



Fingerprints, Antioxidant Activity, and Anti-Tyrosinase of Fungus Comb Extract

Sidik Jari, Aktivitas Antioksidan, dan Anti-Tirosinase Ekstrak *Fungus comb*

Trisni Untari Dewi¹, Diva Putri Duposani², Eti Rohaeti^{2,3}, Dodi Nandika^{4,5}, Lina Karlinasari⁴, Arinana Arinana⁴, Djoko Santoso⁶, Lucia Dhiantika Witasari⁷, Yanti Rachmayanti⁸, Irmanida Batubara^{2,3*}

¹Faculty of Medicine, IPB University, Bogor, Indonesia

²Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, IPB University, Bogor, Indonesia

³Tropical Biopharmaca Research Center, IPB University, Bogor, Indonesia

⁴Department of Forest Products, Faculty of Forestry and Environment, IPB University, Bogor, Indonesia

⁵Biotechnology Center, IPB University, Bogor, Indonesia

⁶Faculty of Medicine, Universitas Airlangga, Surabaya, Indonesia

⁷Faculty of Agricultural Technology, Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia

⁸Division of Biochemistry, Institut Teknologi Bandung, Bandung, Indonesia

*Corresponding author: ime@apps.ipb.ac.id; (+62)8121105101

Received July 15, 2023; Accepted November 8, 2023; Available online December 22, 2023

ABSTRACT

Fungus comb is a structure made by termite colony Macrotermitinae with lots of potential because it contains secondary metabolites such as steroids, terpenoids, and saponins and compounds containing antioxidant and anti-tyrosinase properties. This study aimed to determine fungus comb extracts' fingerprint pattern, antioxidant capacity, and anti-tyrosinase activity. Thin layer chromatography (TLC) was used to determine fingerprint patterns. The resulting TLC pattern was processed with ImageJ and converted into a densitogram. The fungus comb was extracted with n-hexane and ethyl acetate. TLC results showed that fungus comb extracts contain steroids and terpenoids and have antioxidant properties. The antioxidant capacity assay was carried out with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl reagent. N-hexane extract had an antioxidant capacity value of 9.07 mg ascorbic acid equivalent (AAE)/g extract, while ethyl acetate extract had 6.04 mg AAE/g extract. Anti-tyrosinase activity assay was carried out with L-tyrosine and L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) as substrates. N-hexane extract had a better anti-tyrosinase activity with IC₅₀ of 1804 µg/mL for L-tyrosine and 6784 µg/mL for L-DOPA.

Keywords: antioxidant, anti-tyrosinase, fingerprint analysis, ImageJ, TLC

ABSTRAK

Fungus comb merupakan suatu struktur yang dibuat oleh koloni rayap Macrotermitinae dengan banyak potensi karena mengandung metabolit sekunder seperti steroid, terpenoid, dan saponin, serta senyawa yang memiliki sifat antioksidan dan anti-tirosinase. Tujuan penelitian ini adalah menemukan pola sidik jari serta menentukan kapasitas antioksidan dan aktivitas anti-tirosinase ekstrak *fungus comb*. Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk menggambarkan pola sidik jari. Pola KLT yang dihasilkan diolah dengan ImageJ dan diubah menjadi densitogram. *Fungus comb* diekstraksi dengan pelarut n-heksana dan etil asetat. KLT kromatogram menunjukkan ekstrak mengandung steroid dan terpenoid serta memiliki sifat antioksidan. Kapasitas antioksidan diuji dengan pereaksi 2,2-difenil-1-pikrihidrazil. Ekstrak n-heksana memiliki nilai kapasitas antioksidan 9.07 mg asam askorbat ekuivalen (AAE)/g ekstrak sedangkan ekstrak etil asetat memiliki nilai 6.04 mg AAE/g ekstrak. Aktivitas anti-tirosinase diuji dengan substrat L-tirosina dan L-3,4-dihidroksifenilalanin (L-DOPA). Ekstrak n-heksana memiliki aktivitas anti-tirosinase lebih baik dengan nilai IC₅₀ 1804 µg/mL untuk substrat L-tirosina dan 6784 µg/mL untuk substrat L-DOPA.

Kata Kunci: analisis sidik jari, antioksidan, anti-tirosinase, ImageJ, KLT

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara tropis yang memiliki lingkungan yang cocok untuk sejumlah besar spesies rayap bawah tanah, termasuk anggota subfamili Macrotermitinae (Isoptera: Termitidae). Rayap tanah dari subfamili Macrotermitinae memiliki sebaran geografis yang luas di Indonesia. Keberadaan kelompok rayap ini lebih dominan dibandingkan subfamili lainnya. Anggota subfamili ini hidup dalam struktur sosial dan sarangnya berupa gundukan dengan nodul yang rumit di dalamnya. Sarang ini memiliki *fungus comb* yang menjadi sumber makanan bagi anggota koloni, substrat untuk pertumbuhan jamur *Termitomyces sp.* (Arshad & Schnitzer, 1987). Oleh karena itu, rayap dari subfamili Macrotermitinae sering disebut sebagai rayap penumbuh jamur (fungus) (Subekti, 2010).

