



REPUBLIK INDONESIA
KEMENTERIAN HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA

SERTIFIKAT PATEN

Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia atas nama Negara Republik Indonesia berdasarkan Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten, memberikan Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten

- 1) ENOS TANGKE ARUNG, PhD
Jl. KH Dewantara Kampus Gn. Kelua Lab. Kimia Kayu,
Fak. Kehutanan Universitas Mulawarman
INDONESIA
- 2) HARLINDA KUSPRADINI
Kapas No. 41 RT.19 Desa Sidomulyo
Kecamatan Samarinda Ilir Samarinda
Kalimantan Timur
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul

EKSTRAK DAUN BELABETAN (*EUPATORIUM TRIPLINERVE*) SEBAGAI HERBAL PEMUTIH KULIT DAN PROSES PEMBUATANNYA

Inventor

Enos Tangke Arung
Harlinda Kuspradini
Irawan Wijaya Kusuma

Eko Sufriyanto
Kuniyoshi Shimizu
Ryuichiro Kondo

Tanggal Penerimaan

17 Desember 2010

Nomor Paten

IDP000045407

Tanggal Pemberian

18 April 2017

Perlindungan Paten untuk invensi tersebut diberikan untuk selama 20 tahun terhitung sejak Tanggal Penerimaan (Pasal 22 Undang-Undang Nomor 13 Tahun 2016 tentang Paten).

Sertifikat Paten ini dilampiri dengan deskripsi, klaim, abstrak dan gambar (jika ada) dari invensi yang tidak terpisahkan dari sertifikat ini.



00-2017-192915

a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
REPUBLIK INDONESIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL
u.b.

Direktur Paten, Desain Tata Letak
Sirkuit Terpadu dan Rahasia Dagang,

Ir. Timbul Sinaga, M.Hum.
NIP. 196202021901021001

Deskripsi**EKSTRAK DAUN BELABETAN (*EUPATORIUM TRIPLINERVE*) SEBAGAI
PEMUTIH KULIT DAN PROSES PEMBUATANNYA****5 Bidang Teknik Invensi**

Invensi ini berkaitan dengan pemanfaatan daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) sebagai pemutih kulit (*skin whitening agent*) dimana ekstrak metanol atau etanol mampu menghambat pertumbuhan melanin (zat pembawa warna kulit manusia).

10

Latar Belakang Invensi

Melanin adalah zat warna utama pada kulit manusia yang dihasilkan oleh sel melanosit yang berada pada lapisan epidermis kulit manusia. Biosintesis melanin terjadi melalui proses reaksi enzimatik dan juga reaksi spontan yang mengubah tirosin menjadi pigmen melanin. Pada tahap awal, melanin disintesis melalui hidroksilasi tirosin menjadi DOPA lalu selanjutnya terbentuklah pigmen melanin.

Di Indonesia, pengobatan secara herbal sangat dikenal dan lebih dari 1300 jenis diketahui sebagai tanaman obat. Tanaman obat di Indonesia dikenal dengan sebutan Jamu. Jamu memiliki 4 kategori kesehatan : perawatan kesehatan, perawatan kecantikan, tonik, dan pencegah penyakit. Tanaman obat atau herbal memberikan ketertarikan sebagai potensi yang besar untuk pengembangan obat modern. Salah satu potensi tersebut adalah pemanfaatan untuk pemutih kulit. Suku Dayak, yang mendiami wilayah Kalimantan Timur umumnya membuat

