



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 hak atas Paten kepada:

Nama dan Alamat Pemegang Paten

: ENOS TANGKE ARUNG
Jl. Perjuangan GG Alam Segar II No. 19/B,
Rt/Rw. 03/000 Kel. Sempaja Selatan,
Samarinda Utara Kota Samarinda 75119
Kalimantan Timur
INDONESIA

Untuk Invensi dengan Judul

: EKSTRAK RIMPANG BANGLE SEBAGAI PEMUTIH KULIT
DAN PROSES EKSTRAKSI SENYAWA AKTIFNYA

Inventor

: Enos Tangke Arung
Irawan Wijaya Kusuma

Tanggal Penerimaan

: 24 November 2011

Nomor Paten

: IDP000049351

Tanggal Pemberian

: 05 Februari 2018

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.



a.n. MENTERI HUKUM DAN HAK ASASI MANUSIA
DIREKTUR JENDERAL KEKAYAAN INTELEKTUAL

Dr. Freddy Harris, S.H., LL.M., ACCS.
NIP. 196611181994031001



Deskripsi

EKSTRAK RIMPANG BANGLE SEBAGAI PEMUTIH KULIT DAN PROSES EKSTRAKSI SENYAWA AKTIFNYA

5 Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan komposisi pemutih kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang *Zingiber cassumunar* yang mengandung zat aktif (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol yang menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang diterima secara kosmetik, disukai dalam bentuk sediaan tepung, krim atau losion.

Latar Belakang Invensi

Melanin merupakan 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 hidrosilasi 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

sebagai bahan perawatan kulit, khususnya pemutih/pencerah kulit. Selain itu, manfaat dari [(E)-4-(3,4-dimetoxphenyl)but-3-en-1-ol] adalah sebagai penghambat produksi nitrik oksida (NO) pada makrofag peritoneum tikus (Nakamura dkk, 2009) dan penghambat aktifitas enzim Cyclooxygenase-2 (Han dkk, 2005)

Pada penelitian sebelumnya, rimpang bangle adalah tanaman yang biasa digunakan sebagai salah satu bahan anti larva nyamuk (Nimal dkk, 2005), Anti jamur (Ficker dkk, 2003), Pengobatan *atopic dermatitis dan rough skin* (Ota dkk, 2004), dan Anti penuaan kulit dan pengurangan selulit pada kulit (Holderith dkk, 2007).

Khususnya pada invensi Holderith, dimana bangle digunakan sebagai salah satu bahan anti aging skin (WO/2007/144270), ekstrak Bangle sejumlah (0.10 %), dimanfaatkan sebagai bagian kecil dari ingredient/bahan dasar produk kosmetik untuk mencegah atau menangani masalah penuaan pada kulit (skin ageing), serta proses aplikasi kosmetik tersebut. Ekstraksi bangle dan kosmetik dalam invensi ini menggunakan metode Uji Stimulasi Sintesis Elastin (*in vitro test*)

Kelemahan metode dan produk kosmetik Holderith adalah hanya untuk melawan tanda-tanda penuaan kulit ("to combat the signs of skin ageing") dengan menggunakan metode Uji Stimulasi Sintesis Elastin, selain itu produk Holderith juga untuk mengatasi selulit pada kulit ("reduce celiulite").

Pada invensi ini digunakan metode sistem kultur B16 melanoma (*in vitro test*) dimana sel tikus B16 melanoma tersebut memproduksi



berbagai konsentrasi. Spot hitam pada gambar adalah zat melanin yang dihasilkan oleh sel tikus B16 melanoma.

Uraian Lengkap Invensi

- 5 Invensi ini berhubungan dengan komposisi pemutih kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) 0,25% yang mengandung zat aktif (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol yang menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang diterima secara kosmetik.
- 10 Invensi ini juga berhubungan dengan sediaan-sediaan pemutih kulit dalam bentuk sediaan seperti tepung, krim atau losion.

Pembuatan-Pembuatan Sediaan.

