



PROSIDING I

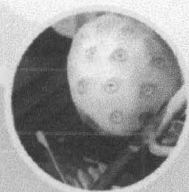
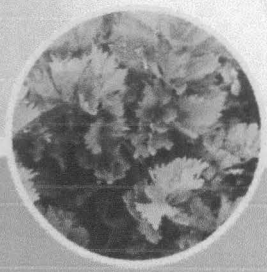
Seminar Nasional

Tumbuhan Obat Indonesia XXXVII

3.4

**Pemanfaatan Tumbuhan Obat Indonesia
untuk Peningkatan Derajat Kesehatan
dan Ekonomi Masyarakat**

**Seledri (*Apium graveolens*)
Kwalot / buah makasar (*Brucea javanica* Merr.)**



Universitas Bengkulu, 11 - 12 November 2009



**UNIB PRESS
2009**

**PROSIDING I
SEMINAR NASIONAL TUMBUHAN OBAT
INDONESIA XXXVII**

**PEMANFAATAN TUMBUHAN OBAT INDONESIA
UNTUK PENINGKATAN DERAJAT KESEHATAN DAN
EKONOMI MASYARAKAT**

Tim Editor

Ketua

Usman Siswanto

Anggota

Bambang Gonggo Murcitra

Choirul Muslim

Sarwit Sarwono

Eko Suprijono

Agus Martono H Putranto

Marwan Arwani

Pandu Imam Sudibyo

Tim Pelaksana Teknis

Joko Susetyanto

Indra Cahyadinata

Hardiansyah

Renny Rastiyanti

Teti Rohayati

Patriyani

Desna Yetri

Neneng Listiana

Tata Rupa Sampul

M Suryana

Widarto



UNIB PRESS

2009

Kata Pengantar

Secara global terdapat antara 300.000 sampai 500.000 spesies tumbuhan. Dari jumlah tersebut, banyak tumbuhan yang bermanfaat sebagai obat. Hasil penelitian menunjukkan sekitar 50.000 spesies tumbuhan telah lama dimanfaatkan sebagai obat tradisional, terutama di negara-negara berkembang di mana akses terhadap pelayanan kesehatan modern dibatasi oleh beberapa faktor seperti mahalnya biaya obat-obatan modern impor dan jauhnya jarak dari rumah sakit. Badan Kesehatan Dunia menyebutkan sekitar 80% penduduk di Negara berkembang termasuk Indonesia bertumpu pada obat tradisional dalam pelayanan kesehatan dasar. Di Cina 30 sampai 50 persen konsumsi obat-obatan dipenuhi dari obat herbal tradisional. Bahkan di Jepang dan Amerika di mana akses terhadap pengobatan modern relatif terjangkau, obat tradisional masih berperan penting. Tahun 2001 Amerika membelanjakan 4,2 miliar dollar untuk obat herbal.

Fakta menunjukkan bahwa sebagian besar informasi tentang obat-obatan yang berasal dari tumbuhan dapat ditemukan pada pengobat tradisional baik dalam bentuk dokumen tertulis seperti Ayurveda, Kampo, dan pengobatan tradisional Cina maupun dalam bentuk lisan yang diturunkan antar-generasi. Ilmuwan dapat belajar, mengeksplorasi, dan mengembangkan pengetahuan pengobatan asli sehingga menjadi lebih bermanfaat dalam meningkatkan derajat kesehatan dan ekonomi mereka.

Indonesia dikenal sebagai negara kedua setelah Brazil yang memiliki "megabiodiversity". Kekayaan botani ini menawarkan kesempatan tidak terbatas untuk mengembangkan produk obat-obatan yang memiliki potensi pasar baik lokal maupun internasional, menciptakan lapangan pekerjaan, dan meningkatkan pendapatan masyarakat. Ilmu pengetahuan dari berbagai disiplin keahlian berperan sentral dalam menghasilkan obat-obatan yang berkhasiat dan aman dikonsumsi.

Prosiding I memuat 33 artikel yang disajikan dalam seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXXVII. Artikel mencakup hasil penelitian tumbuhan obat seperti *Apium graveolens*, *Brucea javanica*, *Nigella sativa* L., *Tinaspora crispa*, *Centella asiatica*, *Phaleria papuana*, *Artemisia annua*, *Rauwolfia serpentine*, *Curcuma xanthorrhiza*, *Shorea accuminatissima*, *Caesalpinia sappan*, *Roellia coerulea*, *Phyllanthus niruri* yang dikaji dari

aspek farmakologi, fitokimia, etnobotani, dan agroteknologi. Prosiding ini merupakan hasil kerja sama antara Universitas Bengkulu dengan Kelompok Kerja Nasional Tumbuhan Obat Indonesia.

Informasi yang dikemas dalam bentuk kompilasi artikel ini dimaksudkan untuk mendorong peneliti, dosen, pemerhati, pemerintah, dunia usaha, dan masyarakat luas dalam melakukan upaya penggalian, pengembangan, pemanfaatan obat yang berasal dari tumbuhan, serta mengupayakan pelestariannya. Selanjutnya diharapkan agar dapat dibangun kerja sama yang saling bersinergi antar berbagai pihak.

DAFTAR ISI

Kata Pengantar
Daftar Isi

iii
v

No	Judul/Penulis	Halaman
1	GAMBARAN JUMLAH DAN HITUNG JENIS LEUKOSIT SERTA WAKTU JENDAL DARAH PADA TIKUS PUTIH BETINA <i>Sprague Dawley</i> YANG DIINDUKSI 7,12-Dimetilbenz(α)antrasen (DMBA) SETELAH PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL BIJI JINTEN HITAM (<i>Nigella sativa</i> L). Akrom dan Ermawati, M.I	1 - 13
2	KEANEKARAGAMAN TANAMAN HIAS YANG DIMANFAATKAN SEBAGAI OBAT TRADISIONAL OLEH PENDUDUK DESA KEMBANG SERI KECAMATAN TALO KABUPATEN SELUMA. Ariefa.P.Yani , Kasrina, dan Hidayat Yusrin	14 - 18
3	KINERJA TEMULAWAK (<i>C. xanthorrhiza</i> , Roxb) DALAM TABUT BLOK DAN KONSENTRAT TERHADAP PRODUKSI SUSU DAN LEMAK SUSU RUMINANSIA LAKTASI . Endang Sulistyowati	19 - 25
4	EFEK SITOTOSIK TETRAMER RESVERATROL DARI KULIT BATANG <i>SHOREA ACCUMINATISSIMA</i> TERHADAP SEL MURIN LEUKEMIA P-388. Haryoto, Broto Santoso, Agustono Wibowo	26 - 33
5	UJI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (<i>Physalis angulata</i> 33NHR) TERHADAP PENURUNAN EKSPRESI GEN <i>pho85</i> SEL MODEL APOPTOSIS <i>Saccharomyces cerevisiae</i> . Sri Hartin Rahaju dan Novik Nurhidayat	34 - 41
6	RECENT DEVELOPMENTS IN EXPLOITING DUKUNG ANAK (<i>Phyllanthus niruri</i> L.) AS SOURCE OF BIOPHARMACA- A Review. Masturah Markom, Wan Ramli Wan Daud, Masitah Hasan, Kurnia Harlina Dewi	42 - 55
7	PENAPISAN TANAMAN OBAT INDONESIA SEBAGAI INHIBITOR TIROSINASE Irmanida Batubara, Tohru Mitsunaga, Latifah K Darusman, Edy Djauhari	56 - 65
8	KEMAMPUAN SECANG DALAM MENURUNKAN PRODUKSI TNF TNF-α: POTENSINYA SEBAGAI ANTIJERAWAT. Irmanida Batubara, Tohru Mitsunaga, Satoko Kotsuka, Mohamad Rafi, Siti Sa`diah	66 - 72
9	PIRANOSANTON DARI KULIT BATANG MANGGIS HUTAN (<i>Garcinia bancana</i> Miq.) DAN AKTIVITAS ANTIBAKTERINYA. Muharni dan Elfita	73 - 78
10	PEMISAHAN FRAKSI DAN SENYAWA-SENYAWA YANG BERSIFAT ANTIPLASMODIUM DARI EKSTRAK METANOL KULIT KAYU MIMBA (<i>Azadirachta indica</i> Juss). Muhtadi	79 - 91

