

AKTIVITAS PENGHAMBATAN ENZIM TIROSINASE EKSTRAK METANOL KLIKA ANAK DARA (*Croton oblongus* Burm F.)

1|Afrisusnawati Rauf, 2|Surya Ningsi, 3|A. Hasriani, 4|Mukhriani

Email Korespondensi : afriusnawati.rauf@uin-alauddin.ac.id

Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar

Abstract : Anak dara plant (*Croton oblongus* Burm. F) has been used by the people of Sinjai, South Sulawesi for generations as traditional cosmetics. Several studies have proven that this plant has antioxidant activity and sunscreen activity. Tyrosinase inhibitors are used in cosmetics to prevent hyperpigmentation. Inhibitory activity of the enzyme tyrosinase Anak dara tree bark (*Croton oblongus* Burm. F) has never been reported. This study aims to find out the inhibitory activity of tyrosinase enzyme of methanol extract Anak dara tree bark (*Croton oblongus* Burm. F). The extraction method used is maceration. Testing was carried out with L-tyrosine as a substrate, a methanol extract of Anak dara tree bark (*Croton oblongus* Burm. F) with concentrations of 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, and 100 ppm, and Cojic acid as a positive control and then measured absorption using a micro plate reader at a wavelength of 490 nm. The results showed that the extract of methanol Anak dara tree bark (*Croton oblongus* Burm. F) has strong inhibitory activity of tyrosinase enzyme with an IC₅₀ value of 76.80 µg/mL.

Keywords : Tyrosinase enzyme; *Croton oblongus* Burm F.; Hyperpigmentation

Abstrak : Tanaman Anak dara (*Croton oblongus* Burm. F) telah digunakan oleh masyarakat Sinjai, Sulawesi Selatan secara turun temurun sebagai kosmetik tradisional. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa tanaman ini memiliki aktivitas antioksidan dan tabir surya. Inhibitor tirosinase digunakan dalam kosmetik sebagai pencegah terjadinya hiperpigmentasi. Aktivitas penghambatan enzim tirosinase klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm. F) belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim tirosinase ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm. F). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Pengujian dilakukan dengan L-tirosin sebagai substrat, ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm. F) dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm, dan asam kojat sebagai kontrol positif lalu diukur serapannya menggunakan micro plate reader pada panjang gelombang 490 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm. F) memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 76,80 µg/mL

Kata Kunci : Enzim tirosinase; *Croton oblongus* Burm F. ; Hiperpigmentasi

PENDAHULUAN

Pigmen melanin adalah mekanisme pertahanan utama terhadap sinar ultraviolet dan berperan penting dalam pencegahan kerusakan kulit akibat sinar matahari (Pegard, 2016). Indonesia adalah negara tropis dengan radiasi sinar matahari yang intens, oleh karena itu produksi melanin di kulit dapat terpicu sehingga dapat menyebabkan hiperpigmentasi. Melanin, pigmen utama yang terutama bertanggung jawab pada kulit, rambut dan pigmentasi mata manusia, diproduksi oleh melanosit melalui melanogenesis. Melanogenesis dan pigmentasi kulit adalah faktor fotoprotektif terpenting dalam menanggapi radiasi ultraviolet yang merusak dari sinar matahari dan fotokarsinogenesis kulit. Hilangnya melanin dan depigmentasi yang abnormal bisa menjadi masalah kecantikan dan dermatologis wajah yang serius (Zolghadri, 2019).

Proses pembentukan melanin dapat dikurangi dengan menghambat enzim tirosinase. Tirosinase (EC 1.14.18.1) adalah enzim yang mengandung tembaga multifungsi, yang mengatur melanogenesis di dalam melanosit. Oksidasi L-tirosin dan l-DOPA adalah langkah pertama dari melanogenesis yang dikatalisis oleh tirosinase. Tirosinase mengkatalisis pembentukan kuinon, yang digunakan lebih lanjut untuk sintesis melanin (Biswas, 2017). Inhibitor tirosinase adalah senyawa yang dapat menghambat pembentukan melanin. Senyawa ini adalah pendekatan terbaru yang digunakan untuk mencerahkan kulit. Banyak senyawa sintetis telah dibuktikan menunjukkan efek penghambatan terhadap enzim tirosinase dan melanosit pada melanogenesis, seperti asam kojic, merkuri, hidrokuinon, dan arbutin. Namun, senyawa-senyawa ini memiliki efek samping yang berbahaya dalam



penggunaan jangka panjang. Oleh karena itu, diperlukan senyawa bioaktif dan tidak berbahaya dari sumber alami dengan aktivitas penghambatan tirosinase (Dolorosa, 2019).

