Jurnal Biologi Tropis

Original Research Paper

Activity of Ethanol Extract and Fraction Products Leaves *Manilkara kauki* as Inhibitors Tyrosinase Enzyme

Dwika Febriana Zakri[1], Dwi Hilda Putri[1], Dezi Handayani[1], Irdawati[1], Marissa Angelina[2*]

[1]Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia;

[2]Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obatan Tradisional, Badan Riset Inovasi Nasional, Banten, Indonesia;

Article History
Received : December 30th, 2024
Revised : January 19th, 2025
Accepted : January 21th, 2025

*Corresponding Author:
Marissa Angelina, Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Padang, Indonesia;
Email: mari011@brin.go.id

Abstract: Currently, cosmetics made from chemical (synthetic) ingredients are in demand by the public because they can whiten the skin by inhibiting the formation of melanin, but the lack of public knowledge about the impact of excessive use has encouraged the need for natural ingredients as tyrosinase inhibitors that are safer than synthetic ingredients. This study aims to test the potential of secondary metabolite compounds in *M. kauki* leaves as inhibitors of tyrosinase enzyme activity by determining the IC_{50} value. This assay utilizes L-tyrosine and arbutin as positive control substrates, with UV-Vis spectrophotometric absorption measurements taken at a wavelength of 470 nm. The findings revealed that the buthanol fraction exhibited the highest tyrosinase enzyme inhibition, with an IC_{50} of 189,72 µg/mL. This was followed by the ethanol extract with an IC_{50} of 191,97 µg/mL, the hexane fraction at 381.50 µg/mL, and the ethyl acetate extract with an IC_{50} of 448.986 µg/mL. All samples displayed strong inhibitory activity, outperforming arbutin as a positive control, which had an IC_{50} value of 831.51 µg/mL.

Keywords: *Manilkara kauki*, melanin, tyrosinase enzyme.

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara yang paparan matahari mengandung radiasi sinar UV serta suhunya tinggi (Arifianti *et al.*, 2017). Radiasi sinar UV dan suhu tinggi dapat menyebabkan produksi melanin yang berlebihan seta memicu terjadinya melasma, bintik-bintik gelap, dan penuaan yang merupakan bagian dari hiperpigmentasi kulit (Chang, 2012). Produksi melanin merupakan salah satu perlindungan kulit terhadap sinar UV (Arifianti *et al.*, 2017).

Tirosinase mengambil peran dalam jalur proses sintesis melanin (Ochigu *et al.*, 2003). Tirosinase berperan sebagai katalis dalam reaksi utama, termasuk reaksi monofenolase yang menghasilkan hidroksilasi L-tirosin serta reaksi difenolase yang melibatkan L-DOPA (3,4-dihidroksifenilalanin).

Sintesis melanin akan turun jika aktivitas tirosinase dihambat (Garcia *el al.*, 2010). Beberapa bahan organik berperan sebagai agen tirosinase. Metabolit sekunder seperti senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid memiliki potensi untuk menghambat proses melanogenesis. Bahan organik ini dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase secara langsung yang berkontribusi pada depigmentasi kulit (Jayantie, *et al.*, 2022).

Riset pencarian agen inhibisi tirosinase yang berasal dari bahan alami banyak dilakukan. Bahan alami dianggap lebih efektif dan aman dalam mengatasi masalah kulit dibandingkan bahan kimia (Hadinata *et al.*, 2022). Salah satu tanaman yang dapat dikembangkan sebagai agen penghambat tirosinase adalah *M. kauki*. Tanaman ini secara empiris digunakan sebagai bahan kosmetik alami di masyarakat. Tujuan penelitian ini adalah menguji potensi senyawa metabolit sekunder daun *M. kauki* sebagai inhibisi aktivitas enzim tirosinase.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional (PRBBOT), Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN), KST.

This article is licensed under a Creative Commons Attribution 4.0 International License.

© 2021 The Author(s). This article is open access

Bj. Habibie, Sepong, Tangerang Selatan, Banten dari Juli sampai Desember 2024.

Bahan penelitian

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel daun *M. kauki* yang diperoleh dari PRBBOT-BRIN sebanyak 3 kg.