pemutih kulit atau perawatan kulit dengan menggunakan herbal dari hutan sekitar tempat tinggal mereka. Produk tradisional yang menggunakan herbal untuk perawatan atau pemutih kulit dikenal dengan nama "bedak dingin". Bedak dingin merupakan campuran dari beberapa herbal pilihan yang diyakini memiliki khasiat untuk perawatan kulit secara umum, salah satunya tanaman Belabetan (*Eupatorium triplinerve*). Bedak dingin yang diproduksi secara tradisional tersebut sudah dijual di beberapa pasar tradisional di Kalimantan Timur, termasuk di Samarinda dalam bentuk bulatan seperti kelereng. Namun, tidak ada laporan secara ilmiah tentang kebenaran kemampuan herbal-herbal yang terkandung dalam Bedak dingin tersebut untuk perawatan kulit atau untuk pemutih kulit bahkan zat aktif yang terkandung dalam herbal tersebutpun belum diketahui. Melalui invensi ini, daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) yang diperoleh dari wilayah Samarinda, Kalimantan Timur diekstrak dengan pelarut metanol atau etanol untuk dapat dipakai sebagai bahan untuk pembuatan kosmetik pemutih kulit.

Invensi ini bertujuan untuk pemanfaatan ekstrak methanol atau etanol daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) serta zat aktifnya (7-metoksikumarin) sebagai bahan perawatan kulit, khususnya pemutih kulit. Beberapa penelitian sebelumnya telah dilakukan dan Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) bermanfaat sebagai :

1. Hepatoprotektif (Bose dkk, 2007)
2. Antioksidan [Bose dkk (2007), Sugimoto dkk (1999), dan Shimizu Hiroyuki (2001)]

3. Antimikroba [Yadava dan Barsainya (1998) dan Gupta dkk (2002)].

4. Kosmetik [Greff Daniel (1997), Yamashita dan Fujita (2002), dan Oki (2004)]

5. Perawatan rambut (Sugimoto dkk, 2002)

5 Selain itu, manfaat dari 7-metoksikumarin yang telah diketahui adalah :

1. Kosmetik untuk skin aging dan lainnya bukan pemutih [Fournial dkk (2010) dan untuk membuat foam pada produksi kosmetik [Tamarkin dkk (2006)]

10 2. Penghambat aktifitas enzim tirosinase (Masamoto dkk, 2004)

3. Penghambat pertumbuhan sel kanker (Kawaii dkk, 2001)

Penggunaan sebelumnya daun Belabetan digunakan oleh masyarakat Dayak sebagai kosmetik dalam bentuk Bedak Dingin. Setelah dilakukan terhadap ekstrak daun Belabetan melalui proses ekstraksi, dilakukan
15 pengujian pada sel B16 Melanoma sebagai penghambat zat melanin pada sel kulit.

Uraian Singkat Invensi

Tujuan invensi pertama berkaitan dengan proses pembuatan ekstrak
20 daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol/etanol 96% dengan rasio serbuk dengan pelarut (1 : 23) dimana menghasilkan ekstrak 10 - 16% dari berat serbuk.

Tujuan invensi kedua berkaitan dengan Ekstrak daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) dalam bentuk sediaan krim dimana memiliki konsentrasi 0,5% - 2% atau 5.000-20.000 mikrogram/ml atau miligram/L digunakan sebagai pemutih kulit.

5

Tujuan invensi ketiga Ekstrak daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) digunakan untuk menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit.

10 Tujuan Invensi keempat Ekstrak daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) dalam bentuk sediaan gum, granul, dan atau serbuk.

Uraian Singkat Gambar

Gambar 1. Struktur kimia zat aktif dari daun Belabetan

15 **Gambar 2.** Penghambatan zat melanin oleh metanol ekstrak dari daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) pada sel B16 melanoma.

Uraian Singkat Tabel

Tabel 1. Efek zat aktif (7-metoksikumarin) pada penghambatan pertumbuhan zat melanin pada sel B16 melanoma

Tabel 2. Efek zat aktif (7-metoksikumarin) pada penghambatan aktifitas Enzim tirosinase

25

Uraian Lengkap Invensi

Invensi ini bertujuan memanfaatkan ekstrak daun Belabetan yang keterkaitannya dengan fungsinya dalam kehidupan sehari-hari suku Dayak di Kalimantan Timur yang menggunakan daun Belabetan ini untuk perawatan kulit, maka ekstrak metanol atau etanol dari daun tanaman ini diuji untuk mengetahui sifat penghambatan terhadap pertumbuhan/perbanyak zat melanin dalam sel kulit tikus (yang dikenal dengan nama sel B16 melanoma) dan juga penghambatan terhadap aktivitas enzim tirosinase.