Beberapa tanaman yang telah dilakukan uji aktivitas inhibitor tirosinase antara lain: kulit batang nangka (Juwita, 2013), *Sophora japonica* L. (Lai, 2014), bengkoang (Fitrah, 2015), *Populus nigra* (Pegard, 2016), rumput laut (Arifianti, 2017), *Sargassum plagyophyllum* dan *Eucheuma cottonii* (Dolorosa, 2019), merbau (*Instsia palembanica*) (Batubara, 2010), alamanda (Yamauchi, 2011), akar manis (Noor, 2016), kulit buah nyirih (Gazali, 2014), daun pepaya (Sagala, 2019), daun bidara arab (Purnamasari, 2020)

Tanaman Anak dara (*Croton oblongus* Burm. F) telah digunakan oleh masyarakat Sinjai, Sulawesi Selatan secara turun temurun sebagai kosmetik tradisional yaitu masker pada wajah. Masyarakat Dusun Bongkong Kabupaten Sinjai Tengah telah menggunakan tanaman ini sebagai bedak dingin yang dipercaya memiliki khasiat mengencangkan kulit. Tanaman Anak dara juga dipercaya mampu mengobati beberapa penyakit seperti nyeri haid, kanker rahim dan penghilang bau badan (Awainah, 2016). Beberapa penelitian terkait tanaman ini antara lain potensi sebagai antimikroba (Mukhriani, 2015), aktivitas penghambatan terhadap sel hela (Tahar, 2015), kandungan senyawa flavonoid, terpenoid, dan fenolik di dalam tanaman Anak dara (Haeria, 2016), potensi sebagai tabir surya (Haeria, 2014), dan aktivitas antioksidan (Awaluddin, 2019).

Eksplorasi senyawa bioaktif yang potensial sebagai penghambat tirosinase yang berasal dari sumber-sumber alami (*natural product*) masih perlu dilakukan. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan penelitian ini yang bertujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan enzim tirosinase ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.). Penelitian terhadap penghambatan enzim tirosinase yang berasal dari tumbuhan khususnya tanaman Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.) diharapkan dapat memberikan kontribusi besar dalam formulasi kosmetik untuk mencegah hiperpigmentasi yang disebabkan oleh radiasi ultraviolet yang berasal dari matahari.

METODE PENELITIAN

Penyiapan sampel

Sampel yang digunakan adalah klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.). Sampel yang telah kering dan dihaluskan kemudian ditimbang sebanyak 100 gram lalu dimasukkan ke dalam wadah penyarian. Teknik penyarian yang digunakan adalah maserasi. Sampel yang telah dimasukkan ke dalam wadah kemudian direndam dengan cairan penyari metanol dengan perbandingan 1 gram sampel : 10 ml pelarut selama 12 jam sebanyak tiga kali. Ekstrak yang diperoleh lalu disaring dengan filter Whatman dan dipekatkan menggunakan rotary evaporator (Batubara, 2010).

Analisis Fitokimia

Alkaloid

Sebanyak 0,5 gram ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.) dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml HCl 2N kemudian dipanaskan selama 2-3 menit, didinginkan dan ditambahkan NaCl lalu disaring. Ditambahkan 2 ml HCl 2N ke dalam filtrat. Ekstrak dibagi menjadi 3 bagian dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi (I) ditambahkan dragendorf menghasilkan endapan merah jingga, tabung reaksi (II) ditambahkan mayer menghasilkan endapan putih kekuningan, dan tabung reaksi (III) ditambahkan wagner menghasilkan endapan coklat.

Flavonoid

Sebanyak 0.5 gram ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.) ditambahkan aquades dan heksan lalu dikocok. Campuran akan terpisah menjadi 2 lapisan. Ekstrak metanol dalam air akan berada di bawah dan lapisan heksan akan berada di atas. Lapisan heksan dipisahkan sementara lapisan air ditambahkan etanol kemudian dipisahkan menjadi

2 bagian. Bagian pertama ditambahkan 0,5 ml HCl pekat, lalu dipanaskan di atas penangas selama 15 menit. Positif bila berwarna merah terang atau violet. Bagian kedua ditambahkan 0,5 ml HCl pekat selanjutnya ditambahkan 3 - 4 potong magnesium, amati perubahan warna yang terjadi pada tiap lapisan. Jika warna merah berarti positif mengandung flavonoid. Merah pucat-merah tua mengandung flavon.