1. Pembuatan sediaan tepung
- 15 Cara pembuatannya :
- Merendam beras selama 7 hari (tiap hari airnya diganti) hingga beras menjadi tepung, lalu tepung dikeringkan.
 - Ekstrak etanol bangle (*Zingiber purpureum*) sebesar 0,25% dilarutkan dalam alkohol, lalu dicampurkan pada tepung beras.
- 20 2. Pembuatan sediaan krim
- Cara pembuatannya :
- Mempersiapkan bahan krim yang sudah tersedia dengan kekentalan tertentu di dalam wadah.
 - Mencampurkan ekstrak etanol bangle (*Zingiber purpureum*) sebesar
- 25 0,25% pada adonan krim tersebut.



= diameter 3 cm x 30 cm), dan dengan berat silica gel = 9.1 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 8:2, 6:4, 4:6, 2:8, 0:10. Proses ini menghasilkan 27 fraksi (Fraksi 1-27) dengan rincian sebagai berikut : pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 10 : 0 sebanyak 100 ml, lalu komposisi 9 : 1 sebanyak 200 ml dan komposisi 8 : 2 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-1 (21 miligram). Lalu pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 7 : 3 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-2 (58 miligram).

Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 6 : 4 sebanyak 500 ml, diperoleh Fraksi Ba-3 (150 miligram), Fraksi Ba-4 (95,5 miligram), Fraksi Ba-5 (30,3 miligram), Fraksi Ba-6 (25 miligram), Fraksi Ba-7 (10 miligram), Fraksi Ba-8 (27.8 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 5 : 5 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-9 (20,7 miligram), Fraksi Ba-10 (21,8 miligram), Fraksi Ba-11 (37,7 miligram), Fraksi Ba-12 (31.4 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 4 : 6 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-13 (15,9 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 3 : 7 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-14 (19,8 miligram).



Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 2 : 8 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-15 (21,9 miligram). komposisi 1 : 9 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-16 (17,7 miligram) dan diperoleh Fraksi Ba-17 (19,9 miligram). Pada 5 komposisi 0 : 10 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-18 (17,2 miligram). Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 8 : 2 sebanyak 200 ml diperoleh Fraksi Ba-19 (13,3 miligram) dan Fraksi Ba-20 (84,1 miligram).

10 Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 6 : 4 sebanyak 150 ml diperoleh Fraksi Ba-21 (33,5 miligram). Pada komposisi 4 : 6 sebanyak 150 ml diperoleh Fraksi Ba-22 (23,6 miligram).

15 Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 2 : 8 sebanyak 150 ml diperoleh Fraksi Ba-23 (11,2 miligram) dan Fraksi Ba-24 (6,9 miligram).

Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 0 : 10 sebanyak 400 ml diperoleh Fraksi Ba-25 (3,2 miligram), Fraksi Ba-26 (1,4 miligram) dan Fraksi Ba-27 (2,4 miligram).

20 Berdasarkan uji HPLC (*high performance liquid chromatography*) fraksi 6 hanya terdapat satu puncak dan dianalisis dengan alat NMR (*nuclear magnetic resonance*) 400 MHz, fraksi Ba-6 merupakan fraksi yang murni dan senyawa tersebut adalah (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol. Senyawa ini kemudian

diuji untuk mengetahui penghambatan zat melanin pada sel tikus B16 melanoma.

Efek zat aktif [(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol] ini juga dapat terlihat pada penghambatan pertumbuhan zat melanin pada sel B16 melanoma sebagaimana table berikut.

Tabel 1.

Sampel	Penghambatan melanin	Jumlah sel yg hidup
	(%terhadap kontrol)	(%terhadap kontrol)
10 Ekstrak bangle	67,8	76,6
Ba-6 (1 µg/ml)	00,0	104,7
Ba-6 (30 µg/ml)	27,8	93,6
Ba-6 (50 µg/ml)	53,4	83,1
Ba-6 (100 µg/ml)	72,2	40,3
15 Arbutin(Positif kontrol)	51,8	91,1

20

25

**Klaim**

1. Suatu komposisi pemutih kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) 0,25% yang mengandung zat aktif (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol yang menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang diterima secara kosmetik.