11	KAJIAN KONSENTRASI BAP DAN 2,4-D TERHADAP INDUKSI KALUS TANAMAN ARTEMISIA SECARA IN VITRO. Samanhudi	92 - 106
12	AKTIVITAS BIOLOGI METABOLIT SEKUNDER KAPANG ENDOFIT TANAMAN BUAH MAKASSAR [<i>Brucea javanica</i> (L) Merr.]. Shirly Kumala	107 - 119
13	PENGUJIAN EFEK MINYAK JINTEN (<i>Nigella sativa</i> L.) TERHADAP PARAMETER KERUSAKAN HATI (ALAT dan ASAT) PADA TIKUS WISTAR Sriningsih, dan Agung Eru Wibowo	120 - 125
14	UJI KUALITAS HERBA PEGAGAN (<i>Centella asiatica</i> (L.) Urb) HASIL PANEN DARI PENANAMAN DI DAERAH TAWANGMANGU. Sutjipto	126 - 130
15	POTENSI OBAT DAN EKOLOGI KAYU 7 LAPIS DI PROVINSI BENGKULU. S. Nurmuin dan Linda Anggriani	131 - 135
16	<i>Cinnamomum poretum</i> (Roxb.) Kosterm. : PENGHASIL MINYAK ATSIRI DAN ANCAMAN KEPUNAHAN (<i>Cinnamomum poretum</i> (Roxb.) Kosterm. : <i>Essential oil product and extinction threat</i>). Titik Kalima	136 - 142
17	KAJIAN ETNOBOTANI DI BEBERAPA KAWASAN HUTAN CAGAR ALAM, JAWA TIMUR. Titiek Setyawati	143 - 154
18	KEKERABATAN FILOGENETIK BUAH MAKASSAR (<i>Brucea javanica</i>) BERDASARKAN GEN RIBULOSA-1,5-BIFOSFAT KARBOKSIDASE/OKSIGENASE. Tri Widayat, dan Dyah Subositi	155 - 161
19	EFEK EKSTRAK KULIT BUAH JERUK PURUT (<i>Citrus hystrix</i> DC) TERHADAP KOLONISASI <i>Salmonella thypimurium</i> di Ileum Mencit (Upaya untuk mendapatkan kandidat obat demam tifoid). Zulvikar Syam Bani Ulhaq, Tenta Hartian H, dan Faizanah Bt. Mohd Shaul Hameed	162 - 168
20	EFEK EKSTRAK KULIT KAYU DURIAN (<i>Durio zibethinus</i> Murr.) TERHADAP EKSPRESI <i>inducible Nitric Oxide Synthase</i> (iNOS) DAN STRUKTUR JARINGAN PERIARTIKULER PADA MODEL TIKUS PUTIH Arthritis Ajuvan. Zulvikar Syam Bani Ulhaq dan Tenta Hartian Hendyatama	169 - 178
21	AGREGASI PLATELET MENCIT JANTAN GALUR DDY YANG MEMPEROLEH DAUN TANJUNG (<i>Mimusops elengi</i> Linn.), DAUN BELIMBING MANIS (<i>Averrhoa carambola</i> Linn.), DAN RIMPANG TEMULAWAK (<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb.) TUNGGAL DAN CAMPURANNYA. Min Rahminiwati, Mulyati Effendi, dan Bagus Wijayanto	179 - 187
22	POTENSI BIOLARVASIDA HUTUN (<i>Barringtonia asiatica</i> K) TERHADAP LARVA NYAMUK Famili Anophelidae dan Culicidae. Maria Nindatu, Johannes Pelamonia, Novie S. Rupilu, Joseph Pagaya, Martha Kaihena, Subagyo Yotopranoto, Aty Widyawaruyanti	188 - 197
23	PENGARUH PEMBERIAN KOMBINASI EKSTRAK DAUN SELEDRI DAN HERBA PEGAGAN TERHADAP FUNGSI GINJAL DITINJAU DARI KADAR KREATININ DAN UREA PLASMA TIKUS PUTIH. Santi Purna Sari dan Oktavianti	198 - 204