Glikosida

Sebanyak 0,2 gram ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F) diuapkan di atas penangas air, lalu ditambahkan 3 ml asam asetat dengan sedemikian pemanasan, kemudian didinginkan. Selanjutnya, larutan ini ditambah larutan besi (III) klorida 0,3M, lalu dengan hati-hati ditambahkan campuran 3 ml asam sulfat dan 1 tetes besi (III) klorida 0,3M sehingga akan terbentuk cincin warna merah cokelat pada batas cairan. Setelah beberapa menit di atas cincin akan berwarna biru hijau, ini menunjukkan adanya glikosida dan glikon gula 2-deoksi

Saponin

Sebanyak 0,5 gram ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.) ditambahkan 10 ml air panas kemudian didinginkan, selama 10 detik larutan dikocok dengan kuat lalu didiamkan selama 10 detik. Terbentuk buih setinggi 1-10 cm dan buih tidak hilang bahkan setelah penambahan 1 tetes HCl 2N jika ekstrak positif mengandung saponin.

Fenolik

Sebanyak 0,2 gram ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.) ditambahkan dengan larutan FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman, atau hijau kehitaman

Pembuatan larutan dapar fosfat

Ditimbang sebanyak 2,7 g KH₂PO₄ dan dilarutkan dalam air suling, sedikit demi sedikit hingga mencukupi volume 400 mL. Selanjutnya pH larutan diukur dengan menggunakan pH meter. Ditimbang 5,6 g KOH dan larutkan dalam 100 mL air suling. Larutan KOH ditambahkan kedalam larutan KH₂PO₄ hingga mencapai pH 6,8. Larutan dapar fosfat disimpan pada lemari pendingin untuk pendapat yang digunakan pada larutan enzim karena enzim stabil pada suhu -20°C.

Pembuatan larutan L- Tirosin

Sebanyak 18,2 mg L-Tirosin dimasukkan ke dalam labu tentukur 100 mL, ditambahkan dapar fosfat sedikit demi sedikit, dan dihomogenkan. Volumennya dicukupkan hingga 100 mL dengan larutan dapar fosfat.

Pembuatan larutan enzim tirosinase

Sebanyak 1 mg enzim tirosinase dimasukkan ke dalam labu tentukur 10 mL dilarutkan dalam 10 mL larutan dapar fosfat yang telah didinginkan. Larutan enzim tirosinase diletakkan pada wadah yang berisi es agar suhu enzim tetap stabil pada suhu dingin saat pengerjaan.

Pembuatan larutan uji ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.)

Sebanyak 5 mg ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.) ditimbang kemudian dilarutkan dengan bantuan DMSO sebanyak 50 µl, dihomogenkan lalu ditambahkan dengan dapar fosfat sampai 1000 µl sehingga diperoleh larutan stok 1000 ppm. Larutan stok lalu diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan, sehingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi masing-masing 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm.

Pembuatan larutan kontrol positif Asam kojat

Sebanyak 5 mg asam kojat dimasukkan kedalam tabung ependorf dan dilarutkan dalam 5 ml dari 50 Mm larutan dapar fosfat (pH,6,5). Kemudian larutan asam kojat diencerkan hingga diperoleh larutan asam kojat dengan konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm.

Uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase

Sebanyak 50 µl L-Tirosin 1 mM, 50 µl larutan dapar fosfat 50 mM (pH 6,8), 20 µl larutan enzim tirosinase dan 100 µl larutan sampel dimasukkan ke dalam sumuran pada *microplate*. Campuran tersebut diinkubasi selama 5 menit pada suhu kamar, kemudian diukur serapannya menggunakan *microplate reader* (ELISA) pada panjang gelombang 490 nm. Dilakukan pengujian blanko tanpa penambahan enzim yaitu digunakan sebanyak 170 µl larutan dapar fosfat (pH 6,8), 50 µl L-Tirosin 1 mM. Kontrol negatif menggunakan campuran tersebut diatas tanpa penambahan sampel dan untuk kontrol positif menggunakan asam kojat. Pengujian dilakukan secara triplo.