Invensi ini, sesuai dengan ciri khusus hasil invensi yang bertujuan untuk memutihkan kulit pada manusia melalui uji pada sel tikus (sel B16 melanoma). Adapun invensi ini terdiri dari :

a) **Komposisi ekstrak metanol** dan juga senyawa aktifnya 7-metoksikumarin yang dapat menghambat pertumbuhan/perbanyak zat melanin dalam sel tikus (sel B16 melanoma).

Komposisi ekstrak metanol (berupa gum atau granul diperoleh dengan cara mengevaporasi larutan ekstraksi methanol dengan alat evaporator, atau berupa serbuk yang diperoleh dengan menggunakan alat pengeringan beku atau *Freeze drying*) yang menghambat pertumbuhan zat melanin adalah 10-500 mikrogram/ml, dan komposisi yang paling optimum adalah 500 mikrogram/ml yang dapat menghambat pertumbuhan sebanyak 59% dan tidak mematikan sel tikus tersebut. Hal ini berarti metanol ekstrak ini tidak mematikan sel yang diuji. Sedangkan komposisi zat aktifnya (7-metoksikumarin) memiliki penghambatan zat melanin sekitar

50% dan jumlah sel yang hidup sebesar 83% pada konsentrasi zat aktif 1.78 mM (milimolar), dimana hal ini menunjukkan sel tersebut tidak mengalami kematian yang membahayakan bagi sel tersebut.

- 5 b) **Komposisi ekstrak etanol** yang dapat memutihkan/mencerahkan kulit manusia.

Komposisi ekstrak etanol (berupa gum atau granul diperoleh dengan cara mengevaporasi larutan ekstraksi etanol dengan alat evaporator, atau berupa serbuk yang diperoleh dengan menggunakan alat pengeringan beku atau *Freeze drying*) yang memutihkan/mencerahkan kulit manusia adalah 0,5%-2,0% atau 5.000-20.000 mikrogram/ml dalam bahan krim sebagai pemutih/pencerah kulit.

- 10 c) **Komposisi senyawa aktifnya** (7-metoksikumarin) yang dapat menghambat aktivitas kerja enzim tirosinase.

Pada invensi ini, komposisi zat 7-metoksikumarin (berupa gum atau granul diperoleh dengan cara mengevaporasi larutan ekstraksi methanol dengan alat evaporator, atau berupa serbuk yang diperoleh dengan menggunakan alat pengeringan beku atau *Freeze drying*) yang dapat menghambat aktifitas kerja enzim tirosinase pada tahap awal pembentukan zat melanin melalui proses melanin biosintesis sebesar 50% pada konsentrasi 2.3 mM (milimolar).

- 15 d) Proses pembuatan ekstrak metanol dari daun belabetan (*Eupatorium triplinerve*) dan isolasi senyawa aktifnya.

Daun belabetan (*Eupatorium triplinerve*) yang diperoleh dari Samarinda, Indonesia dan dikeringkan dalam ruangan sesuai dengan suhu ruangan tersebut. Daun tersebut sebanyak 8,17 g diekstraksi dengan menggunakan larutan metanol dalam temperature ruangan. Hasil ekstraksi lalu dievaporasi kemudian diperoleh ekstrak metanol sebanyak 1,34 g.