	Permatasari	
24	SPEKTROSKOPI FTIR DAN PENGENALAN POLA KIMIA UNTUK IDENTIFIKASI CEPAT ASAL GEOGRAFIS SELEDRI (<i>Apium graveolens</i>). Mohamad Rafi, Edy Djauhari Purwakusumah, Utami Dyah Syafitri, Waras Nurcholis, Latifah K. Darusman	205 - 211
25	UJI TOKSISITAS BIOINSEKTISIDA EKSTRAK BIJI MAHKOTA DEWA (<i>Phaleria papuana</i> Warb.) TERHADAP MORTALITAS NYAMUK <i>Aedes aegypti</i> Linn. DI LABORATORIUM. Theopilus Wilhelmus Watuguly	212 - 225
26	EVALUASI KANDUNGAN DIOSMIN DAN PROTEIN TANAMAN SELEDRI (<i>Apium graveolens</i> L.) DARI DAERAH CIPANAS DAN CIWIDEY. Edy Djauhari Purwakusumah, Djarot Sasongko Hami Seno, dan Bina Listyari Putri	226 - 233
27	PROSPEK SENYAWA FLAVONOID KULIT BATANG CEMPEDAK (<i>Artocarpus Champeden</i> Spreng) SEBAGAI INHIBITOR DETOKSIFIKASI HEME PARASIT MALARIA. Maria Nindatu, Aty Widyawaruyanti, Din Syafruddin, Yoes Prijatna Dachlan, Noor Cholies Zaini	234 - 244
28	AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAUN <i>Ruellia coerulea</i> Morong (ANTIOXIDANT ACTIVITY OF <i>Ruellia coerulea</i> Morong LEAVES). Katrin, Berna E, dan Kathie AD.	245 - 252
29	PENGARUH PERBEDAAN FORMULA DAN SUHU PENYIMPAN TERHADAP STABILITAS SEDIAAN SUPOSITORIA VAGI DAUN SIRIH (<i>Piper betle</i> Linn). Siti Siti Sa'diah, E. Mulyati Eff dan Yulianita	253 - 260
30	KAJIAN NAUNGAN DAN NUTRISI TERHADAP PERTUMBUHAN DAN KANDUNGAN RESERPINA PULE PANDAK (<i>Rauvolfia serpentina</i> Benth.). Samanhudi, Edi Purwanto, dan Heru Sumaryanto	261 - 271
31	PENGARUH CAMPURAN EKSTRAK HERBA <i>Apium graveolens</i> DAN DAUN <i>Sonchus arvensis</i> TERHADAP KADAR NATRIUM, KALIUM DAN VOLUME URINE SERTA KRETININ PLASMA TIKUS PUTIH JANTAN YANG DIINDUKSI DENGAN NATRIUM KLOORIDA. Andrajati R, Hanani E dan Fitria WT	272 - 281
32	PENGARUH KONSENTRASI BAP DAN IBA TERHADAP PERTUMBUHAN KALUS <i>Artemisia annua</i> L. PADA KULTUR IN VITRO. Samanhudi	282 - 290

PENAPISAN TANAMAN OBAT INDONESIA SEBAGAI INHIBITOR TIROSINASE

**Irmanida Batubara¹, Tohru Mitsunaga², Latifah K Darusman¹, Edy
Djauhari¹**

¹*Pusat Studi Biofarmaka LPPM Institut Pertanian Bogor. Jl. Taman Kencana No 3.
Bogor, Indonesia*

²*Faculty of Applied Biological Science, Gifu University, Japan*

ABSTRAK

Untuk menggali potensi tanaman Indonesia sebagai bahan kosmetika dilakukan penapisan tanaman obat Indonesia sebagai inhibitor tirosinase. Sebanyak 23 simplisia diekstraksi menggunakan methanol dan 50% etanol sehingga didapat sebanyak 46 ekstrak. Tiap ekstrak dianalisis kemampuan inhibisi tirosinasenya baik monofenolase maupun difenolase. Hasil menunjukkan, untuk inhibisi monofenolase terdapat 6 ekstrak yang memiliki potensi paling baik. Sedangkan untuk inhibisi difenolase ekstrak methanol *Rhizopora* sp dan ekstrak methanol *Xylocarpus granatus* merupakan ekstrak terbaik.

Kata kunci: Tanaman Indonesia, tirosinase, monofenolase, difenolase

PENDAHULUAN

Indonesia kaya akan plasma nutfah yang tersebar luas di wilayahnya. Keanekaragaman hayati tersebut menjadi sumber daya yang layak untuk dikembangkan sebagai komoditi yang bernilai ekonomis. Indonesia memiliki lebih dari 1.000 spesies tanaman obat (Heyne 1987) dan juga kekayaan pengetahuan tradisional/kearifan lokal yang mumpuni tentang pemakaian tanaman obat termasuk di dalamnya sebagai kosmetika untuk perawatan kulit. Jumlah yang sangat besar ini mendorong penelitian tentang bioprospeksi dan kajian aktivitas biologis semakin intensif dilakukan. Salah satu kajian aktivitas biologis yang dapat dilakukan yaitu mencari inhibitor tirosinase yang nantinya dapat digunakan sebagai bahan pemutih kulit.

Inhibitor tirosinase telah menjadi pusat penelitian karena tirosinase merupakan kunci melanogenesis mamalia dan pencoklatan enzimatik pada tanaman dan jamur. Melanogenesis didefinisikan sebagai proses awal pembentukan makromolekul pigmen gelap seperti melanin. Melanin merupakan hal penting sebagai penjaga kulit manusia dari efek radiasi UV dari matahari. Melanin juga menentukan fenotipe manusia secara fisik. Meskipun melanin memiliki fungsi fotoprotektif bagi kulit manusia, namun akumulasi melanin abnormal pada daerah spesifik berbeda menyebabkan warna yang tidak dikehendaki dan dapat menjadi masalah estetika. Hiperpigmentasi pada kulit manusia umumnya tidak dikehendaki. Fenomena ini membuat banyak peneliti mencari inhibitor tirosinase berpotensi untuk digunakan sebagai pemutih kulit.

Secara klinik inhibitor tirosinase berguna untuk perlakuan pada beberapa penyakit kulit yang berhubungan dengan hiperpigmentasi melanin dan juga berguna dalam industri kosmetik sebagai pemutih dan penghilang warna gelap akibat terbakar sinar matahari (Khan *et al.* 2006; Lee *et al.* 2007). Meskipun melanin secara prinsip bertanggung jawab pada warna kulit dan memiliki peran penting sebagai penghambat fotokarsinogenesis pada kulit, namun pigmentasi melanin abnormal dapat menyebabkan beberapa penyakit kulit yang berhubungan dengan *freckles*, *melasma*, *ephelide*, dan *senile lentigines* (Okombi *et al.* 2006).

Berdasarkan uraian di atas tersebut mendorong tim peneliti untuk menggali potensi dan mencari landasan ilmiah atas pengetahuan tradisional terutama yang berkaitan dengan penggunaan sebagai bahan kosmetika. Fokus utama kajian yang dilakukan yaitu mencari kandidat tanaman obat Indonesia yang potensial sebagai agen pemutih kulit dimulai dari penapisan. Pada penelitian ini sebanyak 14 tanaman obat Indonesia diuji aktivitas inhibisi tirosinasenya dengan substrat L-tirosin dan L-DOPA.

METODE PENELITIAN

Sampel tanaman dikoleksi dari Kebun Pusat Studi Biofarmaka, Kalimantan Timur dan juga dari Tawang Mangu. Semua sampel diidentifikasi dan disimpan voucher spesimennya di Wanariset Samboja, Kalimantan Timur dan juga di Pusat Studi Biofarmaka LPPM IPB.

Semua sampel tanaman dikeringkan dan digiling sebelum dilarutkan dalam metanol dan 50% etanol. Ekstraksi dilakukan dengan perbandingan 1 g serbuk secang kering : 10 ml pelarut selama 12 jam tiga kali. Ekstrak yang didapat disaring menggunakan kertas Whatman (no.2) dan dikeringkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 30°C.