Analisis data

Penentuan persentase penghambatan aktivitas tirosinase berdasarkan rumus :

$$\% \text{ penghambatan Tirosinase} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Absorbansi sampel tanpa penambahan inhibitor.

B = Absorbansi sampel dengan penambahan inhibitor.

Aktivitas penghambatan dari sampel uji ditentukan dengan IC₅₀ yaitu konsentrasi sampel uji menghambat aktivitas tirosinase sebesar 50%. IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan probit % inhibisi sebagai sumbu y, dari persamaan $y = bx \pm a$ dapat dihitung nilai IC₅₀.

$$\text{Rumus IC}_{50} \text{ y} = ax + b$$

$$x = (50 - a) : b$$

Keterangan:

a = slope

b = intersep

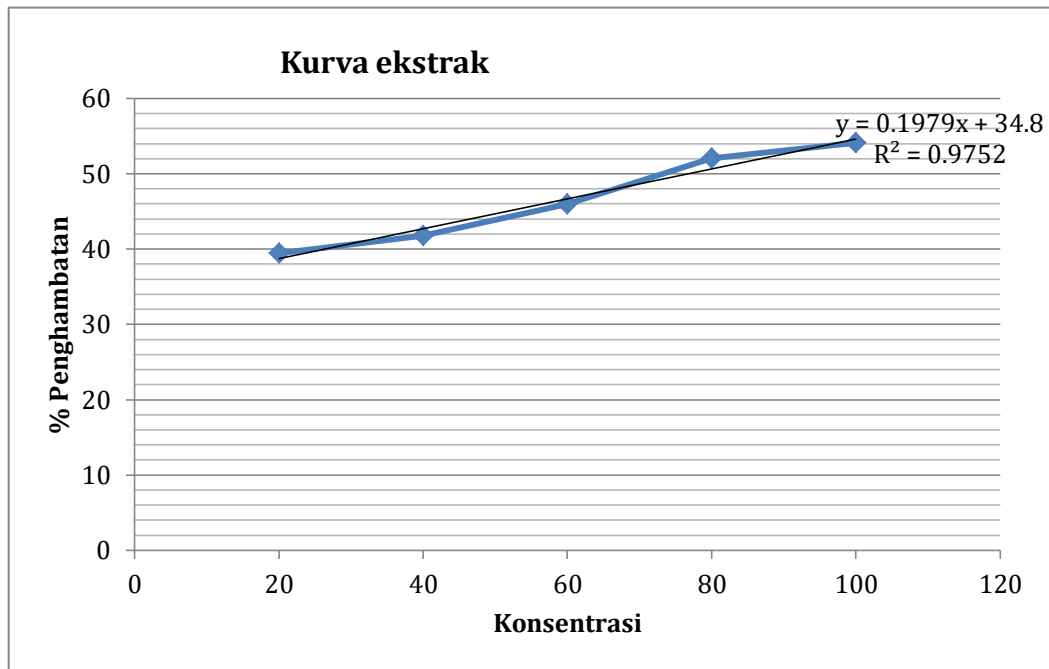
HASIL PENELITIAN

Tabel 1. Hasil identifikasi golongan senyawa ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.)