Metode penelitian

Preparasi sampel

Daun *M. kauki* dikeringkan di dalam oven pada suhu 50^{o}C. Daun *M. kauki* ditimbang dan dihancurkan menjadi bubuk, kemudian direndam dengan etanol 70% selama 24 jam. Hasil perendaman disaring untuk mendapatkan larutan yang jernih. Proses perendaman dengan etanol diulang sebanyak 4 kali. Hasil ekstraksi etanol diuapkan dan dikeringkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental. Rendemen yang diperoleh dihitung menggunakan rumus:

$$\text{Rendemen: } \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat bubuk kering}} \times 100\%$$

Fraksinasi

Fraksinasi menggunakan metode cair-cair, yaitu melarutkan sampel dengan *aquadest* sebanyak 50 mL. Setelah homogen, sampel ditambahkan dengan pelarut heksan sebanyak 50 mL Campuran diaduk dengan cara dikocok, kemudian diendapkan hingga terbentuk 2 lapisan (lapisan atas dan lapisan bawah).

Lapisan bawah dikeluarkan dari corong pisah, sedangkan lapisan atas ditampung ke dalam *Erlenmeyer* dan dievaporasi. Proses fraksinasi dilakukan berulang kali, sampai larutan bewarna agak bening. Fraksinasi juga dilakukan dengan pelarut etil asetat dan butanol dengan cara yang sama.

Skrining fitokimia

Skrining fitokimia pada ekstrak daun *M. kauki* mencakup pengujian terhadap alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, serta steroid atau triterpenoid. Proses skrining fitokimia mengacu kepada yang dilakukan oleh Chang, 2012.

Penentuan kadar flavonoid dan fenol total

Kadar total flavonoid dalam sampel dianalisis menggunakan spektrofotometri dengan metode kolorimetri berbasis $AlCl^3$ pada panjang gelombang 510 nm, hasilnya dinyatakan sebagai flavonoid total dalam *Quercetin Equivalen* (QE) (Shraim *et al.,* 2021). Sementara itu, kadar total fenol dalam ekstrak daun *M. kauki* ditentukan menggunakan spektrofotometri dengan metode Folin-Ciocalteu (FC) pada panjang gelombang 765 nm, dengan hasil dinyatakan sebagai fenol total dalam *Gallic Acid Equivalen* (GAE) (Noreen *et al.,* 2017).

Uji penghambatan tirosinase

Uji penghambatan tirosinase dilakukan untuk mengetahui kemampuan suatu senyawa menghambat aktivitas enzim tirosinase. Dalam reaksi ini, tirosinase digunakan sebagai enzim utama, sedangkan substrat yang sering digunakan adalah L-Tirosin atau L-DOPA (L-3,4-dihidroksifenilalanin), serta arbutin digunakan sebagai kontrol positif (Aprilliani *et al.,* 2018). Perlakuan terhadap sampel dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Perlakuan Sampel Uji Aktivitas Enzim Tirosinase

Komposisi	**Perlakuan**					
	B1	**B0**	**A1**	**A0**	**S1**	**S0**
DMSO	60 µl	60 µl	-	-	-	-
Sampel	-	-	-	-	60 µl	60 µl
Arbutin	-	-	60 µl	60 µl	-	-
L-Tirosin	60 µl	60 µl	60 µl	60 µl	60 µl	60 µl
BP pH 6,8	120 µl	120 µl	120 µl	120 µl	120 µl	120 µl
Pre inkubasi 15 menit pada suhu 37^{0}C						
Enzim Tirosinase	60 µl	-	60 µl	-	60 µl	-
BP pH 6,8	-	60 µl	-	60 µl	-	60 µl
Inkubasi selama 10 menit pada suhu 37^{0}C						

Pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 470 nm. Persentase penghambatan tirosinase dihitung dengan rumus pada persamaan 1.

$$\frac{(\text{Absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel})}{\text{Absorbansi kontrol}} \text{ x } 100 \quad \textbf{(1)}$$

Aktivitas penghambatan tirosinase dari sampel uji ditentukan dengan nilai IC_{50}. IC_{50} dihitung menggunakan persamaan regresi linear, log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan probit % inhibisi sebagai sumbu y, dari persamaan y = ax ± b dapat dihitung nilai IC_{50}. Nilai IC_{50} dapat dihitung dengan rumus pada persamaan 2.