Proses isolasi senyawa 7-metoksikumarin dari ekstrak metanol dilakukan dengan cara : sebanyak 1,26 g ekstrak methanol diaplikasikan pada silika gel kolom kromatografi [(ukuran kolom = diameter 3 cm x 30 cm) dan dengan berat silica gel = 9.0 g, Wakogel C-200]. Proses ini menggunakan elusi pelarut kimia normal heksana : etil asetat dengan komposisi 10:0, 9:1, 8:2, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 serta etil asetat : metanol dengan komposisi 10:0, 8:2, 6:4, 4:6, 2:8. Proses ini menghasilkan 14 fraksi (Fraksi 1-14) dengan rincian sebagai berikut : pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 10 : 0 sebanyak 250 ml, lalu komposisi 9 : 1 sebanyak 200 ml dan komposisi 8 : 2 sebanyak 100 ml, diperoleh Fraksi 1 (8 miligram) dan Fraksi 2 (52 miligram). Lalu pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 7 : 3 sebanyak 100 ml, diperoleh Fraksi 3 (9.5 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 6 : 4 sebanyak 100 ml, diperoleh Fraksi 4 (38.8 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 5 : 5

sebanyak 100 ml, diperoleh Fraksi 5 (38.7 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 4 : 6 sebanyak 100 ml, diperoleh Fraksi 6 (33.7 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 3 : 7 sebanyak 100 ml, diperoleh Fraksi 7 (44.6 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 2 : 8 sebanyak 100 ml, komposisi 1 : 9 sebanyak 100 ml, komposisi 0 : 10 sebanyak 100 ml, diperoleh Fraksi 8 (30.1 miligram). Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 10 : 0 sebanyak 100 ml serta komposisi 8 : 2 sebanyak 100 ml diperoleh Fraksi 9 (10.4 miligram). Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 6 : 4 sebanyak 100 ml serta komposisi 4 : 6 sebanyak 100 ml diperoleh Fraksi 10 (104.8 miligram). Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 2 : 8 sebanyak 100 ml diperoleh Fraksi 11 (540.4 miligram). Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 0 : 10 sebanyak 300 ml diperoleh Fraksi 12 (156.0 miligram), Fraksi 13 (32.4 miligram), dan Fraksi 14 (41.4 miligram). Berdasarkan uji penghambatan pertumbuhan zat melanin pada sel B16 melanoma, Fraksi 6 (33 miligram) menjadi fokus untuk diisolasi senyawa aktifnya. Dengan menggunakan alat preparasi HPLC (*High performance liquid chromatography*) yang dilengkapi kolom *Inertsil Prep-ODS* (ukuran : 20 mm i.d. x 250 mm) yang dialiri pelarut metanol dan air aquades dengan

rasio 65% dan 35% serta 0.1% mengandung *trifluoroacetic acid*). Aliran pelarut yang dimaksud adalah 8 ml/menit. Melalui proses ini, senyawa aktifnya dapat diisolasi dan dianalisis dengan alat NMR (*Nuclear magnetic resonance*) 400 MHz sehingga diberi
5 nama menurut kaidah ilmiah adalah 7-metoksikumarin atau 7-methoxycoumarin dengan kandungan 13.7 miligram.

Proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol/etanol 96% dimaksudkan agar semua zat aktif yang terkandung dalam daun Belabetan dapat larut secara sempurna sehingga memiliki efek
10 yang signifikan.

15

20

25

Klaim

1. Proses pembuatan ekstrak daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol atau etanol 96% dengan rasio serbuk dengan pelarut (1 : 23) dimana menghasilkan ekstrak 10 - 16% dari berat serbuk.
5
2. Ekstrak daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) dalam bentuk sediaan krim dimana memiliki konsentrasi 0,5% - 2% atau 5.000-20.000 mikrogram/ml atau miligram/L digunakan sebagai pemutih kulit.
10
3. Ekstrak menurut klaim 2 digunakan untuk menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit.
- 15 4. Ekstrak menurut klaim 2 dalam bentuk sediaan gum, granul, dan atau serbuk.

