan Membeli Produk Pond's Pada Mahasiswa. Surakarta: Fakultas Psikologi Universitas Muhammadiyah Surakarta; 2009.
4. Chan Y, Kim K, Cheah S. Inhibitory effects of *Sargassum polycystum* on tyrosinase activity and melanin formation in B16F10 murine melanoma cells. Journal of Ethnopharmacology. 2011;137(3):1183-8.
5. Chang T-S. An updated review of tyrosinase inhibitors. International journal of molecular sciences. 2009;10(6):2440-75.
6. Zolghadri S, Bahrami A, Hassan Khan MT, Munoz-Munoz J, Garcia-Molina F, Garcia-Canovas F, et al. A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. J Enzyme Inhib Med Chem. 2019;34(1):279-309.

7. Kim YJ, Uyama H. Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cell Mol Life Sci.* 2005;62(15):1707-23.
8. Ninin KJ, Joshita D, Azizahwati. Uji Penghambatan Tirosinase dan Stabilitas Fisik Sediaan Krim Pemutih Yang Mengandung Ekstrak Kulit Batang Nangka (*Atrocarpus heterophyllus*). *Majalah Ilmu Kefarmasian.* 2013;8(2):57-124.
9. Batubara I. Flavonoid from Intsia palembanica as Skin Whitening Agent. *Journal of Biological Sciences.* 2011;11(8):475-80.
10. Anang L, Sumarlan SH, Rahmawati SR. Studi Karakteristik Fisik Keripik Pepaya (*Carica Papaya L.*) Hasil Vacuum Frying Terhadap Tingkat Kematangan Dan Perlakuan Blansing. *Jurnal Keteknikan Pertanian Tropis dan Biosistem.* 2018;6(2):135-44.
11. Fawwaz M, Baits M, Saleh A, Irsyaq MR, Pratiwi RE. *Scylla serrata* forskal as natural source of glucosamine hydrochloride. *International Food Research Journal.* 2018;25(5):2173-6.
12. Fawwaz M, Pratama M, Hasrawati A, Widiasuti H, Abidin Z. Total Carotenoids, Antioxidant and Anticancer Effect of Penaeus monodon Shells Extract. *Biointerface Research in Applied Chemistry.* 2021;11(4):11293 - 302.
13. Fawwaz M, Vemilia P, Mutmainnah I, Baits M. Isolation of glucosamine HCl from Penaeus monodon. *Marmara Pharmaceutical Journal.* 2019;23(2):259-66.
14. Meliana C. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Tirosinase serta Uji Manfaat Gel Ekstrak Kulit Batang Taya (*Nauclea subdita*) terhadap Kulit. *Jurnal Kefarmasian Indonesia.* 2016;6(2):98-107.
15. Wong SK, Y.Y L, Chan EWC. Evaluation of Antioxidant, Antityrosinase and Antibacterial Activities of Selected Hibiscus species. *Ethonobot Leafl.* 2010;9.
16. Barroso PT, de Carvalho PP, Rocha TB, Pessoa FL, Azevedo DA, Mendes MF. Evaluation of the composition of *Carica papaya L.* seed oil extracted with supercritical CO₂. *Biotechnol Rep (Amst).* 2016;11:110-6.
17. Khor BK, Chear NJ, Azizi J, Khaw KY. Chemical Composition, Antioxidant and Cytoprotective Potentials of *Carica papaya* Leaf Extracts: A Comparison of Supercritical Fluid and Conventional Extraction Methods. *Molecules.* 2021;26(5).
18. Sharma A, Bachheti A, Sharma P, Bachheti RK, Husen A. Phytochemistry, pharmacological activities, nanoparticle fabrication, commercial products and waste utilization of *Carica papaya L.*: A comprehensive review. *Current Research in Biotechnology.* 2020;2:145-60.
19. Prasetya AT, Mursiti S, Maryan S, Jati NK. Isolation and Identification of Active Compounds from Papaya Plants and Activities as Antimicrobial. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering.* 2018;349:012007.
20. Salla S, Sunkara R, Ongutu S, Walker LT, Verghese M. Antioxidant activity of papaya seed extracts against H₂O₂ induced oxidative stress in HepG2 cells. *LWT - Food Science and Technology.* 2016;66:293-7.
21. Zhou K, Wang H, Mei W, Li X, Luo Y, Dai H. Antioxidant activity of papaya seed extracts. *Molecules.* 2011;16(8):6179-92.
22. Ebanks JP, Wickett RR, Boissy RE. Mechanisms regulating skin pigmentation: the rise and fall of complexion coloration. *Int J Mol Sci.* 2009;10(9):4066-87

23. Maranduca MA, Branisteanu D, Serban DN, Branisteanu DC, Stoleriu G, Manolache N, et al. Synthesis and physiological implications of melanic pigments. *Oncol Lett.* 2019;17(5):4183-7.
24. Solano F. Melanins: Skin Pigments and Much More—Types, Structural Models, Biological Functions, and Formation Routes. *New Journal of Science.* 2014;2014:498276.
25. Videira IF, Moura DF, Magina S. Mechanisms regulating melanogenesis. *An Bras Dermatol.* 2013;88(1):76-83.
26. D'Mello SA, Finlay GJ, Baguley BC, Askarian-Amiri ME. Signaling Pathways in Melanogenesis. *Int J Mol Sci.* 2016;17(7).
27. Nugroho A, Heryani H, Choi JS, Park H-J. Identification and quantification of flavonoids in Carica papaya leaf and peroxynitrite-scavenging activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.* 2017;7(3):208-13.
28. Panzarini E, Dwikat M, Mariano S, Vergallo C, Dini L. Administration Dependent Antioxidant Effect of Carica papaya Seeds Water Extract. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2014;2014:281508.
29. Zhou K, Wang H, Mei W, Li X, Luo Y, Dai H-F. Antioxidant Activity of Papaya Seed Extracts. *Molecules.* 2011;16:6179 - 92.
30. Mohamed Sadek K. Antioxidant and immunostimulant effect of carica papaya linn. Aqueous extract in acrylamide intoxicated rats. *Acta Inform Med.* 2012;20(3):180-5.
31. Jarisarapurin W, Sanrattana W, Chularojmontri L, Kunchana K, Wattanapitayakul SK. Antioxidant Properties of Unripe Carica papaya Fruit Extract and Its Protective Effects against Endothelial Oxidative Stress. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.* 2019;2019:4912631.