$$y = ax \pm b \qquad (2)$$

$$x = \frac{(50 \pm b)}{a}$$

Keterangan:
a = slope
b = intersep

Menurut Batubara (2010), potensi penghambatan aktivitas enzim tirosinase dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Kategori Potensi Penghambatan Aktivitas Enzim Tirosinase

Kategori	Konsentrasi (ppm)
Kuat	< 100
Sedang	100 – 450
Lemah	451 – 700
Tidak beraktivitas	> 700

Hasil dan Pembahasan

Hasil Ekstraksi dan Fraksi daun *M. kauki* dalam Menghambat Enzim Tirosinase

Senyawa fitokimia dianalisis dari ekstrak etanol dan hasil fraksi daun *M. kauki*. Rendemen ekstrak daun *M. kauki* diperoleh sebanyak 36, 881% (dari 480 g simplisia kering daun *M. kauki*). Ekstrak etanol selanjutnya difraksinasi. Hasil fraksinasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 3. Hasil Fraksinasi Ekstrak Etanol Daun *M. Kauki*

No	Sampel	Bobot Fraksi (g)	Rendemen Ekstrak
1.	Fraksi heksan	0,706	0,706
2.	Fraksi etil asetat	4,832	4,832
3.	Fraksi butanol	14,03	14,03

Proses ekstraksi menggunakan metode maserasi dikarenakan metodenya sederhana, dapat mengekstrak senyawa metabolit sekunder dengan baik serta dapat mencegah senyawa mengalami dekomposisi yang tidak stabil terhadap pemanasan (Budilaksono *et al*., 2014). Berdasarkan hasil persentase rendemen yang diperoleh, persentase rendemen tersebut telah memenuhi syarat ketentuan yang telah tertera pada Farmakope Herbal Indonesia (2017) yaitu tidak kurang dari 7,5%. Semakin besar nilai rendemen ekstrak, semakin banyak senyawa bioaktif yang dapat terlarut dalam sampel yang digunakan (Aprilianti *et al.*, 2023).

Senyawa Aktif yang Terkandung di Dalam Ekstrak Etanol dan Hasil Fraksi daun *M. Kauki*

Penentuan senyawa fitokimia yang terkandung di dalam ekstrak etanol dan hasil fraksi daun M. kauki (Uji Kualitatif)

Analisis fitokimia terhadap ekstrak etanol dan hasil fraksi daun *M. kauki* dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif bertujuan untuk mengetahui keberadaan senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid pada ekstrak etanol serta hasil fraksi daun *M. kauki*. Hasil skrining fitokimia daun *M. kauki* dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol dan Fraksinasi daun *M. Kauki*

No	Senyawa	Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi Heksan	Fraksi Butanol
1.	Alkaloid				
	Meyer	-	-	-	-
	Dragendorf	+	+	+	+
	Bouchardat	+	-	-	-
2.	Flavonoid	-	+	-	-
3.	Tanin	+	+	-	+
4.	Terpenoid	-	+	+	+
5.	Saponin	+	+	-	+

Hasil skrining fitokimia semua sampel mengandung senyawa alkaloid, seperti yang direaksikan menggunakan pereaksi dragendorf, akan bewarna merah bata dan terbentuk endapan (Septiana dkk., 2005). Pada pereaksi bouchardat, sampel yang mengandung senyawa alkaloid

ditandai dengan adanya endapan bewarna coklat (Nafisah *et al*., 2014). Menurut Robinson (1995), pada uji pereaksi Meyer, tidak adanya senyawa alkaloid ditunjukkan dengan tidak terbentuknya endapan putih. Flavonoid akan mengalami reduksi oleh Mg dan HCl, menghasilkan warna merah, kuning, atau jingga (Harborne, 1987).

