

Tyrosinase Inhibition and Antioxidant Activity Testing of Mulberry Roots Extract (*Morus alba*) with Green Extraction Method as Brightening Skin Agent

*Uji Aktivitas Penghambatan Tirosinase dan Antioksidan Ekstrak Akar Murbei (*Morus alba*) dengan Metode Ekstraksi Hijau NADES Sebagai Agen Pencerah Kulit*

Tanfidz Alishlah^{1*}, Abdul Mun'im², Mahdi Jufri³

¹ Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember, Indonesia.

² Departemen of Farmakognosi-Fitokimia, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

³ Laboratorium Teknologi Farmasi dan Pengembangan Obat, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.

ABSTRACT

Morus alba (mulberry) root contains a secondary metabolite of oxyresveratrol with its potential skin-brightening activity. The application of the green extraction method using Ultrasonic-Assisted Extraction with Natural Deep Eutectic Solution (NADES-UAE) was developed because of its advantages, namely it can increase extract yields, low toxicity profile, reduce extraction time, shorter extraction stages without evaporation, and can be applied directly in topical preparations for cosmetic products. To ensure the potential for skin-brightening activity, some activity tests on mulberry root extract are needed. The purpose of this study was to determine the in vitro skin-brightening activity of mulberry root extract using NADES-UAE method. The method used was an in vitro tyrosinase enzyme inhibition test using a microplate reader and an antioxidant activity test using the DPPH method. The IC₅₀ value of the best mulberry root extract (glycerin: urea 1:3 for 15 minutes) showed tyrosinase inhibition activity was 178.43 µg/mL. While the IC₅₀ value in the best antioxidant activity test was 1392.14 µg/mL. Tyrosinase inhibitory and antioxidant activities in three samples showed the best results having the highest oxyresveratrol content. NADES-UAE mulberry root extract has the potential as a cosmetic preparation for skin lightening and has antioxidant effects for skin health.

Keywords: Mulberry, skin brightening, antioxidant, tyrosinase, NADES

ABSTRAK

Akar *Morus alba* (murbei) mengandung senyawa metabolit sekunder oksiresveratrol dengan potensi aktivitas pencerah kulit. Penggunaan metode ekstraksi hijau menggunakan Ultrasonic-Assisted Extraction with Natural Deep Eutectic Solution (NADES-UAE) dikembangkan karena keunggulannya yaitu dapat meningkatkan hasil ekstrak, profil toksisitas yang rendah, mengurangi waktu ekstraksi, tahapan ekstraksi lebih singkat tanpa penguapan, dan dapat diaplikasikan langsung dalam sediaan topikal untuk produk kosmetik. Dalam rangka memastikan potensi aktivitas pencerah kulit perlu dilakukan suatu pengujian aktivitas terhadap ekstrak akar murbei. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas pencerah kulit secara in vitro. Metode yang digunakan adalah uji penghambatan enzim tirosinase secara in vitro menggunakan *microplate reader* dan uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak akar murbei dengan kondisi ekstraksi perbandingan urea:gliserin 1:3 selama 15 menit memiliki nilai IC₅₀ penghambatan tirosinase terbaik yaitu 178,43 µg/mL. Sedangkan nilai IC₅₀ pada uji aktivitas antioksidan terbaik yaitu 1392,14 µg/mL. Aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan pada tiga sampel menunjukkan hasil yang terbaik memiliki kandungan oksiresveratrol tertinggi. Ekstrak NADES-UAE akar murbei berpotensi sebagai sediaan kosmetik untuk pencerah kulit dan memiliki efek antioksidan untuk kesehatan kulit.

Kata kunci: Murbei, pencerah kulit, antioksidan, tirosinase, NADES

*Corresponding Author: **Tanfidz Alishlah**

Fakultas Farmasi, Universitas Jember, Jember, Indonesia

Email: tanfidzalishlah@mail.unej.ac.id

Pendahuluan

Oksiresveratrol merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder dalam tanaman murbei dan memiliki potensi aktivitas sebagai pencerah kulit. Dalam penelitian ditunjukkan bahwa oksiresveratrol menghambat dopa oksidase berkali-kali lipat lebih baik dari resveratrol. Selain itu, dilaporkan bahwa oksiresveratrol menghambat enzim tirosinase lebih baik daripada asam azealat, kurkumin, asam kojat, dan mimosin (Shin *et al.*, 1998). Metabolit sekunder oksiresveratrol dapat ditemukan salah satunya dari akar murbei putih (*Morus alba* L) dimana telah ditunjukkan bahwa ekstrak akar dan batang *Morus alba* yang mengandung oksiresveratrol mampu menghambat aktivitas tirosinase. Berdasarkan informasi ini, akar *Morus alba* dapat menjadi bahan alam yang dapat digunakan sebagai pencerah kulit (Chang *et al.*, 2011).

