

## UJI AKTIVITAS INHIBISI TERHADAP ENZIM TIROSINASE DARI EKSTRAK ETANOL DAUN PEPAYA (*Carica papaya* L.) SECARA IN VITRO

Zuraida Sagala<sup>1\*</sup>, Ritha Widya Pratiwi<sup>1</sup>, Nadhiyanawati Ulul Azmi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Jalan Sunter Permai Raya, Sunter Podomoro, Jakarta Utara, Jakarta, Indonesia

\*E-mail: 1\* [zoerasagala@gmail.com](mailto:zoerasagala@gmail.com)

### ABSTRAK

Inhibitor tirosinase digunakan dalam kosmetik sebagai pencegah terjadinya hiperpigmentasi. Penelitian ini bertujuan untuk uji aktivitas inhibisi terhadap enzim tirosinase dari ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) secara *in vitro*. Pemilihan inhibitor dari bahan alam memiliki tingkat keamanan yang lebih aman daripada sintesis. Ekstrak etanol daun pepaya diperkirakan memiliki aktivitas inhibitor tirosinase karena mengandung senyawa flavonoid. Daun pepaya diekstraksi secara maserasi dengan etanol 70%, hingga diperoleh ekstrak kental. Pengujian dilakukan dengan L-DOPA sebagai substrat, ekstrak etanol daun pepaya dengan konsentrasi 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625 dan 312.5 µg/ml dengan kontrol positif asam kojat lalu diukur serapannya dengan menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 490 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) memiliki aktivitas inhibitor tirosinase dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 12158,8751 µg/ml dan potensi relatif sebesar 6,879 x 10<sup>-3</sup> kali asam kojat.

**Kata kunci :** Inhibitor tirosinase; *Carica papaya*; melanin; asam kojat

### ABSTRACT

Tyrosinase inhibitors used in cosmetics as a deterrent occurrence of hyperpigmentation. This study aimed to test the activity of the enzyme tyrosinase inhibition of the ethanol extract of *Carica papaya* (*Carica papaya* L.) *in vitro*. Election inhibitors from natural materials have security safer than synthetic. The ethanol extract of papaya leaves is estimated to have activity of tyrosinase inhibitor compounds that contain flavonoids. Papaya leaves extracted by maceration in 70% ethanol, to obtain a thick extract. Testing is done with L-DOPA as a substrate, the ethanol extract of papaya leaf with a concentration of 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625 and 312.5 µg / ml with the positive control kojic acid and absorbance was measured using a microplate reader at a wavelength of 490 nm. The results showed that the ethanol extract of papaya leaves (*Carica papaya* L.) have activity of tyrosinase inhibitor with IC<sub>50</sub> value of 12158.8751 µg / ml and the relative potency of 6.879 x 10<sup>-3</sup> times kojic acid.

**Keywords :** Tyrosinase inhibitor; *Carica papaya*; Melanin; Kojic acid

### PENDAHULUAN

Kulit merupakan suatu organ yang berada pada seluruh permukaan luar tubuh manusia. Kulit berperan penting sebagai pelindung dari berbagai macam gangguan dan rangsangan dari luar. Salah satu fungsi utamanya adalah melindungi kulit dari bahaya paparan sinar UV. Paparan sinar UV dalam waktu yang lama dengan frekuensi yang sering dapat menyebabkan gangguan pada kulit. Sinar UV dapat meningkatkan sintesis melanin di kulit dan menyebabkan hiperpigmentasi (Cayce *et al.*, 2004).

Melanin merupakan pigmen yang melindungi kulit dari paparan sinar UV (Erdmann dan Barciszewski, 2010). Akan tetapi kelainan pada produksi melanin pada kulit dapat menyebabkan terjadinya abnormalitas pigmentasi kulit atau hiperpigmentasi serta menimbulkan masalah estetika kulit. Hiperpigmentasi merupakan gangguan pada pigmen kulit yang disebabkan oleh peningkatan proses melanogenesis sehingga menyebabkan penggelapan warna kulit (Cayce *et al.* 2004).

Salah satu cara untuk mencegah atau menghambat pembentukan melanin adalah dengan melakukan penghambatan aktifitas tirosinase (Woolery-Lloyd dan Kammer, 2011). Tirosinase

adalah enzim yang berperan dalam pembentukan pigmen kulit atau dikenal dengan proses melanogenesis. Dalam proses melanogenesis, tirosinase berperan sebagai katalis pada dua reaksi yang berbeda yaitu proses hidroksilasi tirosin menjadi dihidroksi-fenilalanin ( L-DOPA ) dan oksidasi L-DOPA menjadi DOPA kuinon. Tirosinase pada jaringan kulit diaktifasi oleh radiasi sinar UV matahari sehingga mempercepat proses produksi melanin (Fais *et al.* 2009).

Reaksi pencokelatan oleh tirosinase dapat diinhibisi (dihambat) oleh suatu penghambatan reaksi enzimatik berupa ion atau molekul yang disebut inhibitor tirosinase. Beberapa inhibitor tirosinase, diantaranya adalah arbutin, asam kojat, merkuri, dan hidroquinon (You *et al.* 2005).