Kehadiran tanin dalam sampel ditandai dengan munculnya warna biru atau hijau kehitaman (Marjoni, 2016). Berdasarkan Harborne (1987), kandungan terpenoid dalam tanaman diuji menggunakan metode Liebermann-Buchard, di mana terbentuknya warna jingga atau ungu menunjukkan keberadaan senyawa tersebut. Robinson (1995) juga menyatakan bahwa senyawa dengan gugus polar dan nonpolar bersifat aktif di permukaan, sehingga saponin dapat membentuk misel ketika dikocok dengan air. Dalam struktur misel, gugus nonpolar mengarah ke dalam, sedangkan gugus polar mengarah ke luar, menciptakan tampilan berbusa.

Penentuan Kadar Flavonoid dan Fenol Total (Uji Kuantitatif)

Penentuan kadar flavonoid total

Kadar flavonoid total dari keempat sampel telah uji menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 510 nm. Hasil uji kadar flavonoid total dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Kadar Flavonoid Total

Sampel	Rerata Absorbansi	Rerata (mg QE/g) ± Stdev
Ekstral etanol	0,29	49,66 ± 5,41
Fraksi etil asetat	0,96	84 ± 1,07
Fraksi heksan	0,33	51,73 ± 4,65
Fraksi butanol	0,67	40,07 ± 1,69

Ket: QE adalah singkatan dari Quercetin Equivalen

Dalam penentuan kadar flavonoid total, fraksi etil asetat memiliki rata-rata kadar flavonoid tertinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi lainnya. Tingginya kadar flavonoid dalam fraksi etil asetat disebabkan oleh keberadaan flavonoid dalam bentuk aglikon yang kurang polar, sehingga lebih mudah larut dalam pelarut etil asetat. Etil asetat mampu melarutkan senyawa semipolar pada dinding sel, termasuk aglikon flavonoid (Mangkasa *et al.,* 2018). Hal ini menunjukkan bahwa flavonoid dalam sampel cenderung lebih mudah larut dalam pelarut semipolar.

Penentuan kadar fenol total

Kadar fenol total dari keempat sampel telah diuji menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 765 nm. Hasil uji kadar fenol total dapat dilihat pada Tabel 6. Penentuan kadar total fenol, fraksi etil asetat menunjukkan kadar fenol tertinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya. Tingginya kadar total fenol dalam fraksi ini diduga berasal dari golongan polifenol yang memiliki berat molekul serupa, seperti saponin dan flavonoid (Samin *et al.,* 2013).

Tabel 6. Hasil Penentuan Kadar Fenol Total

Sampel	Rerata (mg GAE/g) ± Stdev
Ekstrak etanol	56,74 ± 7,14
Fraksi etil asetat	79,66 ± 0,95
Fraksi heksan	3,95 ± 1,41
Fraksi butanol	39,94 ± 4,01

Note: GAE adalah singkatan dari Galic Acid Equivalen

Temuan ini diperkuat oleh penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Rahman *et al* (2012), yang melaporkan bahwa kadar total fenol dalam ekstrak etil asetat daun salam (*Flacourtia jangomas*) lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak metanol dan kloroform. Hasil penelitian ini juga konsisten dengan studi Samin *et al* (2013), yang menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dari rambut jagung memiliki kadar total fenol lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi air, n-heksana, dan metanol.

Identifikasi Menggunakan LC-MS/MS

Berdasarkan penelitian yang sudah dilakukan, identifikasi menggunakan LC-MS/MS bertujuan untuk menentukan senyawa yang terkandung didalam ekstrak etanol dan hasil fraksi daun *M. kauki*. Pada fraksi etil asetat mengandung semua senyawa yang terdapat pada hasil fraksi lainnya, seperti myricitrin, ursolic acid, lupeol, (1R,2R,5S,8R,10R,14R)-20-hydroxy 1,2,14,18,18-pentamethyl-17-oxo-8(prop1en2yl) pentacyclo, henicosane-5-carboxylic acid, NP-003535, (1α,2α,3β,5ξ,9ξ,18ξ)1,2,3,19 Tetrahydroxyurs-12-en-28-oic acid. Tetapi pada fraksi butanol hanya terdapat senyawa myricitrin saja.

Nilai IC_{50} Terbaik Dari Ekstrak Etanol dan Hasil Fraksi daun *M. Kauki* Dalam Menghambat Enzim Tirosinase.