Metode ekstraksi akar murbei konvensional biasanya menggunakan pelarut seperti etanol dengan metode konvensional seperti maserasi, perkolasi, dan lainnya. Metode ekstraksi tersebut memiliki beberapa kelemahan seperti penggunaan pelarut yang banyak, waktu ekstraksi yang lama, dan kurang ramah lingkungan (Sarker, Latif, & Gray, 2005). Salah satu metode ekstraksi hijau adalah dengan menggunakan *Natural Deep Eutectic Solvent* (NADES). NADES adalah campuran dua atau lebih senyawa yang berfungsi sebagai penyumbang dan penerima ikatan hidrogen. Menurut Ruesgas-Ramón, Figueroa-Espinoza, dan Durand (2017), campuran senyawa tersebut akan berupa cairan dalam suhu ruang karena titik lelehnya yang sangat rendah dibandingkan dengan masing-masing bahan. NADES memiliki sifat yang menguntungkan seperti tekanan uap rendah, mudah dicampur dengan air, dan toksisitas yang rendah (Dai, Witkamp, Verpoorte, & Choi, 2013). *Ultrasonic assisted extraction* atau UAE, merupakan metode ekstraksi yang sering dikombinasikan dengan pelarut NADES. Diketahui bahwa UAE memiliki keunggulan dalam metode ekstraksi antara lain penggunaan pelarut dengan jumlah yang lebih sedikit dan durasi ekstraksi yang cepat (Panja, 2017).

Kandungan oksiresveratrol yang rendah, sekitar 0,0013 hingga 0,0034 mg/g serbuk simplisia, ditemukan dalam penelitian sebelumnya yang menggunakan metode maserasi konvensional dengan variasi pelarut organik etanol dan metanol (Faizatun, Djajadisastra, & Mardiyati, 2017). Alishlah *et al.* pada tahun 2019, menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode NADES-UAE pada akar murbei dengan urea-gliserin mengandung kadar oksiresveratrol yang lebih tinggi, yaitu 2,42 mg/g serbuk simplisia. Namun, pengujian aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan belum dilakukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak NADES-UAE dari akar murbei memiliki aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan sehingga berpotensi sebagai pencerah kulit.

Bahan dan Metode

Alat dan Bahan

Dalam penelitian ini, akar murbei berasal dari wilayah Rumah Sutra Ciapus di Bogor. Tanaman murbei dilakukan determinasi tanaman di LIPI Bogor. Penelitian ini menggunakan bahan-bahan berikut: standar baku oksiresveratrol 99% (Tokyo Chem Ind Co., Ltd., Jepang), DPPH (Sigma, Singapura), asam kojat (Sigma, Singapura), L-tirosin (Sigma, Singapura), enzim tirosinase (Sigma, Singapura), KH_2PO_4 (Brataco), gliserin (Brataco), DMSO (Brataco), dan etanol (Brataco). Dalam penelitian ini, alat-alat yang digunakan antara lain timbangan analitik (Mettler Toledo, Swiss), *Homogenizer* (Omni-Multimix Inc., Malaysia), *Waterbath* (Mettler, Jerman), pengaduk magnetik, chamber ultrasonik (Polyscience, USA), *Hotplate* (Fisher Scientific, China), pengaduk magnetik (USA), mikropipet (Socorex), UV-Vis spectrophotometer (Shimadzu, Japan), 96-well *microtiter plate* (NUNC, Jerman), *microplate reader* (Bio-Rad Lab, USA).

Metode

Preparasi Simplisia Akar Murbei

Akar murbei (*Morus alba*) diperkecil ukurannya hingga sekitar sepuluh sentimeter. Akar lalu dicuci dan dijemur selama sekitar enam hari hingga kering. Kemudian akar murbei dihaluskan hingga menjadi serbuk dengan penggiling. Serbuk akar murbei disimpan pada suhu ruang dan dalam wadah kedap udara.

Preparasi NADES Urea-Gliserin

Metode pemanasan digunakan untuk membuat larutan NADES urea-gliserin, di mana campuran urea dan gliserin dipanaskan secara bersamaan dengan pengadukan konstan. Campuran ini dimasukkan ke dalam wadah kaca Beaker, tambahkan sejumlah akuades, dan kemudian diletakkan pada hotplate dengan pengaduk magnetik pada suhu 50°C dan kecepatan konstan 3000 rpm selama tiga puluh menit (Alishlah *et al*, 2019).