2. Komposisi pemutih kulit sesuai klaim 1 disukai dalam bentuk sediaan tepung, krim atau losion.

10

15

20

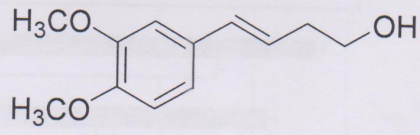
25

B

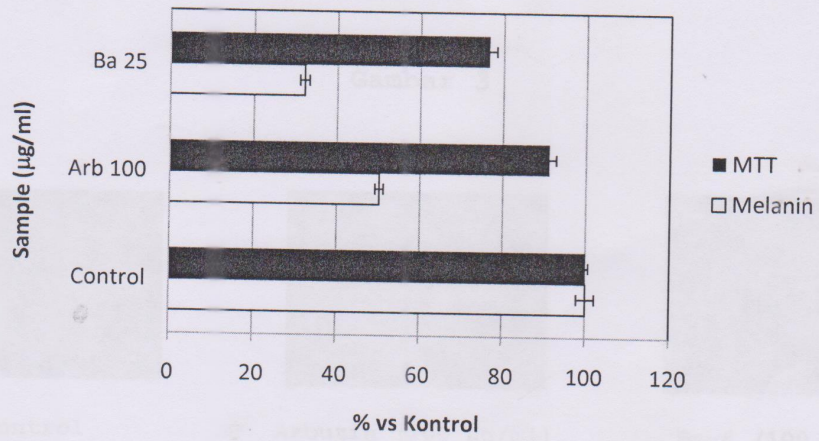
**Abstrak****EKSTRAK RIMPANG BANGLE SEBAGAI PEMUTIH KULIT DAN
PROSES EKSTRAKSI SENYAWA AKTIFNYA**

5 Invensi ini berhubungan dengan suatu komposisi pemutih
kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang bangle
(*Zingiber purpureum*) 0,25% yang mengandung zat aktif
(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)-but-3-en-1-ol yang menghambat
pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang
10 diterima secara kosmetik.

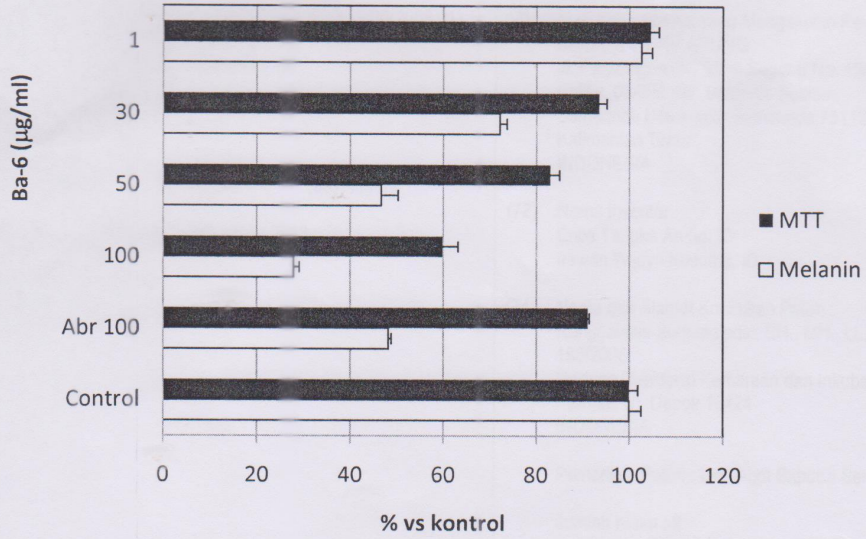
 Invensi ini berhubungan dengan komposisi pemutih kulit yang
disukai dalam bentuk sediaan tepung, krim atau losion.



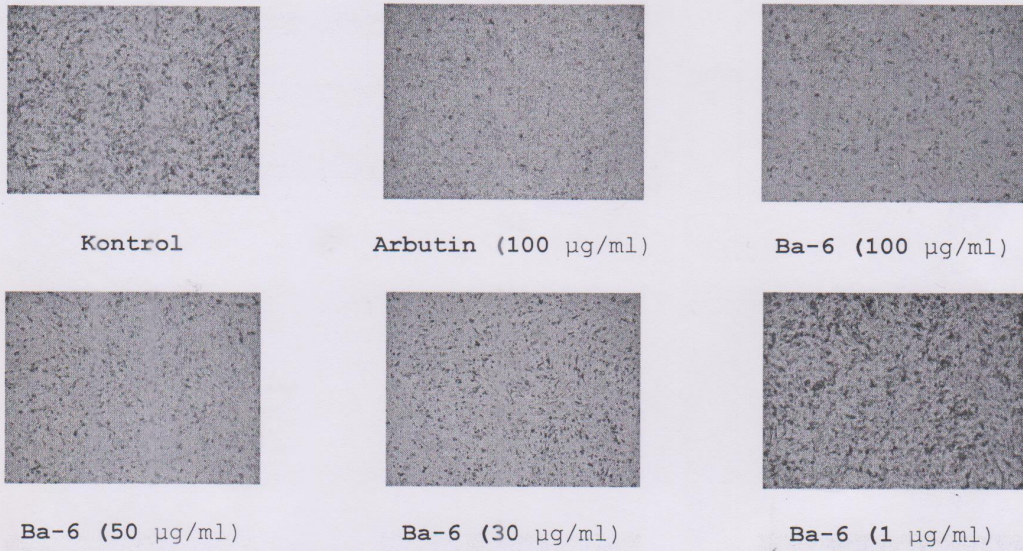
Gambar 1.