Pengujian inhibisi aktivitas enzim tirosinase daun *M. kauki* terdiri dari pengukuran absorbansi terhadap blanko dengan selisih nilai absorbansi 0,55. Kemudian pengukuran absorbansi terhadap larutan standar (arbutin) memperoleh nilai IC_{50} sebesar 831,51 mg mL^{-1}.

Tabel 7. Nilai IC_{50} Ekstrak dan Hasil Fraksi daun *M. Kauki*

Sampel	Nilai IC_{50} (mg mL^{-1})
Ekstrak etanol	191,97
Fraksi etil asetat	448,99
Fraksi heksan	381,50
Fraksi butanol	189,72

Berdasarkan Tabel 7 ekstrak etanol, fraksi heksan, dan butanol menunjukkan potensi penghambatan aktivitas tirosinase pada tingkat sedang serta fraksi etil asetat memiliki potensi penghambatan yang lemah. Setelah dilakukan pengujian inhibisi enzim tirosinase terhadap ekstrak etanol dan hasil fraksi daun *M. kauki*, potensi penghambatan yang paling kuat adalah fraksi butanol, hal ini disebabkan karena fraksi butanol mengandung senyawa-senyawa bioaktif yang dapat berinteraksi dengan enzim tirosinase. Fraksi butanol kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid sehingga mampu menginhibisi enzim tirosinase.

Dapat dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Firnando *et al* (2019) menunjukkan bahwa rimpang Jeringau merah (*Acorus* sp.) mengandung flavonoid total sebesar 6,880 mg QE/g dan fenol total sebesar 101,111 mg GAE/g. Sementara itu, penelitian lain pada Sagu baruk (*Arenga microcarpha*) mengungkapkan bahwa kandungan total fenoliknya mencapai 41,43 mg/kg, yang tergolong tinggi dibandingkan dengan fraksi lainnya, seperti n-heksan dan air (Rondonuwu *et al.*, 2017). Oleh karena itu, fraksi butanol dikenal memiliki aktivitas antioksidan serta kemampuan menghambat enzim tirosinase. Senyawa-senyawa tersebut dapat berikatan dengan situs aktif enzim, sehingga mencegah interaksi antara tirosinase dan substratnya, seperti L-DOPA atau L-tirosin (Furi *et al.*, 2022).

Fraksi butanol tidak selalu memiliki potensi penghambatan enzim tirosinase yang paling kuat dibandingkan dengan fraksi lainnya. Hal ini dibuktikan dalam penelitian pada daun kedabu (*Sonneratia ovata* Backer) oleh Furi *et al* (2022), dimana fraksi etil asetat menunjukkan aktivitas penghambatan tirosinase tertinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 18,82 µg/mL. Fraksi butanol berada di peringkat kedua dengan nilai IC_{50} sebesar 24,42 µg/mL, diikuti oleh fraksi n-heksana dengan nilai IC_{50} sebesar 28,77 µg/mL.

Penelitian pada daun Areuy kikunti (*Pothos junghuhnii de Vreise*) yang dilakukan oleh Purwati dan Mintje (2022), fraksi butanol memiliki nilai IC_{50} sebesar 12.598 ppm, jauh lebih tinggi dibandingkan asam kojat sebagai kontrol positif nilai IC_{50} 30,04 ppm. Nilai IC_{50} yang tinggi menunjukkan bahwa fraksi butanol dari daun ini tidak efektif sebagai inhibitor tirosinase dibandingkan kontrol.