Studi efikasi ekstrak *fungus comb* yang dilakukan Nandika et al. (2023), disimpulkan ekstrak etil asetat, metanol, dan air dari bioaktivitas *fungus comb* gundukan *Macrotermes gilvus* Hagen mengandung senyawa aktif yang menghambat pertumbuhan *Aspergillus foetidus*. Dalam penelitian tersebut, bioaktivitas ekstrak jamur jengger diuji terhadap jamur busuk putih *Schizophyllum commune* Fr dan dihasilkan ekstrak etil asetat pada konsentrasi berkisar antara 2 sampai 6% dan ekstrak metanol pada konsentrasi 6% mempunyai bioaktivitas yang tinggi terhadap *S. komune*. Studi lainnya juga dilakukan oleh Witasari et al. (2022), ekstrak n-heksana, etil asetat, metanol, dan air dari *fungus comb* yang diisolasi dari gundukan rayap Indomalayan (*M. gilvus* Hagen) memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur melawan mikroorganisme pembusuk makanan termasuk *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Aspergillus flavus*, dan *Aspergillus niger*. Aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri uji dengan nilai konsentrasi hambat minimum (MIC) dan konsentrasi bakterisida minimum (MBC) masing-masing sebesar 0.39 dan 0.78 mg/mL, dan dihambat *A. flavus* dan *A. niger* dengan nilai MIC 0.78 mg/mL. Potensi lainnya dari senyawa bioaktif subfamili rayap endemik Indonesia, Macrotermitinae (Isoptera: Termitidae) dilakukan studi oleh Rachmayanti et al. (2022), Penelitian yang bertujuan untuk menganalisis potensi jamur jengger dari spesies subfamili Macrotermitinae Indonesia sebagai sumber antioksidan disimpulkan aktivitas antioksidan tertinggi terdapat pada ekstrak metanol yang dianalisis dengan TEAC (Kapasitas antioksidan

setara Trolox). Ekstrak jengger jamur dari gundukan rayap Indo-Malaya (*M. gilvus* (Hagen, 1858)) yang dimasukkan ke dalam film kitosan juga dapat menghambat menghambat *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923), dan *P. aeruginosa* (ATCC 27853), yang dapat diterapkan sebagai alternatif ramah lingkungan untuk memperpanjang umur simpan produk makanan (Witasari et al., 2023).

Menurut Caesario et al. (2023) *Termitomyces sp.* yang merupakan spesies jamur di hutan tropis di Afrika dan Asia Tenggara diteliti dapat meningkatkan sistem kekebalan tubuh, yang dapat terlihat pada hasil penelitian tersebut. Hasil penelitian yang dilakukan uji pada hewan coba dihasilkan profil hematologi pada hewan coba yang mendapat ekstrak etil asetat *fungus comb* (*Termitomyces sp.*) yang diinduksi penyuntikan lipopolisakarida (LPS) intraperitoneal tidak disertai tanda respon inflamasi. Menurut Nandika et al., (2021), *fungus comb* dari sarang *M. gilvus* memiliki sifat anti-fungi terhadap jamur pewarna kayu *A. foetidus* yang menyebabkan perubahan warna signifikan terhadap kayu karet. Kolonisasi dari fungi tersebut menyebabkan terjadinya proses mineralisasi pada kayu, yang mengakibatkan terjadinya diskolorasi. Diskolorasi pada kayu dipengaruhi oleh kristalisasi melanin di sekitar hifa jamur. Melanogenesis atau proses pembentukan melanin sangat dipengaruhi oleh enzim tirosinase yang dapat mengkatalisis sintesis melanin (Pillaiyar et al., 2017). Semakin aktif enzim tirosinase maka intensitas melanogenesis semakin bertambah (Zaidi et al., 2016).

Fungus comb kaya akan asam amino seperti arginin yang terlibat dalam sintesis protein, ureagenesis, sistem imun, aktivitas antioksidan, dan respons stress. Asam benzenapropanoat, 3,5-bis(1,1-dimetilet)-4-hidroksi-metil ester juga ditemukan dalam ekstrak n-heksana *fungus comb*. Kandungan senyawa-senyawa tersebut membuat *fungus comb* berpotensi sebagai antioksidan alami (Nandika et al., 2021). Pada penelitian ini bertujuan untuk membuktikan aktivitas *fungus comb* sebagai agen antioksidan dan anti-tirosinase alami melalui uji antioksidan dan uji anti-tirosinase.

METODE

Bahan uji *fungus comb* diperoleh dari sarang rayap *M. gilvus* di lokasi Hutan Percobaan Yanlappa (Y), kampus Institut Pertanian Bogor (BD), dan Hutan Cifor (SC). Bahan lainnya juga digunakan etil asetat

(Merck), n-heksana (Merck), asam sulfat (Merck), akuades, 2,2-difenil-1-pikrihidrazil (DPPH), enzim tirosinase, L-tirosina dan L-3,4-dihidroksifenilalanin (Sigma Aldrich, Steinheim, Jerman). Sampel *fungus comb* sebanyak 5 g diekstraksi menggunakan 10 mL pelarut. Sampel *fungus comb* pertama kali diekstraksi dengan pelarut n-heksana untuk mendapatkan zat ekstraktif non-polar. Ekstraksi dilanjutkan pada ampas hasil ekstraksi sebelumnya dengan menggunakan pelarut etil asetat untuk mendapatkan ekstrak semipolar. Ekstraksi dari masing-masing pelarut dilakukan selama 3x24 jam (Nandika et al., 2021).