Ekstraksi Akar Murbei dengan NADES

Pada tabung erlenmeyer, dimasukkan satu gram serbuk akar murbei, dilarutkan larutan urea-gliserin dengan perbandingan molar 1:2 dan 1:3 sebanyak 20 mL, kemudian diultrasonik selama 15 dan 20 menit sesuai dengan rancangan pada Tabel 1. Rancangan kondisi ekstraksi tersebut berdasarkan hasil penelitian sebelumnya dimana ketiga kondisi tersebut menghasilkan tiga ekstrak dengan konsentrasi oksiresveratrol tertinggi (Alishlah *et al*, 2019). Selanjutnya ekstrak disentrifugasi kemudian disaring hingga didapatkan supernatant yang disimpan dalam wadah yang terlindung cahaya serta tertutup rapat.

Tabel 1. Rancangan kondisi ekstraksi

No.	Rasio molar urea:gliserin (b/b)	Waktu (menit)	Kandungan oksiresveratrol (Alishlah <i>et al</i> , 2019)
1	1:3	15	121,168 ppm
2	1:3	20	112,791 ppm
3	1:2	20	102,94 ppm

Uji Aktivitas Penghambatan Enzim Tirosinase (Modifikasi metode Chan *et al*, 2008)

Pertama-tama dilakukan pembuatan dapar fosfat 50mM pH 6,5; larutan substrat L-tirosin 1,5 mM; dan larutan enzim tirosinase 240 µg/L. Selanjutnya dilakukan uji aktivitas penghambatan tirosinase pada asam kojat sebagai kontrol positif dengan cara dilakukan pengukuran absorbansi pada blanko, kontrol blanko dan larutan asam kojat konsentrasi 3, 4, 5, 6, 7, dan 8 µg/mL dengan *microplate reader* pada panjang gelombang maksimal 475 nm dengan prosedur uji seperti pada Tabel 2.

Tabel 2. Komposisi untuk uji aktivitas penghambatan tirosinase pada kontrol positif

Nama Material	Plate (µL)			
	Blanko	Kontrol blanko	Sampel	Kontrol Sampel
50 mM Dapar fosfat pH 6,5	120	160	80	120
Enzim tirosinase	40	-	40	-
L-Tirosin	40	40	40	40
Asam kojat (kontrol positif)	-	-	40	40

Selanjutnya dilakukan uji aktivitas penghambatan tirosinase pada larutan ekstrak akar murbei sebagai larutan uji dengan cara dilakukan pengukuran absorbansi pada blanko, kontrol blanko dan larutan ekstrak akar murbei konsentrasi 312,5; 156,25; 78,125; 39,062; 19,531; 9,765 µg/mL dengan *microplate reader* pada panjang gelombang maksimum 475 nm dengan prosedur uji seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Komposisi untuk uji aktivitas penghambatan tirosinase pada ekstrak akar murbei

Bahan	Plate (µL)			
	Blanko	Kontrol Blanko	Sampel	Kontrol Sampel
50 mM Dapar fosfat pH 6,5	120	160	80	120
Enzim tirosinase	40	-	40	-
L-Tirosin	40	40	40	40
Ekstrak akar murbei	-	-	40	40

Perhitungan persentase penghambatan tirosinase dihitung dengan rumus:

$$\frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs kontrol blanko}) - (\text{Abs sampel} - \text{Abs kontrol sampel})}{(\text{Abs blanko} - \text{Abs kontrol blanko})} \times 100\%$$

Selanjutnya nilai IC₅₀ dihitung menggunakan persamaan regresi linear, dimana konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan persentase penghambatan sebagai sumbu y.

Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Akar Murbei

Pada pengujian ini dibuat larutan stok ekstrak 50.000 ppm. Pada pengujian DPPH ini menggunakan 5 konsentrasi larutan uji yaitu 1000 ppm, 2000 ppm, 3000 ppm, 7000 ppm, dan 10.000 ppm. Selanjutnya disediakan 3 kuvet masing-masing berisi blanko (etanol 96%), DPPH-etanol 96% dan DPPH-larutan uji, inkubasi selama 30 menit dalam keadaan gelap. Setelah 30 menit, masing-masing kuvet yang berisi larutan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517 nm. Dari pengukuran absorbansi tersebut, didapatkan % inhibisi DPPH dari larutan uji yang selanjutnya dibuat kurva regresi. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ (*Inhibition Concentration* 50%) dimana merupakan konsentrasi larutan uji yang mampu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50%. Perhitungan nilai IC₅₀ dinyatakan dengan persamaan regresi linear dan perhitungan % inhibisi dinyatakan dengan persamaan berikut :

$$\frac{(\text{Abs kontrol} - \text{Abs larutan uji})}{(\text{Abs kontrol})} \times 100\%$$

Selanjutnya data aktivitas antioksidan dihitung nilai IC₅₀ dari persamaan regresi linier $y = bx + a$.