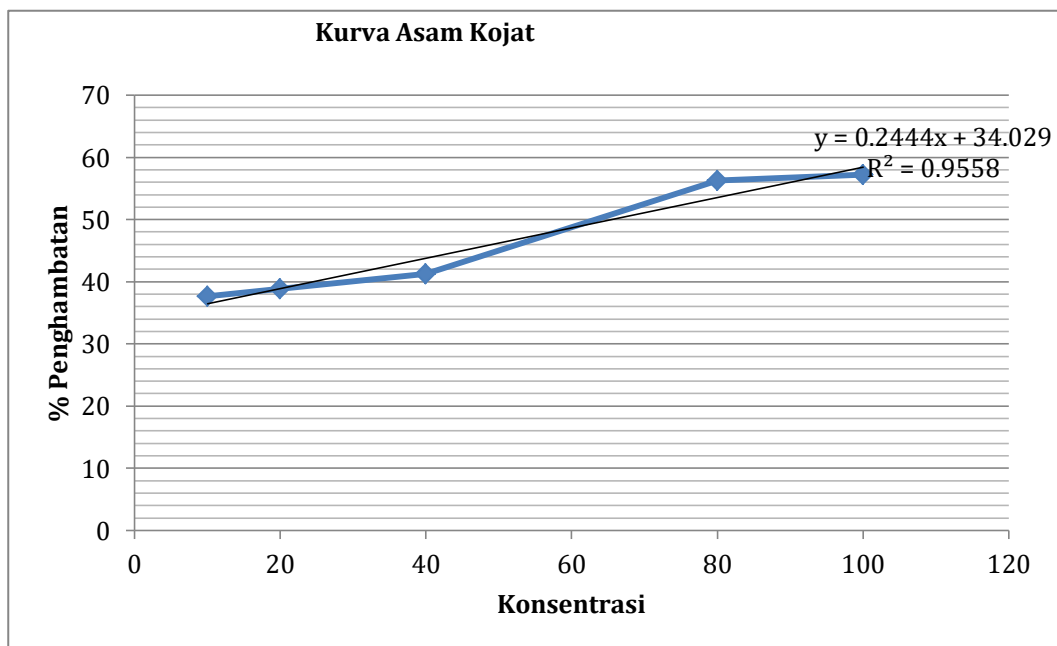
Golongan Senyawa	Ekstrak metanol Klika Anak Dara (<i>Croton Oblongus</i> Burm F)
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Glikosida	-
Saponin	+
Fenolik	+

Tabel 2. Aktivitas penghambatan ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.) dengan Asam kojat sebagai kontrol positif

Sampel	Konsentrasi	Persen (%) penghambatan	Nilai IC ₅₀ (µg/mL)
Ekstrak metanol klika Anak dara	20 ppm	39,46 %	76,80
	40 ppm	41,80 %	
	60 ppm	45,95 %	
	80 ppm	52,02 %	
	100 ppm	54,14 %	
Asam kojat	20 ppm	38,82 %	65,29
	40 ppm	41,27 %	
	60 ppm	55,42 %	
	80 ppm	56,27 %	
	100 ppm	57,23 %	



Gambar 1. Kurva konsentrasi ekstrak vs persen penghambatan



Gambar 2. Kurva konsentrasi asam kojat vs persen penghambatan

DISKUSI

Hasil Analisis Fitokimia

Analisis Fitokimia merupakan salah satu cara untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder pada suatu sampel. Identifikasi golongan senyawa ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.) dilakukan terhadap senyawa alkaloid, flavonoid, glikosida, saponin dan fenol. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak metanol klika anak dara positif mengandung senyawa flavonoid, saponin dan fenol. Penelitian yang dilakukan oleh (Haeria, 2016) juga mendapatkan hasil positif terdapat kandungan flavonoid serta fenolik pada ekstrak n-heksan klika Anak dara.

Flavonoid dianggap sebagai antioksidan hidrofilik yang bertindak sebagai antimikroba, fotoreseptor dan bertanggung jawab untuk fungsi penting pada tumbuhan seperti

pigmentasi, perlindungan UV dan pertahanan terhadap pathogen (Rui-Min Han, 2012) (Bubols, 2013). Dalam kesehatan manusia, senyawa fenolik ini memiliki efek potensial menguntungkan karena kemampuannya dalam membersihkan radikal bebas yang terkait beberapa penyakit seperti kanker dan penyakit kardiovaskular (Fereidoon Shahidi, 2015).

Aktivitas penghambatan enzim tirosinase

Tirosinase atau sering disebut juga polifenol oksidase merupakan enzim yang mengandung atom Cu yang berperan sebagai katalisator pada dua reaksi yang berbeda dalam pembentukan melanin. Reaksi yang pertama yaitu hidrosilasi L-Tyrosine menjadi L-DOPA dalam aktivitas monofenolase sedangkan reaksi kedua yaitu oksidasi L-DOPA menjadi dopaquinon (senyawa kuinon) dalam aktivitas difenolase (Mun˜oz-Mun˜oz, 2010).

Pengujian aktivitas penghambatan enzim tirosinase oleh ekstrak metanol klika anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.) dilakukan dengan menggunakan L-Tirosin sebagai substrat dan asam kojat sebagai kontrol positif. Asam kojat dipilih karena merupakan inhibitor tirosinase yang memiliki daya hambat dan kestabilan paling tinggi dalam suatu kosmetik pencerah kulit (Tamura, 2007). Asam kojat mempunyai kemampuan untuk mengkelat logam tembaga di situs aktif enzim tirosinase.