Kesimpulan

Rendemen ekstrak daun *M. kauki* diperoleh sebanyak 36, 881% (dari 480 g simplisia kering daun *M. kauki*) telah memenuhi syarat ketentuan yang telah tertera pada Farmakope Herbal Indonesia (2017) yaitu tidak kurang dari 7,5%. Penentuan senyawa fitokimia yang terkandung di dalam ekstrak etanol dan hasil fraksi daun *M. kauki* secara kualitatif berhasil mengekstrak 4 senyawa aktif, yaitu alkaloid, tannin, saponin, dan terpenoid. Hasil penentuan kadar flavonoid dan fenol total daun *M. kauki* yang tertinggi adalah fraksi etil asetat, yaitu sebesar 84 mg QE/g dan79,66 mg GAE/g.Hasil identifikasi senyawa mengggunakan LC-MS/MS adalah semua senyawa yang terkandung didalam hasil fraksi terdapat pada fraksi etil asetat, tetapi pada fraksi butanol hanya terdapat senyawa myricitrin. Nilai IC_{50} dari ekstrak etanol dan hasil fraksi daun *M. kauki* terbaik adalah terdapat pada fraksi butanol sebesar 189,72 mg mL^{-1} dengan potensi inhibisi enzim tirosinase kategori sedang.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada program Manajemen Talenta BRIN yang sudah mewadahi kegiatan MBKM ini, terimakasih juga penulis ucapkan kepada Ibu Lia Meilawati serta analisis laboran Gedung CPOTB BRIN yang telah memberikan dukungan dan bantuan selama penelitian ini berlangsung, serta bimbingan dan sarannya yang sangat berharga dalam menyelesaikan artikel ini. Terima kasih juga penulis sampaikan kepada rekan-rekan serta keluarga yang telah

memberikan dukungan moral dan semangat yang sangat berarti bagi penulis. Semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat dan menjadi kontribusi yang baik, serta dapat memberikan pengetahuan baru bagi pembaca dan dapat diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari.

Referensi

Aprilliani, A., Suganda, A. G., & Hartati, R. (2018). Uji inhibisi Aktivitas Enzim Tirosinase Beberapa Tenis Tumbuhan Zingiberaceae. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, *14*(1), 46–58.

Arifianti, A. E., Anwar, E, & Nurjanah. (2017). Aktivitas Penghambatan Tirosinase Dan Antioksidan Serbuk Rumput Laut Dari *Sargassum plagyphyllum* Segar Dan Kering. *JPHPI*, 20(20), 3.

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.

Chang T. S. (2012). Natural Melanogenesis Inhibitors Acting Through the Down-Regulation of Tyrosinase Activity. *Materials* 5(9): 1661-1685. https://doi.org/10.3390 /ma5091661

Chang, T. S. (2009). An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*. 10(6). pp: 2440–2475. https://doi.org/10.3390 /ijms10062440

Furi, M., Alfatma,A., Dona, R., Fernando, A., Aryani, F., Utami, R., Muharni, S., Husnawati, Suhery, W.N., & Octaviani. M. (2022). Uji Inhibitor Enzim Tirosinase Ekstrak dan Fraksi Daun Kedabu (*Sonneratia ovata* Backer) secara *In-Vitro*. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, *8*(2), 201–214. https://doi.org/10.51352 /jim.v8i2.529

Garcia-molina F., Varon R., Garcia-rui P.A., Mun, J. L., Rodri J. N., Tudela, J., & Garcia-ca F. (2010). Critical Review Suicide Inactivation of the Diphenolase and Monophenolase Activities of Tyrosinase. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62(7):539-47. https://doi.org/10.1002 /iub.348

Hadinata, E. A., Eva Monica, & Godeliva Adriani Hendra. (2022). Eksplorasi Bahan Alam Sebagai Kosmetik Guna Pencegahan Stres Oksidatif Pada Kulit Manusia: Literature Review. *SAINSBERTEK Jurnal Ilmiah Sains & Teknologi*, 2(2). https://doi.org/10.33479 /sb.v2i2.120

Harborne JB., (1987). Metoda Fitokimia, Penentuan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Terjemahan K. Padmawinata. (Edisi II). Bandung: Penerbit ITB.

Himawan, R. F. (2010). Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT). Jakarta: Sagung Seto

Jayantie, D. D., Farida, Y., & Taurhesia, S. (2022). Aktivitas Antioksidan Dan Inhibisi Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Buah Gandaria (*Bouea macrophylla* Griff.) Secara In Vitro. *Pharmacoscript*, *5*(1), 62–70. https://doi.org/10.36423 /pharmacoscript.v5i1.856

Mahmoud Il, Marzouk MS, Moharram FA, El Gindi MR, Hassan AM. (2001). Acylated Flavonol Glycosides From *Eugenia jambolana* Leaves. *Phytochemistry*; 58, 1239-1244. https://doi.org/10.1016/S0031 9422(01)00365-X

Mangurana, W. O. I., Yusnaini, Y., & Sahidin, S. (2019). Analisis LC-MS/MS (Liquid Chromatogaph Mass Spectrometry) dan Metabolit Sekunder Serta Potensi Antibakteri Ekstrak N-Heksana Spons *Callyspongia aerizusa* yang Diambil Pada Kondisi Tutupan Terumbu Karang Yang Berbeda di Perairan Teluk Staring. *Jurnal Biologi Tropis*, 19(2), 131-141. http://dx.doi.org/10.29303/

Marjoni, R. (2016). Dasar-Dasar Fitokimia. CV. Trans Info Media. Jakarta.