Proses selanjutnya dilakukan penotolan ekstrak sampel *fungus comb* pada pelat dengan menggunakan pelat kromatografi lapis tipis (KLT) silika gel 60 F 254. Penotolan sampel menggunakan KLT aplikator semiotomatis, yaitu Camag Linomat 5. Pelat kemudian dikembangkan dengan fase gerak diklorometana di dalam bejana kromatografi. Pita-pita yang dihasilkan selanjutnya diamati di bawah sinar lampu UV dengan panjang gelombang (λ) 254 dan 366 nm. Pelat KLT kemudian disemprot dengan asam sulfat 10% dan dikeringkan dalam oven pada suhu 100°C selama 10 menit dan diamati di bawah sinar lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm. (Syafi'i et al., 2018).

Kromatogram ekstrak *fungus comb* diolah dengan peranti lunak ImageJ. Kromatogram ditandai dengan bentuk kotak. Proses penandaan pita komponen dilakukan untuk setiap pita yang terpisah. Setiap pita yang telah ditandai diubah menjadi densitogram. Setelah itu, dilakukan proses smoothing sebanyak 10 kali pada kromatogram KLT dan dibuat densitogram. Setiap puncak pada densitogram menghasilkan nilai area under curve (AUC). Nilai AUC ini dihasilkan berdasarkan intensitas warna yang ditimbulkan oleh masing-masing pita pada kromatogram KLT. Nilai AUC yang dihasilkan diplot dengan retardation factor (Rf) masing-masing pita. Nilai Rf pada sumbu X dan nilai AUC pada sumbu Y. (Fitrianti, 2011).

Proses selanjutnya dilakukan penentuan kapasitas antioksidan. Proses ini ditentukan dengan pereaksi DPPH. Sebanyak 100 μ L ekstrak ditambahkan dengan 100 μ L DPPH (5 mg DPPH dalam 100 mL etanol p.a.) ke dalam masing-masing sumur dari mikroplat. Setelah itu, mikroplat diinkubasi selama 30 menit pada ruang gelap. Absorbans diukur menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 517 nm. Konsentrasi ekstrak yang digunakan, yaitu 1000, 500, 250, 125, dan 62,5 μ g/mL Asam askorbat digunakan sebagai

kontrol positif. Kapasitas antioksidan dilaporkan sebagai mg asam askorbat ekivalen (AAE) /g ekstrak. (Batubara et al., 2020).

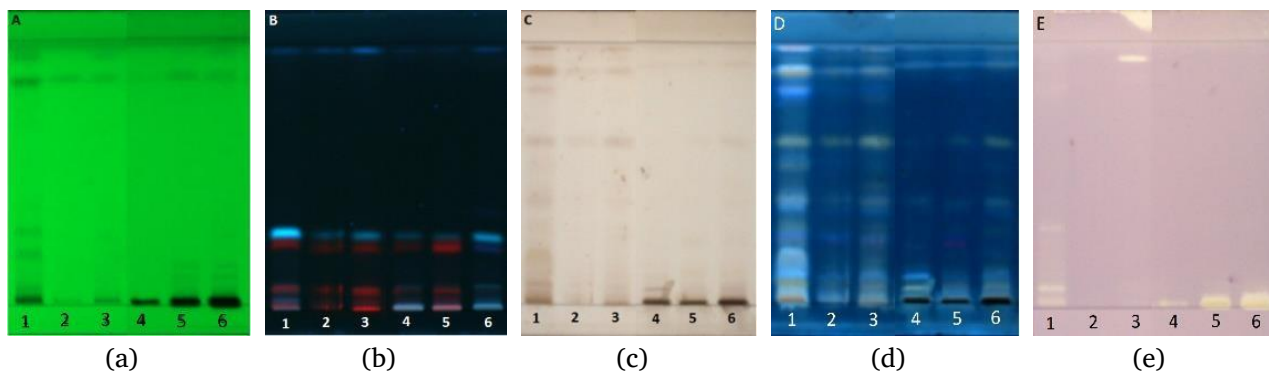
Penelitian ini juga melakukan penentuan aktivitas tirosinase. Ekstrak *fungus comb* sebanyak 70 μ L (1000, 3000, 5000, 7000, dan 9000 μ g/mL) dimasukkan ke dalam mikroplat dan ditambahkan 30 μ L enzim tirosinase. Pelat disimpan dalam ruang inkubasi (37 °C) selama 5 menit. Substrat 2 μ M L-tirosina atau 2 μ M L-DOPA sebanyak 110 μ L ditambahkan ke pelat. Pelat kemudian diinkubasi selama 30 menit. Nilai absorbans ditentukan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 492 nm. Aktivitas anti-tirosinase dilaporkan sebagai konsentrasi penghambatan enzim tirosinase 50% (IC₅₀). Asam kojat digunakan sebagai kontrol positif (Batubara et al., 2010).