20

25

30

Abstrak**EKSTRAK DAUN BELABETAN (*EUPATORIUM TRIPLINERVE*) SEBAGAI**

5

PEMUTIH KULIT DAN PROSES PEMBUATANNYA

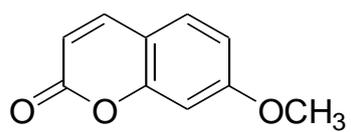
Invensi ini berkaitan dengan proses pembuatan ekstrak daun Belabetan (*Eupatorium triplinerve*) melalui proses ekstraksi menggunakan pelarut metanol/etanol 96% dengan rasio serbuk dengan pelarut (1 : 23) dimana menghasilkan ekstrak 10 - 16% dari berat serbuk yang memiliki 7-metoksikumarin digunakan untuk menghambat pertumbuhan/perbanyak zat melanin dalam sel kulit tikus (Sel B16 melanoma).

15

20

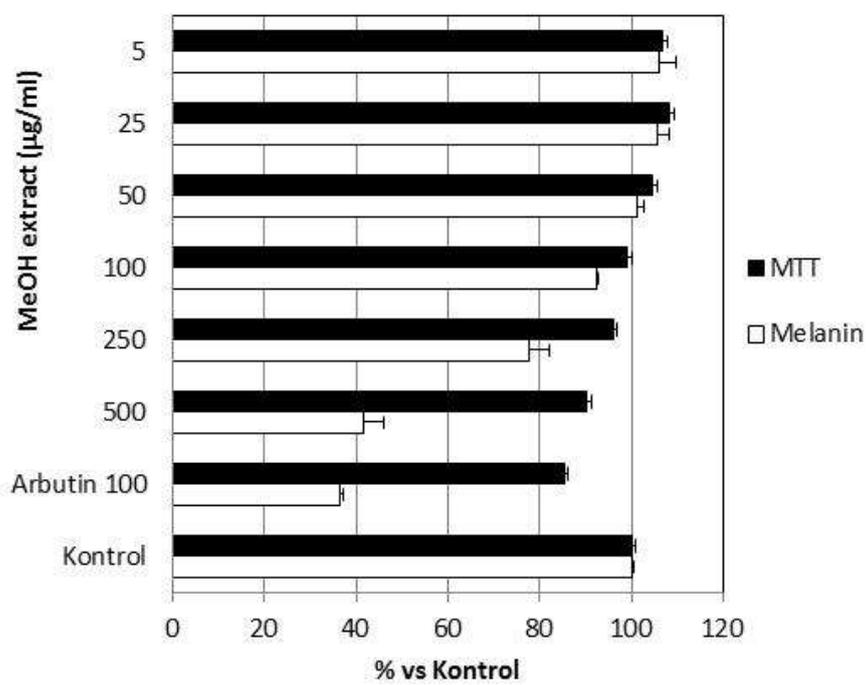
25

30



Gambar 1.

5



Gambar 2.

10

15

20

Tabel 1. Efek ekstrak metanol pada penghambatan pertumbuhan zat melanin pada sel B16 melanoma

Sampel uji	Penghambatan melanin	Jumlah sel yg hidup
	(%terhadap kontrol)	(%terhadap kontrol)
5 Ekstrak metanol 5 μ g/ml	00,0	106,7
Ekstrak metanol 25 μ g/ml	00,0	108,4
Ekstrak metanol 50 μ g/ml	00,0	104,8
Ekstrak metanol 100 μ g/ml	7,6	99,2
Ekstrak metanol 250 μ g/ml	22,5	95,9
10 Ekstrak metanol 500 μ g/ml	58,5	90,3
Arbutin 100 μ g/ml (Positif kontrol)	36,4	85,3

15 **Tabel 2.** Efek zat aktif (7-metoksikumarin) pada penghambatan pertumbuhan zat melanin pada sel B16 melanoma

Zat uji	Penghambatan melanin	Jumlah sel yg hidup
	IC ₅₀	(%terhadap kontrol) ^a
7-metoksikumarin	1.78 mM	83
20 Arbutin (positif kontrol)	198.3 μ M	95

^a: Jumlah sel yg hidup (%) pada konsentrasi IC₅₀ dari penghambatan melanin dalam sel B16 melanoma

IC₅₀ : konsentrasi dimana terjadi penghambatan 50% aktivitas zat melanin

mM : mili Molar

25 μ M : mikro Molar

Tabel 3. Efek zat aktif (7-metoksikumarin) pada penghambatan aktivitas Enzim tirosinase

Senyawa	L-tirosin ^a	L-DOPA ^a
	IC ₅₀	IC ₅₀
5 7-metoksikumarin	2.3 mM	>2.8 mM
		(20% penghambatan pada konsentrasi 2.8 mM)
<i>Kojic acid</i>	5.3 μM	14.1 μM
(Kontrol positif)		

^a : Substrat.