Hasil dan Pembahasan

Uji Aktivitas Antioksidan Akar Murbei

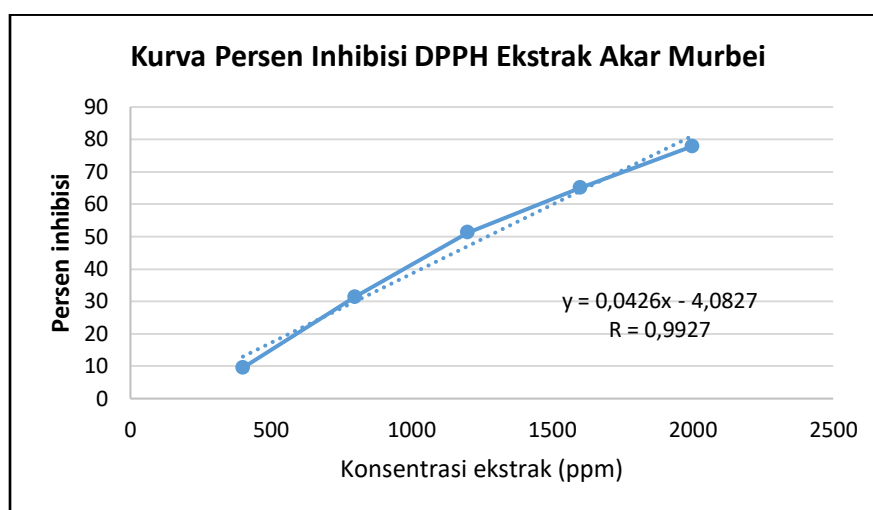
Pada pengujian ini didapatkan kurva persentase inhibisi DPPH dari ekstrak NADES akar murbei yang dapat dilihat pada Gambar 6. Dari persamaan regresi linier kurva tersebut, kita dapat menghitung nilai IC₅₀. Aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀ dimana konsentrasi larutan uji mampu menghambat aktivitas radikal bebas DPPH sebesar 50%. Uji aktivitas antioksidan ekstrak NADES akar murbei terbesar ditunjukkan pada ekstrak dengan kondisi ekstraksi perbandingan urea:gliserin 1:3 dan diultrasonik selama 15 menit yang memberikan nilai IC₅₀ paling kecil yaitu 1392,14 ppm atau 1,39 mg/mL dan persen inhibisi radikal bebas hingga 77,9% dimana menunjukkan kemampuan antioksidan paling tinggi. Hasil ini sesuai dengan hasil penelitian sebelumnya oleh Alishlah *et al.* (2019), dimana kondisi ekstraksi dengan perbandingan pelarut NADES urea:gliserin 1:3 dan waktu ekstraksi selama 15 menit mengandung senyawa oksiresveratrol tertinggi dibandingkan kondisi ekstraksi lainnya. Penggunaan urea-gliserin dengan perbandingan 1:3 dan penambahan air mempengaruhi sifat fisika kimia dari pelarut NADES. Sifat fisika kimia pelarut yang dipengaruhi adalah viskositas dan polaritas pelarut. Penambahan gliserin yang merupakan gula alkohol dengan jumlah yang tepat pada kombinasi campuran NADES mampu meningkatkan kemampuan difusi dan perpindahan massa senyawa target (Peng *et al.*, 2016). Sebaliknya, saat penambahan gula alkohol berlebihan mengakibatkan menurunnya interaksi antara senyawa target dengan urea (Yao *et al.*, 2015). Penggunaan urea-gliserin dengan rasio 1:3 dimungkinkan kepolaran pelarut paling sesuai dengan oksiresveratrol sebagai senyawa target. Kemiripan polaritas membuat senyawa target lebih mudah terlarut dalam pelarutnya (Bi, Tian, & Row, 2013). Waktu ekstraksi dengan ultrasonik selama 15 menit merupakan waktu optimum sehingga mampu memberikan waktu kontak yang cukup antara pelarut dan sampel. Pada penelitian sebelumnya, waktu ekstraksi diatas 15 menit menunjukkan penurunan kandungan senyawa oksiresveratrol pada ekstrak NADES akar murbei, hal ini dikarenakan semakin lama waktu ultrasonik menghasilkan panas lebih tinggi dan dapat menyebabkan degradasi senyawa (Alishlah *et al.*, 2019; Guaman-Balcazar *et al.*, 2016).