Muharni. 2010. Triterpenoid Lupeol dari Manggis Hutan (*Garcinia bancana* Miq). *Jurnal Penelitian Sains*. 13, 40-45.

Nafisah, M., Tukiran., Suyanto., Nurul, H. (2014). Uji Skrining Fitokimia Pada Ekstrak Heksan, Kloroform, Dan Metanol Dari Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia hirta*), Jurusan FMIPA, *Prosiding Seminar Nasional Kimia Surabaya*, 279- 286.

National Center for Biotechnology Information (2025). PubChem Compound Summary for CID 69624177, 1,2,3,19-Tetrahydroxy-12-ursen-28-oic acid.

Noreen, H., Semmar, N., Farman, M., & Mc Cullagh, J. S. O. (2017). Measurement of Total Phenolic Content And Antioxidant Activity Of Aerial Parts Of Medicinal Plant *Coronopus didymus*. *Asian Pacific*

Journal of Tropical Medicine, *10*(8), 792–801.https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2017.07.024

Ohguchi, K., Tanaka, T., Kido, T., Baba, K., Iinuma, M., Matsumoto, K., Akao, Y., & Nozawa, Y. (2003). Effects of Hydroxystilbene Derivatives on Tyrosinase Activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *307*(4), 861–863. https://doi.org/10.1016/s0006- 291x (03)01284-1.

Puspitasari, A. D., & Proyogo, L. S. (2017). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Cendekia Eksakta*, 2(1). http://dx.doi.org/10.3194/

Putri, I. A. (2023). Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol 70% Batang Nilam (*Pogostemon cablin* Benth.) dengan Metode DPPH. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Clinical Research (IJPSCR)*. 1(2): 1-16

Rambitan, S. R., Manampiring, A., Kepel, B. J., Budiarso, F., & Bodhi, W. (2021). Molecular Docking Senyawa Vitexin, Ursolic Acid dan Flavonol dalam Tumbuhan Binahong (Andredera Cordifolia (Ten.) Steenis) yang Berpotensi sebagai Penghambat Pertumbuhan COVID-19. *eBiomedik*, 9(2).https://doi.org/10.35790/ebm.v9i2.31825

Rauf, A., Ningsi, S., Hasriani, A., & Mukhriani, M. (2020). Aktivitas Penghambatan Enzim Tirosinase Ekstrak Metanol Klika Anak Dara (*Croton oblongus* Burm F.). *Jurnal Kesehatan*, 17-24.:10.24252/kesehatan.v1i1.18220

Rivai, H., Nurdin, H., Suyani, H., & Bakhtiar, A. (2011). Karakterisasi Ekstrak Daun Dewa (*Gynura pseudochina* (L.)) dengan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 5(3), 134-141.

Sagala, Z. & Telaumbanua, K. (2020). Formulasi, Uji Stabilitas dan Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Sediaan Krim dari Ekstrak Buah Harendong (*Melastoma affine* D. Don). *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*. *5*(2), 149-173

Shraim, A. M., Ahmed, T. A., Rahman, M. M., & Hijji, Y. M. (2021). Determination Of Total Flavonoid Content By Aluminum Chloride Assay: A critical Evaluation. *Food Science and Technology*, *150*, 111932. https://doi.org/10.1016 /j.lwt.2021.111932

Silalahi, M. (2017). Senyawa Metabolit Sekunder pada *Etlingera elatior* (Jack) RM Smith.

Yunita, Y. (2019). Uji Aktivitas Inhibisi Terhadap Enzim Tirosinase dari Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum americanum* L.) Secara In Vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 4(1), 38-47.

Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F., & Saboury, A. A. (2019). A Comprehensive Review on Tyrosinase Inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 279–309.