Beberapa tanaman yang telah dilakukan uji aktivitas inhibitor tirosinase, antara lain kulit batang pohon nangka (Supriyanti, 2009), buah malaka (Hindritiani, 2013), dan buah belimbing wuluh (Meechai *et al.* 2010). Kandungan kimia pada daun pepaya adalah alkaloid, tanin, saponin, flavonoid, protein, lemak, vitamin A, vitamin C, vitamin B dan polifenol. Daun pepaya diperkirakan memiliki aktivitas inhibitor tirosinase karena mengandung vitamin C dan flavonoid. Vitamin C

sebagai pereduksi pembentukan DOPA menjadi o-dopaquinon, sehingga pembentukan dopakrom dan melanin dihambat. Komponen fenol (flavonoid) bersifat sebagai substrat enzim alternatif karena menunjukkan afinitas yang baik dengan enzim, sehingga pembentukan dopakrom dapat dicegah (Chang, 2009). Dengan demikian, komponen daun pepaya diharapkan dapat memberikan ketersediaan bahan untuk mencegah pigmentasi kulit melalui aktivitas inhibitor tirosinase yang dimilikinya.

Berdasarkan uraian sebelumnya, maka akan dilakukan penelitian tentang uji aktivitas inhibisi terhadap enzim tirosinase dari ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) secara *in vitro*. Metode ekstraksi yang digunakan adalah dengan cara maserasi simplisia daun pepaya menggunakan etanol 70%. Pemilihan penyari etanol karena sifatnya relatif aman apabila dilanjutkan untuk pembuatan sediaan oral. Pengujian aktivitas inhibitor tirosinase dari ekstrak etanol daun pepaya menggunakan substrat L-DOPA dan kontrol positif asam kojat, lalu diukur serapannya dengan menggunakan *microplate reader*. Hasil yang akan diperoleh berupa persentase hambatan dan nilai konsentrasi hambatan 50% (IC<sub>50</sub>).

## METODOLOGI

### Alat dan Bahan

#### Alat

Alat-alat yang digunakan, yaitu blender (Philips), pengayak no.40 (ABM), timbangan kasar digital (SCA-301), gelas ukur 100; 10 ml (Pyrex), *beaker glass* 1000; 500; 250; 100 ml (Pyrex), bejana maserasi, batang pengaduk, corong, botol coklat 2500 ml, *vacuum rotary evaporator* (Eyela), *waterbath* (LabTech, Eyela), cawan uap, botol ekstrak, spatula logam, sudip, lemari pendingin, tabung reaksi dan rak, penjepit tabung reaksi, pipet tetes kaca, timbangan analitik (Sartorius, Adam), cawan Petri, oven (Memmert), alat uji kadar air dengan metode *Karl Fischer* (Mettler Toledo), cawan porselen, tanur, desikator, pH meter, labu ukur 10; 5 ml (Pyrex), vial, pipet volume 2,5 ml (Pyrex), *bulp*, mikropipet 10-100 µl (Eppendorf), mikropipet 100-1000 µl (Eppendorf), mikrotip, 96 *well-microtiter plate*, *microplate reader* (Bio-Rad), *ultrasonic*, spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu), dan alat gelas/non gelas lainnya.

#### Bahan

Daun pepaya, etanol 70%, etanol 96%, akuades, asam kojat, kuersetin (Sigma-Aldrich, USA), HCl 2N, NaOH (Merck, Jerman), AlCl<sub>3</sub>, KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck, Jerman), DMSO (Merck, Jerman), enzim tirosinase (Sigma-Aldrich, USA), substrat L-DOPA (Sigma-Aldrich, USA).

#### Prosedur Kerja

##### Pembuatan ekstrak daun pepaya

###### a. Pembuatan ekstrak daun pepaya

Metode pembuatan ekstrak yang digunakan pada penelitian ini adalah dengan cara maserasi. Daun pepaya yang kering dan halus ditimbang sebanyak 500 g, kemudian di maserasi dengan etanol 70% sebanyak 2500 selama 24 jam, kemudian disaring.

###### b. Pembuatan ekstrak kental daun pepaya

Maserat kemudian diuapkan dengan alat penguap yaitu *rotary evaporator* pada suhu 48°C. Penguapan dilanjutkan menggunakan *waterbath* pada suhu 50° C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental yang diperoleh lalu ditimbang.

#### Uji kualitas ekstrak daun pepaya

##### a. Rendemen

Nilai rendamen didapat dengan membagi berat hasil ekstraksi dengan berat awal simplisia. Dari perhitungan rendamen dapat diketahui nilai kesetaraan tiap gram ekstrak kental dengan simplisia.