HASIL & PEMBAHASAN

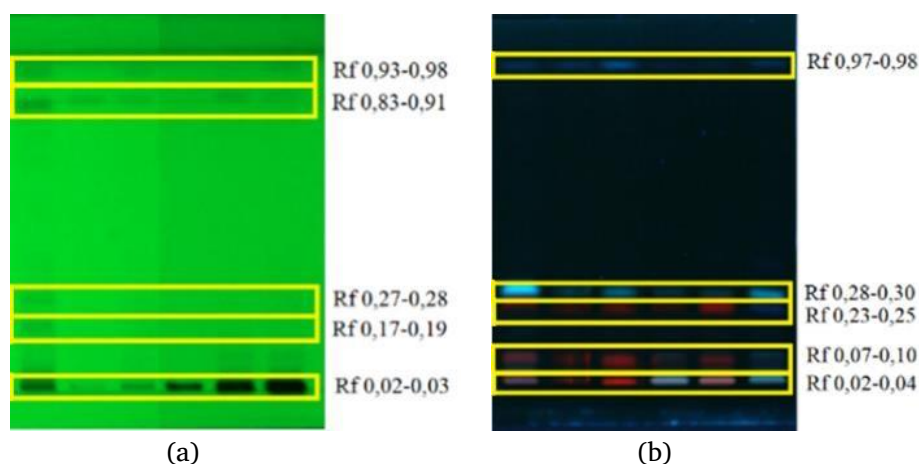
1. Sidik Jari Koromatografi Lapis Tipis

Hasil pemisahan menggunakan eluen diklorometana untuk enam sampel yang terdiri atas tiga sampel ekstrak n-heksana dan tiga sampel ekstrak etil asetat dapat dilihat pada **Gambar 2**. Sampel dengan kode Y diperoleh dari Hutan Percobaan Yanlappa, kode BD dari kampus Institut Pertanian Bogor, dan kode SC dari Hutan Cifor. Sampel *fungus comb* ditemukan di area dengan kelembapan tinggi, yaitu 75% hingga 90%. ImageJ digunakan untuk mengubah kromatogram menjadi densitogram. ImageJ digunakan karena merupakan platform yang sering digunakan untuk pemrosesan gambar, biasanya digunakan dalam bidang sains. ImageJ dikembangkan oleh Wayne Rasband di Institut Kesehatan National (NIH) di Amerika Serikat. ImageJ memiliki banyak kegunaan, seperti memisahkan warna primer (merah, hijau, biru) suatu gambar, mengubah hasil kromatogram gambar ke dalam bentuk plot, atau melakukan pengukuran dari suatu gambar (Rueden et al., 2017). ImageJ dapat menampilkan, mengedit, menganalisis, memproses, menyimpan, dan mencetak gambar 8-bit, 16-bit, dan 32-bit.

Program ini didukung dengan berbagai pengatur gambar, seperti pengatur ketajaman, kehalusan, kecerahan, warna, sudut, dan filter dari gambar yang akan diolah. Selain itu, dapat membantu dalam melakukan transformasi geometris, seperti scaling, rotasi, dan membalik (Ferreira & Rasband, 2010).



Gambar 1. Kromatogram ekstrak *fungus comb* pada UV 254 nm (a), UV 366 nm (b), pewarnaan dengan asam sulfat (c), pewarnaan dengan asam sulfat pada UV 366 nm (d), dan pewarnaan dengan DPPH (e). Sampel Y5 n-heksana (1), BD n-heksana (2), SC n-heksana (3), Y5 etil asetat (4), BD etil asetat (5), dan SC etil asetat (6)



Gambar 2. Rentang Rf kromatogram KLT ekstrak *fungus comb* pada sinar UV 254 dan 366 nm. Dari kiri ke kanan: lajur 1 ekstrak Y5 NH, lajur 2 BD NH, lajur 3 SC NH, lajur 4 Y5 EA, lajur 5 BD EA, dan lajur 6 SC EA

Sebelum diolah, dipilih gambar profil KLT dengan pemisahan yang paling baik. Gambar diolah dengan penandaan pita KLT, proses *smoothing*, dan normalisasi densitogram agar diperoleh nilai AUC yang lebih konsisten. Nilai AUC adalah nilai luas area di bawah kurva puncak densitogram. ImageJ dapat memperlihatkan besar kecilnya kandungan suatu senyawa dalam sampel melalui nilai AUC pada densitogram. Profil kromatogram KLT dari ekstrak n-heksana dan etil asetat *fungus comb* membentuk berbagai pita terpisah. Hal tersebut juga didukung dengan hasil densitogram yang menghasilkan puncak-puncak pada pita yang terpisah. Berdasarkan densitogram yang terbentuk, dihitung nilai Rf dan AUC-nya untuk memberikan informasi lebih lanjut mengenai profil KLT masing-masing ekstrak.