Hasil uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.) dengan berbagai konsentrasi yakni 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm diperoleh hasil berturut-turut sebesar 39,46 %, 41,80 %, 45,95 %, 52,02 %, 54,14 %. Sedangkan asam kojat sebagai kontrol positif dengan berbagai konsentrasi yaitu 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm diperoleh hasil berturut-turut sebesar 37,65 %, 38,82 %, 41,27 %, 56,27 %, dan 57,23 %. Hasil tersebut diperoleh dari perhitungan nilai absorbansi yang dilakukan secara triplo untuk setiap konsentrasi. Adapun hasil yang diperoleh dalam bentuk persentase bertujuan untuk mengetahui skala perbandingan aktivitas inhibitor enzim pada setiap konsentrasi sampel.

Setelah persentase penghambatan ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.) dan asam kojat diketahui, selanjutnya dilakukan penentuan nilai IC_{50} . IC_{50} adalah konsentrasi suatu inhibitor yang dibutuhkan untuk menghambat setengah dari aktivitas enzim dalam kondisi teruji (Chang, 2009). Besarnya penghambatan ditentukan dengan mengukur absorbansi pembentukan dopakrom menggunakan microplate reader pada panjang gelombang 490 nm. Alat ini dipilih karena memiliki sensitifitas yang tinggi, pengoperasian alat yang halus, kecepatan deteksi yang tinggi, dan sangat akurat. Dari hasil perhitungan diperoleh nilai IC_{50} ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.) yaitu 76,80 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan IC_{50} untuk Asam kojat yaitu 65,29 $\mu\text{g/mL}$. Nilai tersebut lebih besar jika dibandingkan dengan nilai IC_{50} dari asam kojat. Hasil tersebut menunjukkan bahwa asam kojat lebih baik dalam menghambat enzim tirosinase dibandingkan dengan ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.). Semakin kecil nilai IC_{50} , maka kemampuan untuk menghambat enzim tirosinase semakin kuat.

Nilai IC_{50} dibawah 100 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan aktivitas enzim tirosinase yang paling kuat, nilai IC_{50} 100-450 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan yang kurang kuat, dan nilai IC_{50} 450-700 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan sangat lemah (Batubara, 2010). Dari hasil pengujian dapat diketahui bahwa ekstrak metanol klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.) memiliki potensi penghambatan aktivitas enzim tirosinase yang kuat.

Klika Anak dara (*Croton Oblongus* Burm F.) dapat berperan sebagai penghambat enzim tirosinase karena adanya kandungan senyawa flavonoid dalam bagian tanaman ini. Mekanisme penghambatan yang terjadi adalah penghambatan kompetitif untuk oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase dan bagian 3-hidroksi4-keto dari struktur flavonoid yang berperan sebagai pengelat logam tembaga (Cu) dari struktur enzim tirosinase. Pada umumnya satu molekul enzim tirosinase mengandung dua atom Cu yaitu Cu A dan Cu B yang