Gambar 2.



Gambar 3



Gambar 4.

Or

Deskripsi

EKSTRAK RIMPANG BANGLE SEBAGAI PEMUTIH KULIT DAN PROSES EKSTRAKSI SENYAWA AKTIFNYA

5 Bidang Teknik Invensi

Invensi ini berhubungan dengan komposisi pemutih kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang *Zingiber cassumunar* yang mengandung zat aktif (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol yang menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang diterima secara kosmetik, disukai dalam bentuk sediaan tepung, krim atau losion.

Latar Belakang Invensi

Melanin merupakan 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/pencerah kulit. Bangle sejak dulu digunakan oleh berbagai suku (Jawa, sunda, Toraja, dan lain-lain) di Indonesia sebagai obat dan jamu. Berdasarkan pemanfaatan tradisional tersebut, maka dilakukan

5 kajian untuk mengetahui manfaat ekstrak rimpang bangle untuk perawatan kulit secara khusus sebagai pemutih/pencerah kulit dengan menggunakan sel tikus B16 melanoma. Sel tikus B16 melanoma ini mampu menghasilkan melanin (zat warna pada kulit manusia/hewan) dalam jumlah yang banyak dan cepat, sehingga metode ini sangat efektif

10 digunakan untuk mengevaluasi efektifitas suatu ekstrak atau zat aktif sebagai bahan pemutih/pencerah kulit disamping metode ini termasuk metode yang murah. Kajian secara ilmiah tentang manfaat ekstrak rimpang bangle dilakukan dengan mengisolasi atau mendapatkan zat aktif yang ada dalam ekstrak rimpang bangle tersebut

15 dengan melihat penghambatan pembentukan zat melanin dalam sel tikus B16 melanoma.

Rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) yang digunakan adalah rimpang yang berumur 4-5 bulan dari wilayah sekitar Samarinda. Rimpang bangle ini bercirikan berwarna kuning seperti kunyit tetapi

20 memiliki bau khas perpaduan bau jahe dan kunyit.

Invensi ini bertujuan untuk pemanfaatan ekstrak rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) atau sinonimnya *Zingiber cassumunar* sebagai penghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel tikus B16 melanoma, serta proses isolasi atau pengambilan zat aktifnya

25 [(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol] guna pemanfaatan

sebagai bahan perawatan kulit, khususnya pemutih/pencerah kulit. Selain itu, manfaat dari [(E)-4-(3,4-dimetoxphenyl)but-3-en-1-ol] adalah sebagai penghambat produksi nitrik oksida (NO) pada makrofag peritoneum tikus (Nakamura dkk, 2009) dan penghambat 5 aktifitas enzim Cyclooxygenase-2 (Han dkk, 2005)

Pada penelitian sebelumnya, rimpang bangle adalah tanaman yang biasa digunakan sebagai salah satu bahan anti larva nyamuk (Nimal dkk, 2005) , Anti jamur(Ficker dkk, 2003), Pengobatan *atopic dermatitis dan rough skin* (Ota dkk, 2004), dan Anti penuaan kulit 10 dan pengurangan selulit pada kulit (Holderith dkk, 2007).