Kandungan senyawa oksiresveratrol tertinggi pada ekstrak dengan kondisi paling optimum mampu memberikan aktivitas antioksidan tertinggi. Hal ini selaras dengan penelitian Hsu, Yang, & Chen (2022) bahwa ekstrak akar *Morus alba* menunjukkan aktivitas penangkap radikal bebas DPPH. Senyawa stilben

seperti oksiresveratrol dan resveratrol merupakan golongan polifenol yang memiliki sifat antioksidan dengan menangkap radikal hidroksil, nitrit oksida, dan radikal anion superoksida sehingga dapat memodulasi fungsi sel, transduksi sinyal dan ekspresi gen. Kemampuan antioksidan dari senyawa stilben ini mampu mengurangi kerusakan oksidatif, penuaan dini, pigmentasi kulit yang tidak normal dan tanda-tanda penuaan lainnya pada kulit karena pembentukan stress oksidatif *reactive oxygen species* (Boo, 2019). Ekstrak akar murbei mengandung oksiresveratrol memiliki potensi menjadi sediaan kosmetik yang memiliki manfaat seperti sebagai pencerah kulit dan mencegah penuaan dini.

Tabel 4. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak akar murbei pada 3 kondisi ekstraksi

No.	Rasio molar urea:gliserin (b/b)	Waktu (menit)	Nilai IC ₅₀ antioksidan
1	1:3	15	1392,14 ppm
2	1:3	20	1651,22 ppm
3	1:2	20	1931,10 ppm



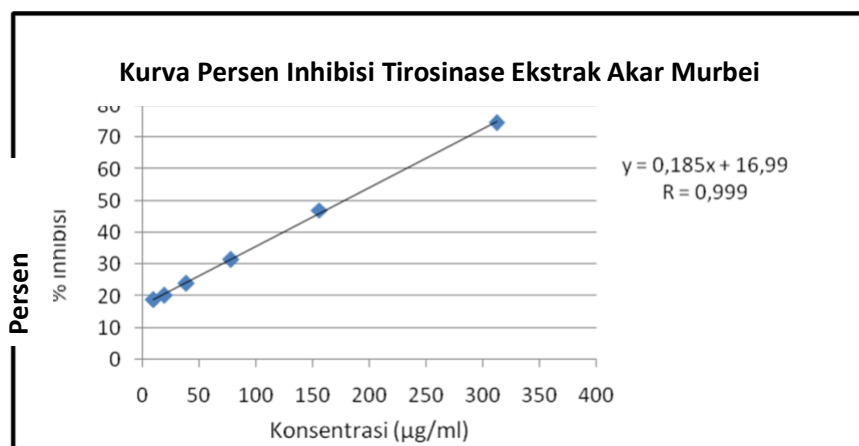
Gambar 1. Kurva Persen Inhibisi DPPH Ekstrak NADES Akar Murbei dengan kondisi ekstraksi perbandingan urea:gliserin 1:3 dan diultrasonik selama 15 menit

Uji Penghambatan Tirosinase *in vitro* pada Ekstrak Akar Murbei

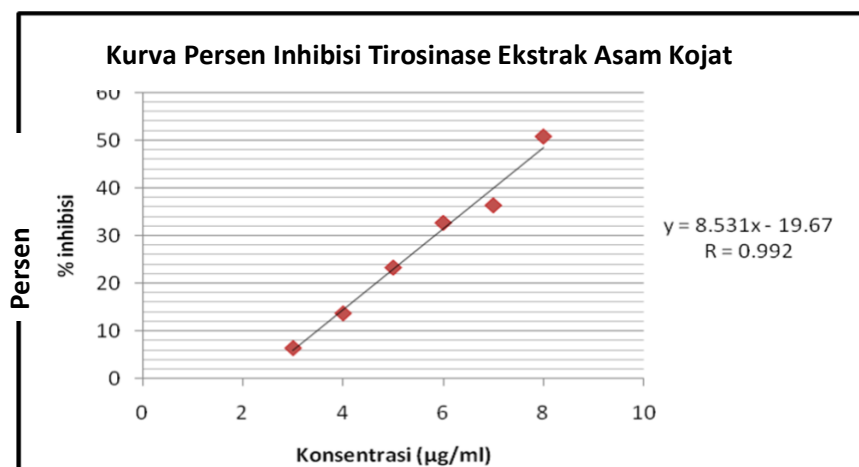
Nilai IC₅₀ menunjukkan besarnya konsentrasi pada larutan sampel yang mampu menunjukkan penghambatan aktivitas terhadap enzim tirosinase sebesar 50% yang didapatkan dari perhitungan persamaan regresi linear. Gambar 2 dan Gambar 3 menunjukkan aktivitas penghambatan tirosinase dari ekstrak akar murbei dan asam kojat. Dalam kondisi ekstraksi dengan perbandingan urea:gliserin 1:3 dan diultrasonik selama 15 menit, ekstrak menunjukkan nilai IC₅₀ paling rendah yaitu sebesar 178,43 g/mL dibandingkan dengan kondisi ekstraksi lain (Tabel 5). Pada pengujian asam kojat menunjukkan aktivitas penghambatan tirosinase yang lebih baik sebagai kontrol positif dengan nilai IC₅₀ sebesar 8,17 µg/mL. Penelitian sebelumnya juga menunjukkan bahwa ekstrak akar *Morus alba* menunjukkan aktivitas penghambatan tirosinase yang lebih baik dibandingkan arbutin sehingga memiliki potensi sebagai agen pencerah kulit (Hsu, Yang & Chen, 2022)