Uji aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan dengan menggunakan metode Curto *et al.* (1999) dan Nerya *et al.* (2003). Sampel dilarutkan menggunakan DMSO (dimetil sulfoksida) hingga menghasilkan konsentrasi 20 mg/ml. Larutan stok sampel ini kemudian diencerkan menggunakan buffer kalium fosfat 50 mM pH 6.5 hingga menghasilkan konsentrasi 600 µg/ml.

Sampel yang akan diuji dibuat konsentrasinya menggunakan selang konsentrasi dari 7.8125 hingga 500 µg/ml. Asam Kojat (*Kojic acid*) digunakan sebagai kontrol positif. Sebanyak 70 µl tiap ekstrak ditambah 30 µl tirosinase (333 Units/ml dalam fosfat buffer) dimasukkan dalam 96-well plate. Setelah diinkubasi selama 5 menit, sebanyak 110 µl substrat (2mM L-tirosin atau 12 mM L-DOPA) ditambahkan pada tiap sumur. Inkubasi dilanjutkan selama 30 menit pada suhu ruang. Densitas optik dari tiap sumur dibaca pada 490 nm menggunakan multi-well plate reader. Konsentrasi sampel yang dapat menghambat setengah dari aktivitas tirosinase murni (IC_{50}) ditentukan pada tiap sampel.

Data IC_{50} tirosinase dengan menggunakan substrat L-tirosin dan L-DOPA disajikan dalam bentuk rataan \pm standar deviasi. Perbedaan secara signifikan antara kelompok diuji menggunakan one-way ANOVA yang dilanjutkan dengan perbandingan antar kelompok menggunakan uji Dunnett, $P < 0,05$ dinyatakan berbeda secara nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sebanyak 14 sampel tanaman Indonesia dikoleksi untuk dianalisis potensinya dalam menginhibisi aktivitas enzim tirosinase. Daftar nama daerah, nama latin, bagian tanaman dan penggunaan sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Penapisan tanaman obat Indonesia

Tabel 1. Nama sampel dan penggunaan tradisionalnya

No	Nama tanaman		Bagian yang digunakan	Nama etnis pengguna	Penggunaan sebagai
	Nama daerah	Nama latin			
1	Api-api	<i>Avicenia sp.</i>	Kayu	Sunda	Menjaga kehamilan
2	Palele	<i>Castanopsis javanica</i>	kayu		
3	Somputn	<i>Goniothalamus macrophyllus</i>	Daun, batang	Dayak Ngaju	Obat sakit kulit, bedak
4	Akar telunjuk langit	<i>Helminthostachys zeylanica</i>	Daun, batang, bunga, akar		
5	Kempas	<i>Koompassia malaccensis</i>	Kayu	Melayu tradisional	Anti cacingan
6	Celekop	<i>Lepisanthes amoena</i>	Daun, batang	Dayak tunjung	Pelembut kulit
7	Medang	<i>Litsea firma</i>	Kayu	Sunda	Menambah nafsu makan
8	Kayu putih	<i>Melaleuca cajuputi</i>	Kayu	Punan lisum	Gatal
9	Bakau	<i>Rhizopora sp</i>	Kayu	Sunda	Diare
10	Mahoni	<i>Swietenia sp.</i>	Kayu, buah	sunda	Malaria
11	Ketapang	<i>Terminalia catappa</i>	Kayu, kulit kayu	sunda	Meningkatkan ASI
12	Kayu angin	<i>Usnea misaminensis</i>	lichen	Ambon	Batuk
13	Laban	<i>Vitex pubescens</i>	Kayu, kulit kayu	Sunda	Sakit pinggang
14	Boli	<i>Xylocarpus granatus</i>	Kayu		

Dari 14 spesies yang dikoleksi, dihasilkan sebanyak 23 sampel/simplisia, karena sebagian spesies tidak hanya digunakan satu bagian tumbuhan saja melainkan juga mengambil bagian lainnya sebagai sampel. Sebagai contoh Somputn, kami menggunakan bagian daun, batang, dan kulit batangnya sebagai sampel.

Semua simplisia dikeringkan dan diserbukkan. Tahap selanjutnya ialah ekstraksi menggunakan metanol dan 50% etanol. Rendemen tiap ekstrak dilaporkan pada Tabel 2. Rendemen tertinggi dihasilkan oleh ekstrak metanol daun akar telunjuk langit (28.21%). Sedangkan rendemen terendah dihasilkan oleh ekstrak 50% etanol kempas (0.78%).

Tabel 2. Rendemen ekstrak tiap sample

No	Nama tanaman		Bagian yang digunakan	Rendemen ekstrak (%) berdasarkan bobot kering	
	Nama daerah	Nama latin		metanol	etanol 50%
1	Api-api	<i>Avicenia sp.</i>	Kayu	5.04	3.12
2	Palele	<i>Castanopsis javanica</i>	kayu	5.34	3.72
3	Somputn	<i>Goniothalamus</i>	Daun	5.86	5.15
4		<i>macrophyllus</i>	Batang	7.62	5.62
5			Kulit batang	7.62	4.66
6	Akar	<i>Helminthostachys</i>	Daun	28.21	20.17
7	telunjuk	<i>zeylanica</i>	Bunga	16.00	11.66
8	langit		Akar	10.36	8.56
9			Batang	26.62	21.00
10	Kempas	<i>Koompassia malaccensis</i>	Kayu	1.92	0.78
11	Celekop	<i>Lepisanthes amoena</i>	Daun	23.17	8.76
12			Batang	12.35	11.86
13	Medang	<i>Litsea firma</i>	Kayu	5.48	3.77
14	Kayu putih	<i>Melaleuca cajuputi</i>	Kayu	1.20	1.04
15	Bakau	<i>Rhizophora sp</i>	Kayu	19.67	7.56

Penapisan tanaman obat Indonesia

16	Mahoni	<i>Swietenia sp.</i>	Kayu	5.93	4.11
17	Mahoni	<i>Swietenia sp</i>	Buah	9.77	7.47
18	Ketapang	<i>Terminalia catappa</i>	Kayu	2.41	1.72
19	Ketapang	<i>Terminalia catappa</i>	Kulit kayu	1.29	1.95
20	Kayu angin	<i>Usnea misaminensis</i>	lichen	11.57	8.50
21	Laban	<i>Vitex pubescens</i>	Kayu	3.48	2.81
22	Laban	<i>Vitex pubescens</i>	Kulit kayu	4.67	3.77
23	Boli	<i>Xylocarpus granatus</i>	Kayu	8.80	5.12

Seluruh ekstrak simplisia yang dihasilkan kemudian ditentukan daya inhibisinya terhadap enzim tirosinase. Tirosinase (EC 1.14.18.1) merupakan enzim multifungsi mengandung tembaga yang mengkatalisis melanogenesis pada mamalia dan pencoklatan secara enzimatik pada tanaman dan jamur. Tirosinase juga bertanggung jawab pada reaksi pencoklatan enzim selama penanganan pasca panen dan pengolahan. Tirosinase berinteraksi dengan membentuk kompleks antara tembaga dan senyawa pengkelat, termasuk aminofenol (Toussaint & Lerch 1987), asam karboksilat aromatik (Wilcox *et al.* 1985), dan arilamina (Toussaint & Lerch 1987).