Khususnya pada invensi Holderith , dimana bangle digunakan sebagai salah satu bahan anti aging skin (WO/2007/144270), ekstrak Bangle sejumlah (0.10 %), dimanfaatkan sebagai bagian kecil dari ingredient/bahan dasar produk kosmetik untuk mencegah atau 15 menangani masalah penuaan pada kulit (skin ageing), serta proses aplikasi kosmetik tersebut. Ekstraksi bangle dan kosmetik dalam invensi ini menggunakan metode Uji Stimulasi Sintesis Elastin (*in vitro test*)

Kelemahan metode dan produk kosmetik Holderith adalah hanya 20 untuk melawan tanda-tanda penuaan kulit ("to combat the signs of skin ageing") dengan menggunakan metode Uji Stimulasi Sintesis Elastin, selain itu produk Holderith juga untuk mengatasi selulit pada kulit ("reduce celiulite").

Pada invensi ini digunakan metode sistem kultur B16 melanoma 25 (*in vitro test*) dimana sel tikus B16 melanoma tersebut memproduksi

melanin dalam jumlah yang besar dan ekstrak bangle dapat menghambat produksi melanin pada sel tersebut sehingga produk ini dapat digunakan untuk bahan pemutih/pencerah kulit yang berbeda dengan invensi dari Holderith.

5

Uraian Singkat Invensi

Invensi ini berhubungan dengan komposisi pemutih kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) yang mengandung zat aktif (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol yang menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang diterima secara kosmetik, dalam bentuk sediaan tepung, krim atau losion.

10

Uraian Singkat Gambar

15 **Gambar 1.** Struktur kimia zat aktif dari rimpang bangle

Gambar 2. Penghambatan zat melanin oleh ekstrak etanol dari rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) yaitu Ba pada konsentrasi 25 µg/ml pada sel tikus B16 melanoma.

20 **Gambar 3.** Penghambatan zat melanin oleh zat aktif Ba-6 [(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol] dari ekstrak rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) pada sel tikus B16 melanoma dengan berbagai konsentrasi.

25 **Gambar 4.** Foto-foto penghambatan zat melanin oleh zat aktif [(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol] dari ekstrak rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) pada sel tikus B16 melanoma dengan

berbagai konsentrasi. Spot hitam pada gambar adalah zat melanin yang dihasilkan oleh sel tikus B16 melanoma.

Uraian Lengkap Invensi

5 Invensi ini berhubungan dengan komposisi pemutih kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) 0,25% yang mengandung zat aktif (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol yang menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang diterima secara kosmetik.

10 Invensi ini juga berhubungan dengan sediaan-sediaan pemutih kulit dalam bentuk sediaan seperti tepung, krim atau losion.

Pembuatan-Pembuatan Sediaan.

1. Pembuatan sediaan tepung

15 Cara pembuatannya :

- Merendam beras selama 7 hari (tiap hari airnya diganti) hingga beras menjadi tepung, lalu tepung dikeringkan.
- Ekstrak etanol bangle (*Zingiber purpureum*) sebesar 0,25% dilarutkan dalam alkohol, lalu dicampurkan pada tepung beras.

20 2. Pembuatan sediaan krim

Cara pembuatannya :

- Mempersiapkan bahan krim yang sudah tersedia dengan kekentalan tertentu di dalam wadah.
- Mencampurkan ekstrak etanol bangle (*Zingiber purpureum*) sebesar 25 0,25% pada adonan krim tersebut.

Pembuatan bentuk losion

Cara pembuatannya :

- Mempersiapkan bahan losion yang sudah tersedia dengan kekentalan tertentu dipersiapkan dalam wadah.
- 5 - Mencampurkan ekstrak etanol bangle (*Zingiber purpureum*) sebesar 0,25% pada adonan losion tersebut.

Invensi ini berhubungan dengan efek ekstrak rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) untuk pencerah/pemutih kulit, maka etanol ekstrak dari rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) diuji untuk
10 mengetahui sifat penghambatan terhadap pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit tikus (yang dikenal dengan nama sel tikus B16 melanoma) dan juga penghambatan terhadap aktivitas enzim tirosinase.