Tabel 5. Nilai IC₅₀ penghambatan tirosinase ekstrak akar murbei pada 3 kondisi ekstraksi

No.	Rasio molar urea:gliserin (b/b)	Waktu (menit)	Nilai IC ₅₀ penghambatan tirosinase
1	1:3	15	178,43 ppm
2	1:3	20	221,12 ppm
3	1:2	20	319,05 ppm



Gambar 2. Aktivitas penghambatan tirosinase ekstrak cair akar murbei dengan kondisi ekstraksi perbandingan urea:gliserin 1:3 dan diultrasonik selama 15 menit



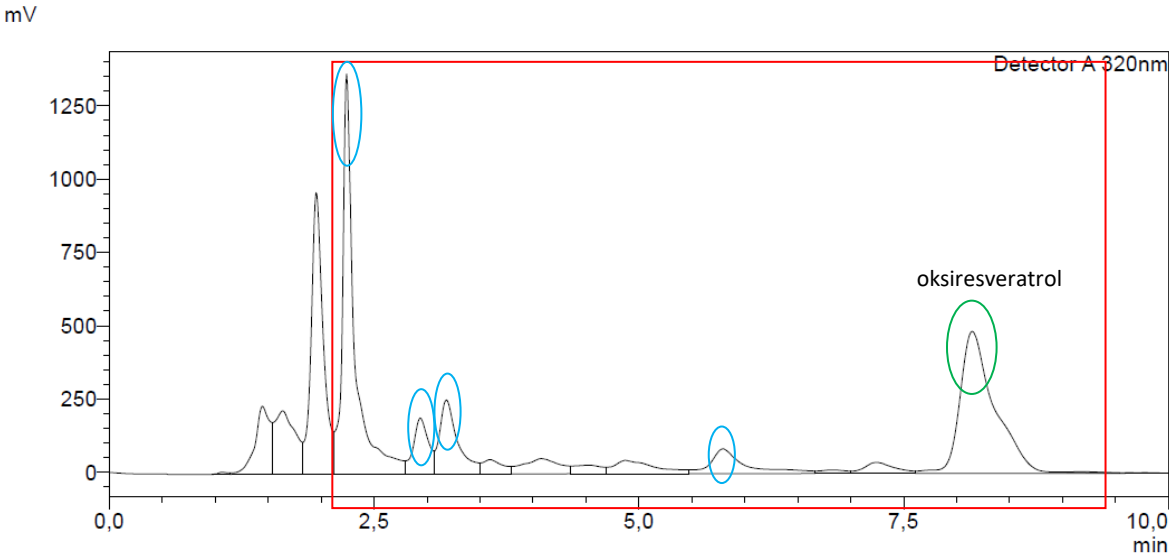
Gambar 3. Aktivitas penghambatan tirosinase asam kojat

Nilai IC_{50} ekstrak cair akar murbei urea-gliserin UAE menunjukkan hasil lebih tinggi daripada ekstrak kering akar murbei (Tabel 6). Hal ini disebabkan karena pada ekstrak NADES UAE merupakan ekstrak cair dimana masih terdapat banyak kandungan air. Sehingga jika dihitung dalam bentuk persentase, kandungan oksiresveratrol dalam ekstrak cair akar murbei hanya sebesar 0,012% (b/v). Namun, seperti yang ditunjukkan oleh kromatogram ekstrak akar murbei (Gambar 4), ada kromatogram lain selain oksiresveratrol, hal tersebut menandakan di dalam ekstrak akar murbei mengandung senyawa lain yang membantu menghambat aktivitas tirosinase, namun belum dapat diidentifikasi dalam penelitian ini. Zhou *et al.* (2013) menunjukkan bahwa mulberrosida A, oksiresveratrol, dan resveratrol adalah senyawa-senyawa metabolit utama ekstrak akar *Morus alba* L. Park *et al.* (2016) menyatakan bahwa ekstrak akar murbei putih mengandung senyawa-senyawa metabolit utama mulberrosida A, oksiresveratrol, mongolisin, dan kuwanon H. Hasil uji aktivitas penghambatan tirosinase ekstrak akar murbei oleh metode ekstraksi NADES-UAE ini menunjukkan bahwa ekstrak memiliki potensi untuk dikembangkan sebagai bahan untuk produk kosmetik yang mencerahkan kulit.