Berdasarkan penelitian sebelumnya, hasil analisis fitokimia pada *fungus comb* menunjukkan bahwa *fungus comb* mengandung senyawa metabolit sekunder seperti fenol hidrokuinon, steroid, terpenoid, dan saponin. Sedangkan alkaloid, flavonoid, dan tanin tidak terdeteksi dalam *fungus*

comb (Nandika et al., 2021). Pengamatan pita pada KLT dilakukan di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, pereaksi asam sulfat, dan pereaksi DPPH. **Gambar 1** menunjukkan perbedaan jumlah dan warna pita yang dihasilkan dari masing-masing perlakuan KLT. Pengamatan pada lampu UV 254 nm menghasilkan fluoresensi pada latar belakang kromatogram dan pita sampel berwarna gelap. Pengamatan pada lampu UV 366 nm menghasilkan latar belakang kromatogram yang gelap dan pita sampel yang berfluoresensi. Nilai Rf dan warna pita yang dihasilkan digunakan untuk mengidentifikasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung. Pereaksi asam sulfat digunakan untuk mendeteksi senyawa metabolit sekunder saponin (Gleńsk et al., 2005), steroid, dan terpenoid (Gerlach et al., 2018). Pereaksi DPPH digunakan untuk mendeteksi senyawa yang memiliki sifat antioksidan (Agatonovic-Kustrin et al., 2019).

Kromatogram KLT yang dilihat di bawah sinar UV 254 nm menghasilkan pita-pita berwarna hijau tua-kehitaman. Pita-pita tersebut diduga merupakan

senyawa steroid (Fasya et al., 2020). Kromatogram KLT pada sinar UV 366 nm menghasilkan pita-pita berwarna biru tua, biru terang, dan merah. Pita merah pada sinar UV 366 nm tidak tampak di bawah sinar UV 254 nm. Pita merah ini diduga merupakan senyawa metabolit sekunder terpenoid (Mutiah et al., 2022). Pita merah muncul pada rentang Rf 0.02-0.04, Rf 0.07-0.10, dan Rf 0.23-0.25 seluruh KLT ekstrak kecuali ekstrak SC etil asetat. Pita-pita biru yang terlihat di bawah sinar UV 366 nm diduga merupakan senyawa metabolit sekunder steroid (Mutiah et al., 2022). Pita biru terlihat pada rentang Rf 0.28-0.30 dan Rf 0.97-0.98. KLT ekstrak SC etil asetat hanya menghasilkan pita-pita biru yang artinya ekstrak tersebut hanya mengandung steroid.

Kromatogram dengan pereaksi asam sulfat di bawah cahaya sinar tampak menghasilkan pita berwarna coklat tua, pita-pita ini diduga merupakan senyawa terpenoid. Pita-pita berwarna ungu muda diduga merupakan senyawa golongan triterpenoid (Paul et al., 2012). KLT setelah penyemprotan asam sulfat di bawah sinar UV 366 nm menghasilkan hingga 10 pita dan merupakan yang paling banyak dibandingkan perlakuan KLT lain. Warna-warna pita yang dihasilkan, yaitu coklat, kuning, biru, merah, dan ungu. Pita biru, ungu dan merah yang dihasilkan diduga merupakan senyawa terpenoid (Agatonovic-Kustrin et al., 2019). Pada pelat KLT setelah penyemprotan dengan DPPH, senyawa yang memiliki sifat antioksidan akan memunculkan warna pita kuning terhadap warna ungu pelat KLT (Agatonovic-Kustrin et al., 2019). Berdasarkan hasil KLT, dapat dilihat bahwa hampir seluruh ekstrak n-heksana dan etil asetat memiliki sifat antioksidan.

Hanya ekstrak BD n-heksana yang tidak memiliki sifat antioksidan.

Kromatogram KLT ekstrak Y5 n-heksana pada deteksi sinar UV 254 nm menunjukkan 5 pita yang terpisah, sedangkan kromatogram ekstrakBD dan SC n-heksana hanya menghasilkan 2 pita yang terpisah. Menggunakan ImageJ, nilai AUC tiap pita ditentukan. Nilai AUC dapat menunjukkan konsentrasi senyawa pada *fungus comb*. Semakin tinggi nilai AUC, maka semakin besar konsentrasi senyawa yang terkandung. Nilai AUC dan rentang Rf ekstrak pada UV 366 nm dapat dilihat pada **Tabel 1**. Berdasarkan kromatogram, ekstrak Y5 NH memiliki nilai AUC pada pita 4 yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak n-heksana lainnya. Hal ini menunjukkan ekstrak Y5 NH memiliki konsentrasi steroid yang paling tinggi. Sementara ekstrak SC EA memiliki nilai AUC pada pita 4 yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat lainnya. Ekstrak SC NH memiliki konsentrasi terpenoid yang tinggi yaitu pada pita pertamanya, sedangkan ekstrak BD EA memiliki kandungan terpenoid lebih tinggi dibandingkan ekstrak etil asetat lainnya terutama pada pita 1 dan 3. Perbedaan pada nilai AUC dan senyawa yang terkandung pada masing-masing ekstrak dapat disebabkan oleh perbedaan lokasi ditemukannya *fungus comb*. Selain itu, pelarut yang digunakan untuk mengekstraksi sampel juga dapat mempengaruhi hasil tersebut. Pelarut n-heksana bersifat nonpolar dan pelarut etil asetat bersifat semipolar yang dapat melarutkan metabolit sekunder steroid, terpenoid, fenol hidrokuinon, dan saponin yang terkandung dalam sampel (Nandika et al., 2021).