Invensi ini, sesuai dengan ciri khusus hasil penemuan yang
15 bertujuan untuk memutihkan kulit pada manusia, baik ekstrak etanol maupun zat aktifnya memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan/perbanyak zat melanin dalam sel kulit tikus (B16 melanoma sel). Ekstrak etanol menghambat pertumbuhan zat melanin sebanyak 68% dan sedikit mematikan sel tikus tersebut pada
20 konsentrasi 25 µg/ml (mikrogram/ml), seperti terlihat pada Gambar 2. Hal ini berarti ekstrak etanol ini hanya sedikit mematikan sel yang diuji yang hampir serupa hasilnya dengan Arbutin (sebagai positif kontrol yang biasa sebagai zat aktif pada produk kosmetik pemutih kulit). Sedangkan zat aktifnya memiliki
25 penghambatan zat melanin sekitar 50% dan jumlah sel yang hidup

sebesar 86% pada konsentrasi zat aktif 100 µg/ml (mikrogram/ml), dimana hal ini menunjukkan sel tersebut tidak mengalami kematian yang membahayakan bagi sel tersebut seperti halnya pada sel yang diberi Arbutin (sebagai positif kontrol) seperti yang terlihat pada Gambar 3. Pada Gambar 4, terlihat kondisi sel tikus B16 melanoma dengan kadar zat melanin (spot-spot hitam pada sel) dengan berbagai konsentrasi zat aktif seperti yang tertera pada sebelumnya (Gambar 3).

Invensi ini, sesuai dengan ciri khusus hasil penemuan yang bertujuan untuk memutihkan kulit pada manusia melalui uji pada sel tikus (B16 melanoma). Adapun invensi ini terdiri dari komposisi ekstrak etanol yang dapat menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel tikus (B16 melanoma sel), komposisi senyawa aktifnya [(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol] yang dapat menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel tikus (B16 melanoma sel), dan proses pembuatan ekstrak etanol dari rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) dan isolasi senyawa aktifnya.

Komposisi ekstrak etanol yang menghambat pertumbuhan zat melanin adalah 25 µg/ml (mikrogram/ml) yang dapat menghambat pertumbuhan zat melanin sebanyak 68% dan sedikit mematikan sel tikus tersebut yaitu 24%, sedangkan Arbutin sebagai positif kontrol (Zat aktif dalam produk pemutih kulit Shiseido, Jepang) menghambat pertumbuhan zat melanin sebesar 50% dan lebih sedikit mematikan sel tikus yaitu 9%. Hal ini berarti ekstrak etanol bangle pada

konsentrasi di bawah 25 mikrogram/ml, dapat menghambat pertumbuhan zat melanin dan lebih sedikit mematikan sel yang diuji.

Komposisi senyawa aktifnya [(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol] yang dapat menghambat pertumbuhan zat melanin atau B16 melanoma sel (dijui dalam sel tikus) adalah pada konsentrasi 1-100 µg/ml (mikrogram/ml). Pada konsentrasi 50 sampai dengan 30 µg/ml (mikrogram/ml) terlihat penghambatan pertumbuhan zat melanin sebesar 54% hingga 28 % dan sel yang hidup sebesar 83% dan 93% pada konsentrasi tersebut. Hasil ini mendekati hasil positif kontrol yaitu Arbutin 100 µg/ml (mikrogram/ml), dimana arbutin biasa digunakan pada beberapa produk kosmetik pemutih/pencerah kulit .

Proses pembuatan ekstrak etanol dari rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) dan isolasi senyawa aktifnya adalah sebagai berikut. Rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) dikeringkan dalam ruangan sesuai dengan suhu ruangan tersebut. Rimpang tersebut sebanyak 40 gram sampai dengan 50 gram diekstraksi dengan menggunakan larutan etanol dalam temperature ruangan. Hasil ekstraksi lalu dievaporasi kemudian diperoleh ekstrak etanol sebanyak 2,57gram sampai dengan 2,60 gram.

Proses isolasi atau proses pengambilan zat aktifnya [(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol] dari ekstrak etanol dilakukan dengan cara : sebanyak 1,01 gram ekstrak etanol diaplikasikan pada silika gel kolom kromatografi [(ukuran kolom

= diameter 3 cm x 30 cm), dan dengan berat silica gel = 9.1 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, 5 3:7, 2:8, 1:9, 0:10 serta etil asetat : metanol dengan komposisi 8:2, 6:4, 4:6, 2:8, 0:10. Proses ini menghasilkan 27 fraksi (Fraksi 1-27) dengan rincian sebagai berikut : pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 10 : 0 sebanyak 100 ml, lalu komposisi 9 : 1 sebanyak 200 ml dan komposisi 8 : 2 sebanyak 10 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-1 (21 miligram). Lalu pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 7 : 3 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-2 (58 miligram).

Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 6 : 4 sebanyak 500 ml, diperoleh Fraksi Ba-3 (150 miligram), 15 Fraksi Ba-4 (95,5 miligram), Fraksi Ba-5 (30,3 miligram), Fraksi Ba-6 (25 miligram), Fraksi Ba-7 (10 miligram), Fraksi Ba-8 (27.8 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 5 : 5 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-9 (20,7 miligram), Fraksi Ba-10 (21,8 miligram), Fraksi Ba-11 (37,7 20 miligram), Fraksi Ba-12 (31.4 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 4 : 6 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-13 (15,9 miligram). Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 3 : 7 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-14 (19,8 miligram).

Pada elusi dengan pelarut normal heksana : etil asetat dengan komposisi 2 : 8 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-15 (21,9 miligram). komposisi 1 : 9 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-16 (17,7 miligram) dan diperoleh Fraksi Ba-17 (19,9 miligram). Pada 5 komposisi 0 : 10 sebanyak 200 ml, diperoleh Fraksi Ba-18 (17,2 miligram). Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 8 : 2 sebanyak 200 ml diperoleh Fraksi Ba-19 (13,3 miligram) dan Fraksi Ba-20 (84,1 miligram).

Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan 10 komposisi 6 : 4 sebanyak 150 ml diperoleh Fraksi Ba-21 (33,5 miligram). Pada komposisi 4 : 6 sebanyak 150 ml diperoleh Fraksi Ba-22 (23,6 miligram).

Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 2 : 8 sebanyak 150 ml diperoleh Fraksi Ba-23 (11,2 15 miligram) dan Fraksi Ba-24 (6,9 miligram).

Pada elusi dengan pelarut etil asetat : metanol dengan komposisi 0 : 10 sebanyak 400 ml diperoleh Fraksi Ba-25 (3,2 miligram), Fraksi Ba-26 (1,4 miligram) dan Fraksi Ba-27 (2,4 miligram).

20 Berdasarkan uji HPLC (*high performance liquid chromatography*) fraksi 6 hanya terdapat satu puncak dan dianalisis dengan alat NMR (*nuclear magnetic resonance*) 400 MHz, fraksi Ba-6 merupakan fraksi yang murni dan senyawa tersebut adalah (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol. Senyawa ini kemudian

diuji untuk mengetahui penghambatan zat melanin pada sel tikus B16 melanoma.

Efek zat aktif [(E)-4-(3,4-dimetoksifenil)but-3-en-1-ol] ini juga dapat terlihat pada penghambatan pertumbuhan zat melanin pada sel B16 melanoma sebagaimana table berikut.

Tabel 1.

Sampel	Penghambatan melanin	Jumlah sel yg hidup
	(%terhadap kontrol)	(%terhadap kontrol)
10 Ekstrak bangle	67,8	76,6
Ba-6 (1 µg/ml)	00,0	104,7
Ba-6 (30 µg/ml)	27,8	93,6
Ba-6 (50 µg/ml)	53,4	83,1
Ba-6 (100 µg/ml)	72,2	40,3
15 Arbutin (Positif kontrol)	51.8	91,1

20

25

Klaim

1. Suatu komposisi pemutih kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum*).

2. Komposisi pemutih sesuai klaim 1 disukai dengan 5 komposisi ekstrak etanol rimpang Bangle (*Zingiber purpureum*) 0,25% dan yang mengandung zat aktif (E)-4-(3,4-dimetoxyphenyl)but-3-en-1-ol yang menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang diterima secara kosmetik.

10 3. Komposisi pemutih kulit sesuai klaim 1 disukai dalam bentuk sediaan tepung, krim atau losion.

15

20

25

Abstrak**EKSTRAK RIMPANG BANGLE SEBAGAI PEMUTIH KULIT DAN
PROSES EKSTRAKSI SENYAWA AKTIFNYA**

5

Invensi ini berhubungan dengan suatu komposisi pemutih kulit yang mengandung ekstrak etanol rimpang bangle (*Zingiber purpureum*) 0,25% yang mengandung zat aktif (E)-4-(3,4-dimetoksifenil)-but-3-en-1-ol yang menghambat pertumbuhan zat melanin dalam sel kulit dengan bahan pembawa yang diterima secara kosmetik.

10

Invensi ini berhubungan dengan komposisi pemutih kulit yang disukai dalam bentuk sediaan tepung, krim atau losion.

15

20