Tabel 6. Aktivitas penghambatan tirosinase pada penelitian sebelumnya

Referensi	Sampel	IC ₅₀
Shin <i>et al.</i> (1998)	Isolat oksiresveratrol	0,24 µg/mL
Kim JK, Kim M, Cho, Kim MK, Kim SW, & Lim (2010)	Isolat oksiresveratrol	0,12 µg/mL
Chang <i>et al.</i> (2011)	Ekstrak etanol akar <i>Morus alba</i>	0-60 µg/mL (untuk % penghambatan 0-62%)
Hasil uji	Ekstrak cair UAE urea-gliserin akar <i>Morus alba</i>	178,43 µg/mL

<Chromatogram>



Gambar 4. Kromatogram ekstrak cair akar murbei (Alishlah *et al.*, 2019)

Dilaporkan bahwa oksiresveratrol menghambat aktivitas tirosinase melalui penghambatan tirosinase senyawa stilben terhadap tirosinase jamur. Ini dilakukan melalui penghambatan secara kompetitif dan non-kompetitif terhadap L-tirosin dan non-kompetitif terhadap L-DOPA (Kim JK, Kim M, Cho, Kim MK, Kim SW, & Lim, 2010). Sebagai antioksidan yang kuat, oksiresveratrol mampu mengubah dopakuinon menjadi dopa sehingga mencegah pembentukan melanin. Dalam struktur oksiresveratrol, gugus hidroksi (OH) pada cincin aromatis membantu memecahkan ikatan rangkap O dengan gugus aromatis pada dopakuinon (O=C). Mekanisme reaksi ini serupa dengan mekanisme asam askorbat sebagai antioksidan untuk menghentikan aktivitas tirosinase (Chang, 2009).

Selain itu, diduga bahwa senyawa stilben, termasuk oksiresveratrol, menghambat tirosinase melalui proses khelat tembaga pada bagian aktif dari struktur tirosinase (Kim YM, Yun, Lee CK, Lee H, Min, & Kim Y, 2002). Dalam struktur oksiresveratrol, cincin B mengandung bagian 4-resorsinol dan cincin A mengandung 5-resorsinol. Ini menunjukkan bahwa resveratrol tanpa struktur 4-resorsinol memiliki aktivitas lima puluh kali lebih rendah daripada oksiresveratrol. Ini menunjukkan betapa pentingnya fungsi struktur resorsinol dalam aktivitas penghambatan tirosinase (Kim JK, Kim M, Cho, Kim MK, Kim SW, & Lim, 2010; Stratford, Ramsden, & Riley, 2013; Lee, Baek, & Nam, 2015).

Kesimpulan

Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak akar murbei (*Morus alba*) yang diekstraksi dengan metode NADES urea-gliserin dan UAE memiliki kandungan oksireveratrol yang lebih tinggi dibandingkan metode konvensional. Ekstrak dengan kondisi ekstraksi perbandingan urea:gliserin 1:3 dan diultrasonik selama 15 menit yang memiliki kandungan oksiresveratrol tertinggi dari penelitian sebelumnya, juga menunjukkan aktivitas antioksidan dan penghambatan tirosinase terbaik pada studi ini. Hasil uji aktivitas

antioksidan dan penghambatan tirosinase pada ekstrak akar murbei dengan metode ekstraksi NADES-UAE ini menunjukkan bahwa ekstrak memiliki potensi sehingga dapat dikembangkan sebagai bahan baku kosmetika untuk pencerah kulit dan memiliki efek antioksidan bagi kesehatan kulit.

Ucapan Terima Kasih

Peneliti mengucapkan terima kasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Indonesia dan Fakultas Farmasi Universitas Jember yang mendukung penelitian ini.