Tabel 1. Nilai AUC dan rentang Rf kromatogram KLT pada UV 366 nm

Ekstrak	Pita (Rentang Rf)				
	Pita 1 (0.02-0.04)	Pita 2 (0.07-0.10)	Pita 3 (0.23-0.25)	Pita 4 (0.28-0.30)	Pita 5 (0.97-0.98)
Y5 NH	3211.397	1242.841	-	11194.882	1320.355
BD NH	798.355	434.163	171.385	1428.841	1173.477
SC NH	1572.891	1108.012	243.456	2575.719	2276.305
Y5 EA	4744.355	466.698	62.607	954.062	541.406
BD EA	3715.719	562.355	804.548	531.719	350.799
SC EA	4147.619	534.991	284.991	3646.276	747.042

2. Kapasitas Antioksidan

Penentuan kapasitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa metode seperti DPPH, FRAP, dan ABTS. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode DPPH dan hanya dilakukan pada ekstrak dengan *fungus comb* yang

berasal dari Hutan Percobaan Yanlappa. Ekstrak tersebut dipilih karena pada kromatogram KLT menunjukkan hasil pemisahan yang lebih baik dibandingkan ekstrak dari 2 tempat lainnya. Data kapasitas antioksidan dua ekstrak *fungus comb* dapat dilihat pada **Tabel 2**. Kapasitas antioksidan ekstrak n-heksana lebih tinggi dibanding ekstrak etil asetat.

Namun, apabila dibandingkan dengan senyawa antioksidan alami, seperti vitamin C, vitamin E, α -tokoferol, β -karoten nilai-nilai tersebut relatif kecil (Mansour-Gueddes & Saidana-Naija, 2021).

Hasil kapasitas antioksidan sesuai dengan kromatogram KLT setelah diaplikasikan pereaksi DPPH. Kromatogram KLT menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana lebih banyak mengandung

senyawa yang memiliki sifat antioksidan. Dapat dilihat dari **Tabel 3** bahwa ekstrak Y5 n-heksana adalah satu-satunya ekstrak yang menghasilkan lebih dari satu pita dengan sifat antioksidan. Hasil tersebut juga sesuai dengan penelitian Nandika et al. (2021) yang menyatakan bahwa senyawa dominan dengan sifat antioksidan hanya muncul pada ekstrak n-heksana.

Tabel 2. Kapasitas antioksidan dua ekstrak *fungus comb*

Sampel	Kapasitas antioksidan (mg AAE/g ekstrak)
Ekstrak n-heksana	9.07
Ekstrak etil asetat	6.04

Tabel 3. Nilai AUC dan rentang Rf kromatogram KLT pewarnaan DPPH

Ekstrak	Pita (Rentang Rf)				
	Pita 1 (0.02-0.03)	Pita 2 (0.08)	Pita 3 (0.24-0.29)	Pita 4 (0.82)	Pita 5 (0.93-0.94)
Y5 NH	2527.497	1529.891	725.406	596.163	-
BD NH	-	-	-	-	-
SC NH	-	-	-	-	2880.083
Y5 EA	1883.376	-	-	-	-
BD EA	3414.983	-	-	-	-
SC EA	4637.480	-	-	-	-

3. Inhibisi Tirosinase

Penentuan aktivitas penghambatan tirosinase menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana memiliki aktivitas penghambatan yang lebih tinggi dalam substrat L-tirosina dan L-DOPA dibandingkan dengan ekstrak etil asetat. Nilai IC50 kedua ekstrak tersebut masih sangat tinggi yang artinya kedua ekstrak merupakan inhibitor tirosinase yang sangat lemah

dibandingkan dengan standar, yaitu asam kojat. Asam kojat umum digunakan sebagai standar karena telah diketahui merupakan inhibitor tirosinase yang sangat kuat. Data tersebut dapat dilihat dari nilai IC50 masing-masing sampel yang disajikan pada **Tabel 4**.

Berdasarkan hasil yang didapat diduga diskolorasi pada kayu hanya sedikit disebabkan oleh aktivitas penghambatan tirosinase.