Tirosinase mengkatalisis pengoksidasian tirosin menjadi dopakuinon dalam tahap awal melanogenesis. Tahap awal ini merupakan tahap penentu laju pembentukan melanin karena reaksi ini akan menentukan proses selanjutnya secara spontan pada pH fisiologis (Halaban *et al* 2002). Tahap ini sering disebut sebagai monofenolase. Selanjutnya dopakuinon akan diubah menjadi dopa dan dopakrom melalui tahap autooksidasi. Dopa juga merupakan substrat bagi tirosinase dan

dioksidasi kembali menjadi dopakuinon oleh enzim tirosinase. Tahap kedua ini disebut sebagai tahap autooksidasi atau difenolase. Karena tirosinase mengkatalisis reaksi monofenolase dan difenolase maka pada penelitian ini dilakukan uji inhibisi tiap ekstrak terhadap kedua jenis reaksi tersebut menggunakan dua substrat berbeda yaitu L-tirosin dan L-DOPA.

Hasil penapisan aktivitas dari tiap ekstrak dapat dilihat pada Tabel 3. Pada tabel tersebut terlihat bahwa ekstrak metanol bunga akar telunjuk langit, ekstrak metanol batang celekop, ekstrak metanol dan 50% etanol rhizopora, dan ekstrak metanol dan 50% etanol boli merupakan ekstrak yang terbaik dari seluruh ekstrak berdasarkan reaksi monofenolase. Namun nilai IC_{50} dari seluruh ekstrak terbaik ini tidak sebaik nilai IC_{50} kojic acid sebagai positif kontrol.

Berdasarkan reaksi difenolase atau autooksidasi, ekstrak metanol rhizopora dan ekstrak metanol boli merupakan ekstrak terbaik. Sama halnya dengan reaksi monofenolase, pada reaksi autooksidasi ini pun kedua ekstrak terbaik ini tidak lebih baik dibandingkan kojic acid.

Tabel 3. Kemampuan inhibisi 50% dari seluruh ekstrak dibandingkan dengan kojic acid sebagai positif kontrol

No	Nama spesies	Bagian	Pelarut	IC_{50} (μ g/ml)	
				L-tirosin (Monofenolase)	L-DOPA (difenolase)
1	<i>Avicennia</i> sp	Kayu	Metanol	-	-
			Etanol 50%	-	-
2	<i>Castanopsis</i>	Kayu	Metanol	-	-

Penapisan tanaman obat Indonesia

	<i>javanica</i>		Etanol 50%	655.5±0.7 ^e	-
3	<i>Goniothalamus</i>	Daun	Metanol	-	-
	<i>macrophyllus</i>		Etanol 50%	-	-
4		Batang	Metanol	-	-
			Etanol 50%	-	-
5		Kulit	Metanol	405.7±15.7 ^d	1059.8±57.7 ^d
		batang	Etanol 50%	-	-
6	<i>Helminthostachys</i>	Bunga	Metanol	128.8±2.2 ^b	783.2±6.2 ^c
	<i>zeylanica</i>		Etanol 50%	-	-
7		Daun	Metanol	1400.4±19.0 ^g	-
			Etanol 50%	-	-
8		Akar	Metanol	-	-
			Etanol 50%	-	-
9		Kayu	Metanol	-	-
			Etanol 50%	-	-
10	<i>Koompassia</i>	Kayu	Metanol	315.4±13.9 ^c	-
	<i>malaccensis</i>		Etanol 50%	-	-
11	<i>Lepisanthes</i>	Batang	Metanol	162.6±2.3 ^b	-
	<i>amoena</i>		Etanol 50%	-	-
12		Daun	Metanol	243.6±4.9 ^e	-
			Etanol 50%	-	-
13	<i>Litsea</i> spp.	Kayu	Metanol	-	-
			Etanol 50%	-	-
14	<i>Melaleuca cajuputi</i>	Kayu	Metanol	-	-
			Etanol 50%	-	-
15	<i>Rhizophora</i> sp.	Kayu	Metanol	108.2±11.9 ^b	124.0±11.4 ^b
			Etanol 50%	171.1±7.7 ^{bc}	1638.9±78.9 ^c
16	<i>Switenia</i> sp.	Buah	Metanol	-	-
			Etanol 50%	-	-
17		Kayu	Metanol	1568.4±57.4 ^h	1719.7±61.3 ^c
			Etanol 50%	-	-
18	<i>Terminalia catappa</i>	Kulit	Metanol	-	-

Batubara, I.

		kayu	Etanol 50%	1941.8±62.5 ⁱ	-
19		Kayu	Metanol	2349.9±49.7 ^j	-
			Etanol 50%	758.3±22.3 ^f	-
20	<i>Usnea</i>	Lichen	Metanol	-	-
	<i>misaminensis</i>		Etanol 50%	-	-
21	<i>Vitex pubescens</i>	Kulit	Metanol	-	-
		kayu	Etanol 50%	Ni	-
22		Kayu	Metanol	-	-
			Etanol 50%	Ni	-
23	<i>Xylocarpus</i>	Kayu	Metanol	215.1±6.4 ^{bc}	199.8±12.2 ^b
	<i>granatus</i>		Etanol 50%	213.3±9.0 ^{bc}	-
24	Kojic acid	standar		7.9±0.3 ^a	17.9±1.6 ^a

KESIMPULAN

Dari 46 ekstrak yang diuji daya inhibisinya terhadap tirosinase, terdapat 6 ekstrak yang memiliki kemampuan terbaik dalam reaksi monofenolase. Dalam reaksi autooksidasi, ekstrak methanol *Rhizopora* sp dan ekstrak methanol *Xylocarpus granatus* merupakan ekstrak terbaik.

DAFTAR PUSTAKA

- Curto, E.V. et al. 1999. Inhibitors of mammalian melanocyte tyrosinase: *in vitro* comparisons of alkyl esters of gentisic acid with other putative inhibitors. *Biochem Pharmacol* 57 (6): 663-672.
- Halaban R, Patton RS, Cheng E, Svedine S, Trombetta ES, Wahl ML, Ariyan S, Herbert DN. 2002. Abnormal acidification of melanoma cells induces tyrosinase retention in the early secretory pathway. *J Biol Chem* 277: 14821-14828
- Heyne K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid III. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kehutanan, Jakarta.
- Kageyama A, Oka M, Okada T, Nakamura S, Ueyama T, Saito N, Hearing VJ, Ichihashi M, Nishigori C. 2004. Down-regulation of melanogenesis by

phospholipase D2 through ubiquitin proteasome-mediated degradation of tyrosinase. *J Biol Chem* 279: 27774-27780.