Referensi

- Alishlah, T., Mun'im, A., & Jufri, M., 2019, Optimization of Urea-Glycerin Based NADES-UAE for Oxyresveratrol Extraction from *Morus alba* Roots for Preparation of Skin Whitening Lotion, *Journal of Young Pharmacists*, 11(2): 155-160.
- Bi, W., Tian, M. & Row, K.H., 2013, Evaluation of alcohol-based deep eutectic solvent in extraction and determination of flavonoids with response surface methodology optimization, *Journal of Chromatography A*, 1285: 22–30.
- Boo, Y.C., 2019, Human Skin Lightening Efficacy of Resveratrol and Its Analogs: From in Vitro Studies to Cosmetic Applications, *Antioxidants (Basel)*, 8(9):332,doi:10.3390/antiox8090332.
- Chan, E.W.C., Lim, Y.Y., Wong, L.F., Lianto, F.S., Wong, S.K., Lim, K.K. & Lim, T.Y., 2008, Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species, *Food Chemistry*, 109: 477–483.
- Chang, L.W., Juang, L.J., Wang, B.S., Wang, M.Y., Tai, H.M., Hung, W.J., Chen, Y.J. & Huang, M.H., 2011, Antioxidant and Antityrosinase Activity of Mulberry (*Morus alba* L) twigs and Root Bark, *Food and Chemical Technology*, 49:785-790.
- Chang, T.S., 2009, An updated review of tyrosinase inhibitors, *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6): 2440–2475.
- Dai, Y., Witkamp, G.J., Verpoorte, R. & Choi, Y.H., 2013, Natural Deep Eutectic Solvents as a New Extraction Media for Phenolic Metabolites in *Carthamus tinctorius* L, *Analytical Chemistry*, pp.6272-6278.
- Faizatun, A.E., Djajadisastra, J. & Mardiyati, E., 2017, The Study of Antioxidant and Antityrosinase Activity of Extract from Mulberry Root (*Morus alba* L), *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 9(11): 2004-2008.
- Guaman-Balcazar, M.C., Setyaningsih, W., Palma, M. & Barroso, C.G., 2016, Ultrasound-assisted Extraction of Resveratrol from Functional Foods: Cookies and Jams, *Applied Acoustics*, 103: 207-213.
- Hsu, J.H., Yang, C.S. & Chen, J.J., 2022. Antioxidant, Anti- α -Glucosidase, Antityrosinase, and Anti-Inflammatory Activities of Bioactive Components from *Morus alba*, *Antioxidants (Basel)*, 11(11): 2222. doi: 10.3390/antiox11112222.
- Kim, J.K., Kim, M., Cho, S.G., Kim, M.K., Kim, S.W., & Lim, Y.H., 2010, Biotransformation of mulberroside A from *Morus alba* results in enhancement of tyrosinase inhibition, *Journal of Industrial Microbiology Biotechnology*, 37: 631–637.

- Kim, Y.M., Yun, J., Lee, C.K., Lee, H., Min, K.R., & Kim, Y., 2002, Oxyresveratrol and Hydroxystilbene Compounds Inhibitory Effect on Tyrosinase and Mechanism of Action, *The Journal of Biological Chemistry*, 277(18): 16340–16344.
- Lee, S.Y., Baek, N. & Nam, T., 2015, Natural, semisynthetic and synthetic tyrosinase inhibitors, *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, pp 1–13.
- Panja, P., 2017, Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials, *Food Science*, 17:1-10.
- Park, S.Y., Jin, B.R., Lee, Y.R., Kim, Y.J., Park, J.B., Jeon, Y.H., Choi, S.W. & Kwon, O., 2016, Postprandial hypoglycemic effects of mulberry twig and root bark in vivo and in vitro, *Journal of Nutrition and Health*, 49(1): 18 – 27.
- Peng, X., Duan, M.H., Yao, X.H., Zhang, Y.H., Zhao, C.J., Zu, Y.G. & Yu, J.F., 2016, Green Extraction of Five Target Phenolic Acids from *Lonicerae japonicae* Flos with Deep Eutectic Solvent, *Separation and Purification Technology*, pp.249-257.
- Ruesgas-Ramón, M., Figueroa-Espinoza, M.C. & Durand, E., 2017, Application of Deep Eutectic Solvents (DES) for Phenolic Compounds Extraction: Overview, Challenges, and Opportunities, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65(18): 3591-3601.
- Shin, N.H., Ryu, S.H., Choi, E.J., Kang, S.H., Chang, I.M., Min, K.R. & Kim, Y., 1998, Oxyresveratrol as The Potent Inhibitor on Dopa Oxidase Activity of Mushroom Tyrosinase, *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 243: 801–803.
- Stratford, M.R., Ramsden, C.A. & Riley, P.A., 2013, Mechanistic studies of the inactivation of tyrosinase by resorcinol, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 21: 1166–1173.
- Yao, X.H., Zhang, D.Y., Duan, M.H., Cui, Q., Xu, W.J., Luo, M., & Fu, Y.J. 2015, Preparation and Determination of Phenolic Compounds from *Pyrola incarnata* Fisch. with a Green Polyols Based-Deep Eutectic Solvent, *Separation and Purification Technology*, 149: 1-28.
- Zhou, J., Li, S., Wang, W., Guo, X., Lu, X., Yan, X., Huang, D., Wei, B. & Cao, L., 2013, Variations in the Levels of Mulberroside A, Oxyresveratrol, and Resveratrol in Mulberries in Different Seasons and during Growth, *The Scientific World Journal*, doi:10.1155/2013/380692.