Tabel 4. IC50 penghambatan tirosinase dua ekstrak *fungus comb*

Sampel	Rerata IC50 ($\mu\text{g/mL}$) \pm SD pada substrat	
	L-tirosina	L-DOPA
Ekstrak n-heksana	1804 \pm 5.91	6784 \pm 38.3
Ekstrak etil asetat	2711 \pm 18.8	9074 \pm 67.1
Asam kojat	47.7 \pm 3.55	74.0 \pm 7.88

KESIMPULAN

Hasil analisis sidik jari ekstrak n-heksana dan etil asetat *fungus comb* menunjukkan keterpisahan yang cukup baik. Kapasitas antioksidan dan penghambatan tirosinase ekstrak n-heksana *fungus comb* lebih tinggi, yaitu 9.07 mg AAE/g ekstrak, nilai IC50 1804 $\mu\text{g/mL}$ untuk substrat L-tirosina dan 6784 $\mu\text{g/mL}$ untuk substrat L-DOPA dibandingkan dengan ekstrak etil asetat (6.04 mg AAE/g ekstrak, IC50 2711 $\mu\text{g/mL}$ untuk substrat L-tirosina dan 9074 $\mu\text{g/mL}$ untuk substrat L-DOPA). Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan dengan memperbanyak jenis sampel yang digunakan. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi

senyawa aktif yang berperan sebagai antioksidan dan inhibitor tirosinase. Perlu dilakukan uji antioksidan dan anti-tirosinase dengan konsentrasi sampel lebih tinggi untuk hasil yang lebih baik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini di danai oleh *IPB University*, Institut Teknologi Bandung, Universitas Gajah Mada dan Universitas Airlangga Negara Republik Indonesia melalui Riset Kolaborasi Program Pendanaan Tahun 2022 (Nomor Kontrak 13326/IT3.L1/PT.01.03/P/B/2022).

DAFTAR PUSTAKA

- Agatonovic-Kustrin, S., Kustrin, E., Gegechkori, V., & Morton, D. W. (2019). High-performance thin-layer chromatography hyphenated with microchemical and biochemical derivatizations in bioactivity profiling of marine species. *Marine Drugs*, 17(3). <https://doi.org/10.3390/md17030148>
- Arshad, M. A., & Schnitzer, M. (1987). The chemistry of a termite fungus comb. *Plant and Soil*, 98(2), 247–256. <https://doi.org/10.1007/BF02374828>
- Batubara, I., Darusman, L. K., Mitsunaga, T., Rahminiwati, M., & Djauhari, E. (2010). Potency of Indonesian medicinal plants as tyrosinase inhibitor and antioxidant agent. *Journal of Biological Sciences*, 10(2), 138–144. <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.138.144>
- Batubara, I., Maily, Wahyuni, W. T., Tilaar, K., Nurcholih, W., Junardy, F. D., Priyadi, Y. S., Subroto, E. M., Egra, S., & Zamany, N. (2020). Tyrosinase Inhibition, Antiglycation, and Antioxidant Activity of *Xylocarpus granatum*. *Biosaintifika*, 12(1), 70–75. <https://doi.org/10.15294/biosaintifika.v12i1.22676>
- Caesario, J., Hertanto, D. M., Susanto, H., Sudiana, K., Nandika, D., Karlinasari, L., Arinana, A., Batubara, I., Witasari, L. D., Rachmayanti, Y., Firmansyah, D., & Santoso, D. (2023). Hematological Profile of Mice After Ethyl Acetate Extract of Fungus Comb of Indo-Malayan Termite (*Macrotermes gilvus* Hagen) Mound Supplementation in Regulating Lipopolysaccharide-induced Inflammatory Response. *Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences*, 19(SUPP3), 57–63.
- Fasya, A. G., Amalia, S., Megawati, D. S., Salima, F., Kusuma, V. A., & Purwanto, B. (2020). Isolation, identification, and bioactivity of steroids isolates from *Hydrilla verticillata* petroleum ether fraction. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 456(1), 012009. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/456/1/012009>
- Ferreira, T., & Rasband, W. (2010). *The ImageJ User Guide - Version 1.43*. <http://rsbweb.nih.gov/ij/docs/user-guide.pdf>
- Fitrianti, S. A. (2011). *Diferensiasi Temulawak, Kunyit, dan Bangle Berdasarkan Interpretasi Kromatografi Lapis Tipis Menggunakan Imagej* [IPB University]. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/52592>
- Gerlach, A. da C. L., Gadea, A., Silveira, R. M. B. da, Clerc, P., & Dévéhat, F. L. (2018). The use of anisaldehyde sulfuric acid as an alternative spray reagent in TLC analysis reveals three classes of compounds in the genus *Usnea* Adans. (Parmeliaceae, lichenized Ascomycota). *Preprints*, 2018020151(February), 1–9. <https://doi.org/10.20944/PREPRINTS201802.0151.V1>
- Gleńsk, M., Włodarczyk, M., Radom, M., & Cisowski, W. (2005). TLC as a rapid and convenient method for saponin investigation. *Journal of Planar Chromatography - Modern TLC*, 18(2), 167–170. <https://doi.org/10.1556/JPC.18.2005.2.15>
- Mansour-Gueddes, S. Ben, & Saidana-Naija, D. (2021). *Vitamin E: Natural Antioxidant in the Mediterranean Diet*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.99705>. Di dalam: Erkekoglu P, Santos JS, Blumenberg M, editor. 2021. Vitamin E in Health and Disease - Interactions, Diseases and Health Aspects. London: IntechOpen.
- Mutiah, R., Ulfah, J., Amrulloh, M. F., Suryadinata, A., Indrawijaya, Y. Y. A., & Rahmawati, A. (2022). Induction of *Helianthus annuus* Leaves Extract to HeLa cell Apoptosis and Cell Cycle Arrest in S, G2-M and M5 Phase. *Indonesian Journal of Cancer Chemoprevention*, 13(1). <https://doi.org/10.14499/indonesianjcanchemoprev13iss1pp1-11>
- Nandika, D., Arinana, A., Karlinasari, L., Batubara, I., Santoso, D., Witasari, L. D., Rachmayanti, Y., Firmansyah, D., Sudiana, I. K., Hertanto, D. M., Hadi, Y. S., & Rahman, M. M. (2023). Efficacy of Fungus Comb Extracts Isolated from Indo-Malayan Termite Mounds in Controlling Wood-Decaying Fungi. *Forests*, 14(6), 1115. <https://doi.org/10.3390/f14061115>
- Nandika, D., Karlinasari, L., Arinana, A., Batubara, I., Sitanggang, P. S., Santoso, D., Witasari, L. D., Rachmayanti, Y., Firmansyah, D., Sudiana, I. K., & Hertanto, D. M. (2021). Chemical Components of Fungus Comb from Indo-Malayan Termite *Macrotermes gilvus* Hagen Mound and Its Bioactivity against Wood-Staining Fungi. *Forests* 2021, Vol. 12, Page 1591, 12(11), 1591. <https://doi.org/10.3390/F12111591>
- Paul, M., Brüning, G., Bergmann, J., & Jauch, J. (2012). A thin-layer chromatography method for the identification of three different olibanum resins (*Boswellia serrata*, *Boswellia papyrifera* and *Boswellia carterii*, respectively, *Boswellia sacra*). *Phytochemical Analysis*, 23(2), 184–189. <https://doi.org/10.1002/pca.1341>
- Pillaiyar, T., Manickam, M., & Namasivayam, V. (2017). Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32(1), 403. <https://doi.org/10.1080/14756366.2016.1256882>
- Rachmayanti, Y., Firmansyah, D., Umma, R. R. isatul, Hertanto, D. M., Sudiana, I. K., Santoso, D., Nandika, D., Karlinasari, L., Arinana, A., Batubara, I., & Witasari, L. D. (2022). Antioxidant Activity of Fungus Comb Extracts Isolated from Indo-Malayan Termite *Macrotermes gilvus* Hagen (Isoptera: Termitidae). *Indonesian Journal of Chemistry*, 22(6), 1693–1704. <https://doi.org/10.22146/ijc.77227>
- Rueden, C. T., Schindelin, J., Hiner, M. C., DeZonia, B. E., Walter, A. E., Arena, E. T., & Eliceiri, K. W. (2017). ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC Bioinformatics*, 18(1). <https://doi.org/10.1186/s12859-017-1934-z>
- Subekti, N. (2010). *Kelimpahan, sebaran, dan arsitektur sarang serta ukuran populasi rayap tanah* [IPB University]. <http://repository.ipb.ac.id/handle/123456789/55276>
- Syafi'i, M., Rohaeti, E., Wahyuni, W. T., Rafi, M., & Septaningsih, D. A. (2018). Analisis Sidik Jari Kromatografi Lapis Tipis Rimpang Temu Mangga (*Curcuma mangga*). *Jurnal Jamu Indonesia*, 3(3), 109–115. <https://doi.org/10.29244/jji.v3i3.68>
- Witasari, L. D., Lizar, D. P., Florencia, O. M., Ramadhan, A., Fiana, N. A. O., Supriyadi, S., Pratiwi, S. U. T., Nandika, D., Karlinasari, L., Arinana, A., Batubara, I., Santoso, D., Sudiana, I. K., Hertanto, D. M., Rachmayanti, Y., &