Khan, KM, Munghal UR, Khan MTH, Perveen S, Ullah Z, Coudhary M. 2006. *Bioorg Med Chem* 14:344.

Lee, C W, Son EM, Kim HS, Xu P, Batmunkh T, Lee BJ, Koo KA. 2007. *Bioorg Med Chem Lett* 17:5462.

Nerya, O. et al. 2003. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from liquorice roots. *J. Agric. Food Chem.* 51 (5) : 1201-7.

Okombi S, Rival D, Bonnet S, Mariotte AM, Perrier E, Bounendjel A. 2006. *Bioorg Med Chem* 16:2252.

Toussaint, O & Lerch K. 1987. *Biochemistry* 26:8567-8571.

Wilcox DE, Porras AG, Hwang YT, Lerch K, Winkler ME & Solomon EI. 1985. *J Am Chem Soc* 107:4015-4018.

KEMAMPUAN SECANG DALAM MENURUNKAN PRODUKSI TNF**TNF- α : POTENSINYA SEBAGAI ANTIJERAWAT****Irmanida Batubara¹, Tohru Mitsunaga², Satoko Kotsuka², Mohamad Rafi¹, Siti Sa`diah¹**¹*Pusat Studi Biofarmaka LPPM Institut Pertanian Bogor. Jl. Taman Kencana no 3.**Bogor, Indonesia*²*Faculty of Applied Biological Science, Gifu University, Japan***ABSTRAK**

Hasil penapisan yang telah dilakukan sebelumnya menunjukkan bahwa secang (*Caesalpinia sappan*) merupakan tanaman yang memiliki potensi sebagai antijerawat berdasarkan aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *Propionibacterium acnes*, *P.acnes* lipase inhibitor and antioksidan. Kami pun telah melaporkan bahwa brazilin dan protosappanin A merupakan senyawa yang memiliki ketiga aktivitas tersebut. Untuk mengetahui kemampuan secang sebagai antiinflamasi, uji TNF- α dilakukan terhadap ekstrak secang dan senyawa murni yang telah diisolasi dari secang. Uji TNF- α dilakukan menggunakan sel THP-1. Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik ekstrak maupun senyawa murni dari secang tidak toksik terhadap sel THP-1. Ekstrak metanol secang pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/ml}$ menghambat produksi TNF- α sebesar 31.6%, sementara brazilin, protosappanin A, dan sappanone B pada konsentrasi yang sama menghambat produksi TNF- α berturut-turut sebesar 24.7%, 36.2%, dan 30.5%.

Kata kunci: Caesalpinia sappan, TNF- α , brazilin, protosappanin A, sappanone B

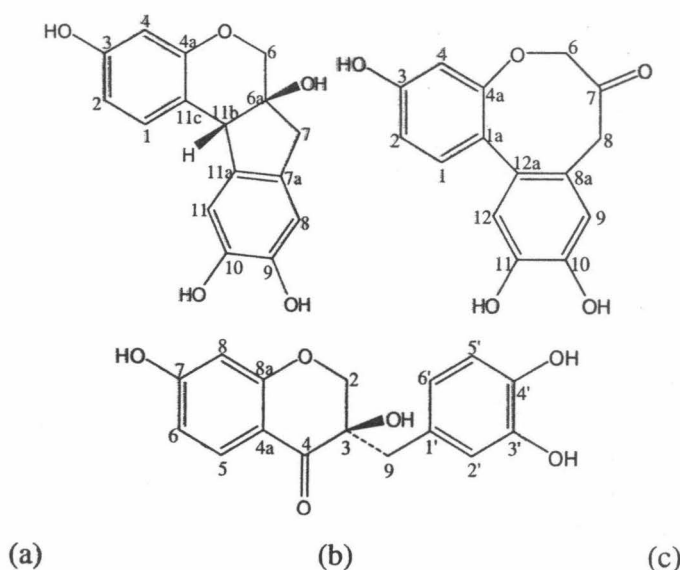
PENDAHULUAN

Hasil penapisan potensi tanaman Indonesia sebagai antijerawat menunjukkan bahwa ekstrak secang baik ekstrak metanol maupun ekstrak etanol 50% merupakan ekstrak yang paling berpotensi sebagai anti-jerawat berdasarkan aktivitasnya menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*, menghambat aktivitas lipase yang diproduksi oleh *P. acnes*, dan antioksidan (Batubara *et al* 2009a). Senyawa yang memiliki aktivitas anti-jerawat berdasarkan

Kemampuan secang

ketiga aktivitas di atas pun telah dilaporkan (Batubara *et al* 2009b). Senyawa yang telah diisolasi yaitu brazilin, protosappanin A, dan sappanone B (Gambar 1).

Semenjak jerawat merupakan penyakit kulit yang dicirikan oleh pimple di wajah, punggung dan dada yang ditandai oleh inflamasi pada kelenjar sebaceous (Thiboutot, 2002), maka sangat diperlukan informasi kemampuan antiinflamasi dari secang dan senyawa murninya. Adanya inflamasi ditunjukkan oleh meningkatnya jumlah Tumor Necrosis Factor (TNF)- α . Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk menentukan kemampuan penurunan jumlah TNF- α pada sel THP-1 oleh ekstrak secang dan senyawa murninya.



Gambar 1. Struktur brazilin (a), protosappanin A (b), dan sappanone B (c).

METODE PENELITIAN

Kayu *Caesalpinia sappan* dipesan dari pasar di Semarang. Identifikasi dan voucher specimen (No: 06001) disimpan di Pusat Studi Biofarmaka LPPM Institut Pertanian Bogor.

Secang dikeringkan dan digiling sebelum dilarutkan dalam metanol. Ekstraksi dilakukan dengan perbandingan 1 g serbuk secang kering : 10 ml metanol selama 12 jam tiga kali. Ekstrak yang didapat disaring menggunakan kertas Whatman (no.2) dan dikeringkan menggunakan rotary evaporator pada suhu 30°C.

Pemisahan senyawa murni dari secang dilakukan menggunakan silika gel kolom kromatografi dengan n-heksana, etil asetat, dan metanol sebagai eluen. Fraksi yang dihasilkan dikumpulkan. Beberapa fraksi dimurnikan lebih lanjut menggunakan preparatif HPLC. Kondisi HPLC yang digunakan ialah menggunakan kolom ODS-3 dengan diameter 10 x 250 mm, laju alir 10 ml/min, detektor UV dengan panjang gelombang 280 nm, dan elusi menggunakan MeOH:TFA 0.05% dari (5:95) hingga (100:0) selama 45 menit.

Analisis struktur dilakukan menggunakan analisis NMR (Nuclear Magnetic Resonance). Penentuan bobot molekul senyawa murni dilakukan menggunakan EI-MS (Electron Impact Mass-Spectrometry), dan juga dilakukan analisis rotasi spesifik.