terikat dengan tiga asam amino histidin (Chang, 2009). Logam Cu berperan sebagai kofaktor pada aktivitas enzim tirosinase. Kemampuan katalitik enzim tirosinase menjadi berkurang dengan hilangnya Cu dari situs aktif enzim, sehingga dopakrom tidak terbentuk. Produk yang dihasilkan dari reaksi dengan substrat adalah dopakrom yang berwarna jingga tua sampai merah sedangkan produk yang dihasilkan dari penggunaan penghambat tidak berwarna, sehingga persen penghambatan tirosinase dapat dihitung dengan cara mengurangi serapan yang terbentuk tanpa penghambat dengan serapan yang terbentuk dengan penambahan penghambat.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol klica Anak dara (*Croton oblongus* Burm F.) memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase yang kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 76,80 µg/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Arifianti, A. E. (2017). Aktivitas Penghambatan Tirosinase Dan Antioksidan Serbuk Rumput Laut Dari Sargassum Plagyphyllum Segar Dan Kering. *JPHPI*, 20(3), 488-493.
- Awainah, N. (2016). *Standarisasi Ekstrak Metanol Klika Anak Dara (Croton oblongus Burm F.)*. Makassar: Program Studi Farmasi UIN Alauddin Makassar.
- Awaluddin, N. (2019). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Methanol Klika Anak Dara (Croton Oblongus Burm) Menggunakan Metode Dpph. *Jurnal Farmasi FKIK UINAM*, 2, 38-45.
- Batubara. (2010). Potency of Indonesian Medicinal Plants as Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Agent. *Journal of Biological Sciences*, 10(2), 138-144.
- Biswas, R. (2017). Tyrosinase inhibitory mechanism of betulinic acid from *Dillenia indica*. *Food Chemistry*, 232, 689-696.
- Bubols, G. B. (2013). The Antioxidant Activity of Coumarins and Flavonoids. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13, 318-334.
- Chang, T.-S. (2009). An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *Int. J. Mol. Sci*, 10, 2440-2475.
- Dolorosa, M. T. (2019). Tyrosinase inhibitory activity of Sargassum plagyophyllum and Eucheuma cottonii methanol extracts. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*.
- Fereidoon Shahidi, P. A. (2015). Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects –A review. *Journal of functional foods*, 18, 820–897.
- Fitrah, S. (2015). Pengaruh Pemberian Umbi Bengkuang (*Pachyrrhizus Erosus* L Urban) Terhadap Jumlah Pigmen Melanin Kulit Mencit (*Mus Musculus*) Yang Dipaparkan Sinar Matahari. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 3(1).
- Gazali, M. (2014). Potency of waste fruit peel of *Xylocarpus granatum* as a tyrosinase inhibitor. *Depik*, 3(3), 187-194.
- Haeria. (2014). Penentuan Potensi Tabir Surya Ekstrak Klika Anak Dara (Croton Oblongus Burm F.). *JF FIK UINAM*, 2(1), 1-5.
- Haeria. (2016). Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Ekstrak n-heksan Klika Anak Dara (Croton oblongus Burm F.). *Pharmauho*, 2(1), 13-16.
- Juwita, N. K. (2013). Uji Penghambatan Tirosinase Dan Stabilitas Fisik Sediaan Krim Pemutih Yang Mengandung Ekstrak Kulit Batang Nangka (*Artocarpus heterophyllum*). *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 8(2), 57-124.
- Lai, J.-S. (2014). Tyrosinase Inhibitory Activity and Thermostability of the Flavonoid Complex from *Sophora japonica* L (Fabaceae). *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(2), 243-247.
- Mukhriani. (2015). Fraksinasi Senyawa Antimikroba Daun Anak Dara (Croton Oblongus Burm F.). *JF FIK UINAM*, 3(4), 193-200.
- Mun˜oz-Mun˜oz, J. L. (2010). Suicide Inactivation of the Diphenolase and Monophenolase Activities of Tyrosinase. *IUBMB Life*, 62(7), 539–547.

- Noor, S. U. (2016). Formulation Of Liquorice Root Extract (Glycyrrhiza Glabra L.) As Skin Whitening Cream. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 9(2), 93-99.
- Pegard, M. A. (2016). Populus nigra (Salicaceae) absolute rich in phenolic acids, phenylpropanoids and flavonoids as a new potent tyrosinase inhibitor. *Fitoterapia*.
- Purnamasari, D. R. (2020). Test Of Tyrosinase Enzyme Inhibitor Activity Of Bidara Arab Leaves Ethanol Extract (Ziziphus Spina-Christi L.) By In Vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 5(1), 35-44.
- Rana, J. (2013). Inhibition of Melanin Content by Punicalagins in The Super Fruit Pomegranate (Punica granatum). *Journal of Cosmetics Sciences*, 64(6), 445-453.
- Rui-Min Han, J.-P. Z. (2012). Reaction Dynamics of Flavonoids and Carotenoids as Antioxidants. *Molecules*, 17, 2140-2160.
- Sagala, Z. (2019). Uji Aktivitas Inhibisi Terhadap Enzim Tirosinase Dari Ekstrak Etanol Daun Pepaya (Carica papaya L.) Secara In Vitro. *Jurnal Penelitian Farmasi Indonesia*, 7(2), 2656-3614.
- Tahar, N. (2015). Uji Aktivitas Penghambatan Fraksi Non Polar Ekstrak Klika Anak Dara (Croton Oblongus Burm F.) Terhadap Sel Kanker Hela. *JF FIK UINAM*, 3(3), 129-133.
- Yamauchi, K. (2011). Isolation, Identification and Tyrosinase Inhibitory Activities of the Extractives from Allamanda cathartica. *Natural Resources*, 2, 167-172.
- Zolghadri, S. (2019). A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 279-309.