- Firmansyah, D. (2023). Designing antimicrobial active packaging films based on chitosan plus fungus comb ethyl acetate extract from Indo-Malayan termite mounds. *Biodiversitas*, 24(11), 5947–5955. <https://doi.org/10.13057/biodiv/d241113>
- Witasari, L. D., Wahyu, K. W., Anugrahani, B. J., Kurniawan, D. C., Haryanto, A., Nandika, D., Karlinasari, L., Arinana, A., Batubara, I., Santoso, D., Rachmayanti, Y., Firmansyah, D., Sudiana, I. K., & Hertanto, D. M. (2022). Antimicrobial activities of fungus comb extracts isolated from Indomalayan termite (*Macrotermes gilvus* Hagen) mound. *AMB Express*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01359-0>
- Zaidi, K. U., Ali, S. A., & Ali, A. S. (2016). Effect of Purified Mushroom Tyrosinase on Melanin Content and Melanogenic Protein Expression. *Biotechnology Research International*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/9706214>

Citation Format: Dewi, T. U., Diposani, D. P., Rohaeti, E., Nandika, D., Karlinasari, L., Arinana, A., Santoso, D., Witasari, L. D., Rachmayanti, Y., & Batubara, I. (2023). Fingerprints, Antioxidant Activity, and Anti-Tyrosinase of Fungus Comb Extract. *Jurnal Jamu Indonesia*, 8(3), 106–113. <https://doi.org/10.29244/jji.v8i3.346>