10 IC₅₀ : konsentrasi dimana terjadi penghambatan 50% aktivitas enzim tirosinase.

mM : mili Molar

μM : mikro Molar

15

20

25

30

Referensi :

- Bose Pombya, Gupta Malaya, Mazumder Upal Kanti, Kumar Ramanathan Sambath, Sivakumar Thangavel, Kumar Raman Suresh. Hepatoprotective and antioxidant effects of *Eupatorium ayapana* against carbon tetrachloride induced hepatotoxicity in rats. Iranian Journal of Pharmacology & Therapeutics (2007), 6(1), 27-33.
- 5
- Yadava R.N, Barsainya Deepak. Antimicrobial activity and GLC analysis of the essential oil of the leaves of *Eupatorium triplinerve*. Asian Journal of Chemistry (1998), 10(1), 74-78.
- 10
- Sugimoto Masaki, Hirayama Yutaka, Hakamada Yusuke. Natural antioxidants obtained from plants. Japan Kokai Tokkyo Koho (1999), 12 pp. (Japan Patent)
- 15
- Shimizu Hiroyuki. Antioxidants containing plant extracts for cosmetics and pharmaceuticals. Japan Kokai Tokkyo Koho (2001), 19 pp. (Japan Patent)
- Gupta Malaya, Mazumder U K, Chaudhuri Ila, Chaudhuri R K, Bose P, Bhattacharya S, Manikandan L, Patra S. Antimicrobial activity of *Eupatorium ayapana*. Fitoterapia (2002), 73(2), 168-170.
- 20
- Greff Daniel. Cosmetic and pharmaceutical compositions containing *Eupatorium ayapana* extract. France Demande (1997), 9 pp. (France Patent)
- 25
- Sugimoto Maki, Ishimaru Hidehiko, Shimogaki Hisao. Hair care preparation composition/Hair care composition for preventing alopecia and canities. Japan Kokai Tokkyo Koho (2002), 11 pp. (Japan Patent)
- 30
- Yamashita Masahiro, Fujita Sanae. Cosmetics containing sunscreen agents and plant extracts. Japan Kokai Tokkyo Koho (2002), 11 pp. (Japan Patent)
- Oki Chieko. Stable aerosol cosmetics containing plant extracts and phosphate surfactants. Japan Kokai Tokkyo Koho (2004), 9 pp. (Japan Patent)
- 35
- Fournial Arnaud, Grizaud Claire Marie, Le Moigne Caroline, Mondon Philippe. Cosmetic composition containing acetylated oligoglucuronans. France Demande (2010), 101pp. (France Patent)

- Tamarkin Dov, Friedman Doron, Eini Meir. Film forming foamable pharmaceutical and cosmetic compositions and cosmetic and therapeutic uses thereof. U.S. Patent. Appl. Publ. (2006), 20pp.
- 5 Masamoto Yukimitsu, Murata Yoshiyuki, Baba Kimiye, Shimoishi Yasuaki, Tada Mikiro, Takahata Kyoya. Inhibitory effects of esculetin on melanin biosynthesis. Biological & Pharmaceutical Bulletin (2004), 27(3), 422-425.
- 10 Kawaii Satoru, Tomono Yasuhiko, Ogawa Kazunori, Sugiura Minoru, Yano Masamichi, Yoshizawa Yuko. The antiproliferative effect of coumarins on several cancer cell lines. Anticancer Research (2001), 21(2A), 917-923.