Untuk analisis dengan NMR, sampel dilarutkan dalam 99.95% MeOH-*d*₄. Struktur dari senyawa murni yang diisolasi ditentukan dengan perbandingan data spektroskopi dengan literatur. Proton (¹H-) NMR, karbon (¹³C-) NMR, COSY ¹H-¹H (correlation spectroscopy), DEPT (distortion less enhancement by polarization transfer) 45°, 90°, dan 135°, HMBC (heteronuclear multiple bond correlation), dan HMQC (heteronuclear multiple quantum coherence) didapat menggunakan alat spektrometer JEOL ECP 600 MHz dengan TMS sebagai standar internal, data pergeseran kimia yang didapat dituliskan dalam δ (ppm).

EI-MS analisis dilakukan menggunakan GCMS-QP 5050A (Gas Chromatography-Mass Spectrometer) dengan injeksi langsung di bawah kondisi tegangan ionisasi 70eV, ionisasi mode EI, dan deteksi MS pada area 40-1500 *m/z*.

Rotasi spesifik diukur dalam MeOH pada polarimeter Jasco P-1010-GT. Pengukuran dilakukan pada suhu 20°C dengan lampu deuterium. Tiap pengukuran dilakukan sepuluh kali. Hasil disajikan dalam bentuk rata-rata dari 10 kali ulangan tersebut.

THP-1 sel ditumbuhkan pada 37°C dalam media RPMI mengandung 10% fetal calf serum, 100 μ g/ml penicillin dan 100 μ g/ml streptomycin dalam inkubator dengan 5% CO₂ dengan konsentrasi 1 x 10⁶ sel/ml. Sel kemudian dikumpulkan dan disentrifugasi untuk mendapatkan konsentrasi 2 x 10⁶ sel/ml dalam media RPMI tidak mengandung serum. Sel kemudian ditambahkan sampel (ekstrak metanol secang, brazilin, protosappanin A dan sappanone B dengan berbagai

Kemampuan secang

konsentrasi) dan diinkubasikan selama 24 jam. Setelah itu, ditambahkan LPS sebanyak 5 µg/ml dan diinkubasikan lagi selama 24 jam.

Sel yang mengandung dan tidak mengandung sampel kemudian diwarnai dengan 0.1% pewarna tripan biru dan kemudian ditentukan jumlahnya menggunakan hemositometer. Jumlah sel yang mati kemudian ditentukan berdasarkan warna yang dihasilkan.

Supernatan dari sel dikumpulkan untuk ditentukan jumlah sitokinnya. Tingkat sitokin ditentukan menggunakan ELISA kit. Penentuan jumlah TNF-α kemudian ditentukan berdasarkan manual pada kit tersebut.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Isolasi Senyawa aktif

Secang diekstraksi menggunakan metanol dan menghasilkan rendemen sebesar 8.63% (berdasarkan bobot kering). Sebagian dari ekstrak (10 g) dipisahkan menggunakan silika gel kolom kromatografi dengan n-heksana, etil asetat, dan metanol sebagai eluen menghasilkan 30 fraksi. Fraksi 4-6 dipisahkan lebih lanjut menggunakan preparatif HPLC menghasilkan senyawa protosappanin A dan sappanone B kasar. Pengulangan pemisahan menggunakan preparatif HPLC menghasilkan protosappanin A (27.4 mg, Gambar 1b), sappanone B (20.5 mg, Gambar 1c). Sementara fraksi 7-8 dipisahkan lebih lanjut menggunakan preparatif HPLC menghasilkan senyawa brazilin yang masih belum murni. Pengulangan pemisahan menggunakan preparatif HPLC menghasilkan brazilin murni (45 mg, Gambar 1c). Penentuan struktur dilakukan dengan perbandingan data pergeseran kimia senyawa hasil isolasi dan literatur.

Brazilin. Kristal amber-yellow, $[\alpha]_D^{20} +118.8^\circ$ (c=1.9, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CD_3OD) δ : 2.73, 2.97 (tiap 1H, d, $J=15.8\text{Hz}$, H-7), 3.67, 3.89 (tiap 1H, d, $J=10.9\text{Hz}$, H-6), 3.93 (1H, s, H-11b), 6.26 (1H, d, $J=2.7\text{Hz}$, H-4), 6.44 (1H, dd, $J=8.2, 2.7\text{Hz}$, H-2), 6.58 (1H, s, H-11), 6.68 (1H, s, H-8), 7.15 (1H, d, $J=8.2\text{Hz}$, H-1); $^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, CD_3OD): 41.5 (C-7), 49.7 (C-11b), 69.5 (C-6), 76.8 (C-6a), 102.9 (C-4), 108.7 (C-2), 111.1 (C-11), 111.6 (C-8), 114.2 (C-11c), 130.0 (C-7a),

130.9(C-1), 136.1(C-11a), 143.9(C-10), 144.3(C-9), 154.4(C-3), 156.5(C-4a); EIMS m/z : 286 [M^+]. Data NMR dibandingkan dengan laporan Xie *et al.*

Protosappanin A. Jarum tak berwarna, $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CD_3OD): δ : 3.43(2H, s, H-8), 4.45(2H, s, H-6), 6.63(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-4), 6.67(1H, dd, $J=2.1, 8.2\text{Hz}$, H-2), 6.69(2H, s, H-12 and H-9), 7.11(1H, d, $J=8.2\text{Hz}$, H-1); $^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, CD_3OD): 45.1(C-8), 77.6(C-6), 108.0(C-4), 112.2(C-2), 116.4(C-12), 116.5(C-9), 124.1(C-1a), 126.0(C-8a), 129.9(C-1), 130.7(C-12a), 144.2(C-11), 144.4(C-10), 158.1(C-3), 158.5(C-4a), 204.6(C-7); EIMS m/z : 278 [M^+]. Data NMR protosappanin A dibandingkan dengan laporan dari Nagai *et al.*

Sappanone B. Serbuk putih, $[\alpha]_D^{20} +53.1$ ($c=0.32$, MeOH); $^1\text{H-NMR}$ (600MHz, CD_3OD): δ : 2.71, 2.79(tiap 1H, d, $J=13.7\text{Hz}$, H-9), 3.98, 4.09(tiap 1H, d, $J=11.0\text{Hz}$, H-2), 6.39(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-8), 6.53(1H, dd, $J=2.1, 8.2\text{Hz}$, H-6'), 6.57(1H, dd, $J=2.1, 8.2\text{Hz}$, H-6), 6.68(1H, d, $J=8.2\text{Hz}$, H-5'), 6.74(1H, d, $J=2.1\text{Hz}$, H-2'), 7.66(1H, d, $J=8.2\text{Hz}$, H-5); $^{13}\text{C-NMR}$ (150MHz, CD_3OD): 39.5(C-9), 72.0(C-2), 72.8(C-3), 102.2(C-8), 110.9(C-6), 111.9(C-4a), 114.6(C-2'), 117.6(C-5'), 121.9(C-6'), 126.4(C-5), 129.1(C-1'), 143.9(C-4'), 144.5(C-3'), 163.6(C-8a), 165.4(C-7), 194.5(C-4); EIMS m/z : 302 [M^+]. Data NMR Sappanone B dibandingkan dengan laporan Namikoshi *et al.*

Aktivitas secang dan senyawa murninya dalam menghambat jumlah TNF- α

Keberadaan bakteri *Propionibacterium acnes* dalam kulit dapat menyebabkan keratonosit memproduksi IL-1 α , tumor necrosis fractor (TNF- α), dan granulocyte-macrophage colony-stimulating fractor (GM-CSF). Kemudian IL-1 α menginduksi hiperkeratinisasi. Oleh karena itu jumlah TNF- α yang dihasilkan oleh sel menentukan apakah inflamasi terbentuk atau tidak.

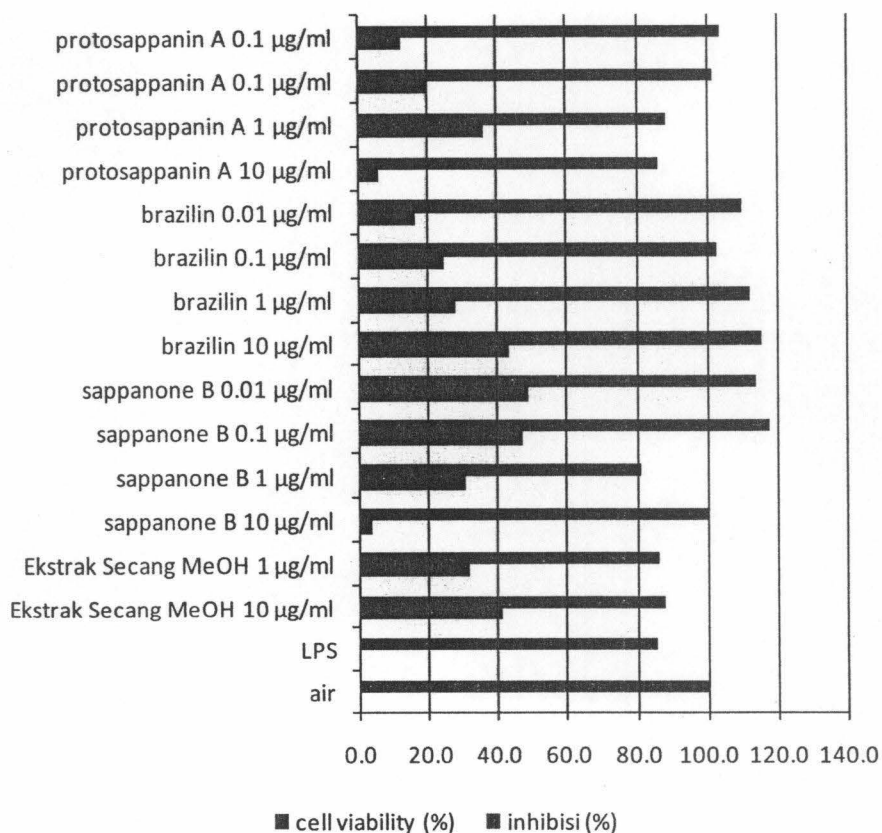
Dalam penelitian ini, digunakan sel THP-1. Jumlah TNF- α yang dihasilkan pada kontrol dibandingkan dengan tanpa ekstrak atau senyawa murni dan juga dengan LPS. Hasil dapat dilihat pada Gambar 2.

Pada Gambar 2 terlihat bahwa ekstrak metanol secang dan juga senyawa murninya tidak mematikan sel THP-1. Dapat dinyatakan bahwa ekstrak metanol

Kemampuan secang

secang dan juga senyawa murninya bersifat tidak toksik. Hal ini terlihat dari jumlah sel yang hidup yang berkisar antara 82 – 118%.

Kemampuan ekstrak metanol secang dalam menghambat jumlah produksi TNF- α tidak terlalu baik. Ekstrak metanol secang mampu menghambat produksi TNF- α sebanyak 41.0% pada konsentrasi 10 $\mu\text{g/ml}$ dan 31.6% pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 2. Jumlah sel hidup (%) dan % inhibisi produksi TNF- α oleh ekstrak secang dan senyawa murninya.

Sementara itu, senyawa murni sappanone B menghambat lebih banyak produksi TNF- α pada konsentrasi lebih rendah. Berbeda dengan sappanone B, brazilin lebih menghambat produksi TNF- α pada konsentrasi lebih tinggi. Sedangkan protosappanin A memiliki konsentrasi optimum penghambatan jumlah

produksi TNF- α pada konsentrasi 1 $\mu\text{g/ml}$. Pada konsentrasi yang sama yaitu 1 $\mu\text{g/ml}$ ekstrak metanol secang menghambat produksi TNF- α sebesar 31.6%, sementara brazilin, protosappanin A, dan sappanone B menghambat produksi TNF- α berturut-turut sebesar 24.7%, 36.2%, dan 30.5%.

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa baik ekstrak maupun senyawa murni dari secang tidak toksik terhadap sel THP-1. Sappanone B menghambat produksi TNF- α pada konsentrasi rendah. Brazilin menghambat produksi TNF- α pada konsentrasi tinggi dan protosappanin A memiliki konsentrasi penghambatan maksimum pada 1 $\mu\text{g/ml}$.

DAFTAR PUSTAKA

- Batubara I, T Mitsunaga, H Ohashi (2009a) Screening anti-acne potency of Indonesian medicinal plants: antibacterial, lipase inhibition and antioxidant activities. *J.wood.Sci* 55. 230-235
- Batubara I, T Mitsunaga, H Ohashi (2009b) Brazilin from *Caesalpinia sappan* wood as an anti-acne agent. *J.wood.Sci* DOI 10.1007/s10086-009-1046-0.
- Nagai M, Nagumo S, Lee SM, Eguchi I, Kawai KI (1986) Protosappanin A, a novel biphenyl compound from sappan lignum. *Chem Pharm Bull* 34(1):1-6
- Namikoshi M, Nakata H, Nuno M, Ozawa T, Saitoh T (1987) Homoisoflavonoids and related compounds III. Phenolic constituents of *Caesalpinia japonica* SIEB et ZUCC. *Chem Pharm Bull* 35(9)3568-75
- Thiboutot D (2002) Acne: 1991-2001. *J Am Acad Dermatol* 47:109-117.
- Xie YW, Ming DS, Xu HX, Dong H, But PPH (2000) Vasorelaxing effects of *Caesalpinia sappan* involvement of endogeneous nitric oxide. *Life Sciences* 67:1913-8