##### b. Susut pengeringan

Penentuan susut pengeringan menggunakan metode gravimetri. Cawan Petri dipanaskan dalam oven pada suhu 105° ± 2° C selama 30 menit, kemudian ditimbang (A). Sebanyak 2 gram serbuk simplisia dan 1 gram ekstrak kental (B) dimasukkan ke dalam cawan Petri lalu dipanaskan dalam oven pada suhu 105° ± 2° C selama 2 jam atau hingga bobot tetap (C),

$$\text{Kadar susut pengeringan} = \frac{(A+B)-C}{B} \times 100\%$$

#### Uji Aktivitas Inhibitor Tirosinase

##### a. Pembuatan Larutan Asam Kojat

Sebanyak 5 mg serbuk asam kojat ditimbang seksama, dilarutkan dengan dapar fosfat 0,05 M pH 6,5 dan dicukupkan hingga volume 10 ml (500 µg/ml) dalam labu ukur. Larutan asam kojat 500 µg/ml diambil sebanyak 5 ml menggunakan pipet volume, dilarutkan dengan dapar fosfat 0,05 M pH 6,5 hingga volume 10 ml (250 µg/ml) dalam labu ukur. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh variasi konsentrasi larutan asam kojat 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 µg/ml pada pengujian untuk mendapatkan nilai IC<sub>50</sub>. Variasi konsentrasi tersebut diperoleh melalui orientasi konsentrasi.

##### b. Pengujian Asam Kojat

Sebanyak 70 µl larutan asam kojat dari berbagai konsentrasi, yaitu 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; dan 7,8125 µg/ml dimasukkan ke dalam 96 *well-microtiter plate*. Lalu ditambahkan 30 µl larutan enzim tirosinase 333 Unit/ml dan 110 µl larutan substrat L-DOPA 0,002 M. Campuran diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit, kemudian serapan diukur pada panjang gelombang 490 nm menggunakan *microplate reader*. Pengujian juga menggunakan kontrol

Bahan	Volume (µl)			
	KS	S	KB	B
Ekstrak Etanol Daun Pepaya	70	70	-	-
Dapar Fosfat	140	140	70	70
Enzim Tirosinase	KS	S 30	KB-	B 30
Asam Kojat	70	70	-	-
Dapar Fosfat	140	-	210	110
KS=Kontrol Ekstrak Etanol Daun Pepaya,	30			30
S=Ekstrak Etanol Daun Pepaya,	KB=Kontrol			110
B=Blangko				110

asam kojat, kontrol blangko, dan blangko (Batubara dkk. 2010).

**Tabel 1.** Prosedur Uji Aktivitas Inhibisi Terhadap Enzim Tirosinase dari Asam Kojat

KS= Kontrol Asam Kojat, S=Asam Kojat, KB=Kontrol Blangko, B=Blangko

- Pembuatan Larutan Ekstrak Etanol Daun Pepaya**  
Sebanyak 200 mg ekstrak kental daun pepaya ditimbang seksama dan dilarutkan dalam 1 ml DMSO, ditambahkan dapar fosfat 0,05 M pH 6,5 hingga diperoleh volume 10 ml (20.000 µg/ml) dalam labu ukur. Selanjutnya dilakukan pengenceran hingga diperoleh variasi konsentrasi larutan ekstrak 10000, 5000, 2500, 1250, 625 dan 312.5 µg/ml pada pengujian untuk mendapatkan nilai IC<sub>50</sub>. Variasi konsentrasi tersebut diperoleh melalui orientasi konsentrasi.
- Pengujian Larutan Ekstrak Etanol Daun Pepaya**  
Sebanyak 70 µl larutan sampel dari berbagai konsentrasi yaitu 20000, 10000, 5000, 2500, 1250, 625 dan 312.5 µg/ml dimasukkan ke dalam 96 well-microplate, ditambahkan 70 µl larutan tirosinase 333 Unit/ml. Plate dikocok perlahan. Kemudian ditambahkan 110 µl 0,002 M Larutan L-DOPA. Campuran diinkubasi pada suhu 37° C selama 30 menit. Serapan diukur pada panjang gelombang 490 nm menggunakan microplate reader (Batubara dkk. 2010).

**Tabel 2.** Prosedur Uji Aktivitas Inhibisi Terhadap Enzim Tirosinase dari Ekstrak Etanol Daun Pepaya

$$\text{Persentase inhibisi} = \frac{(A-B)}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Absorbansi blangko dikurangi absorbansi kontrol blangko.

B = Absorbansi sampel dikurangi absorbansi kontrol sampel

Setelah diperoleh persentase inhibisi dari masing-masing konsentrasi, lalu dihitung konsentrasi sampel (µg/ml) dalam ln sebagai sumbu x terhadap persentase (%) inhibisi sebagai sumbu y, sehingga diperoleh nilai a, b, dan R<sup>2</sup>. Nilai a dan b dimasukkan ke dalam persamaan matematika  $y = a + bx$ , kemudian nilai IC<sub>50</sub> diperoleh dari x setelah mengganti y dengan angka 50. Aktivitas potensi relatif ekstrak dihitung dengan membagi nilai IC<sub>50</sub> asam kojat dengan nilai IC<sub>50</sub> ekstrak etanol daun pepaya yang diuji pada waktu yang sama.

#### Analisis data

Menurut metode Chang *et al.* (2005) dalam Nawawi (2012), persentase inhibisi dihitung dengan cara membandingkan absorbansi larutan blangko yang telah dikurangi absorbansi sampel terhadap absorbansi ekstrak

## HASIL DAN PEMBAHASAN

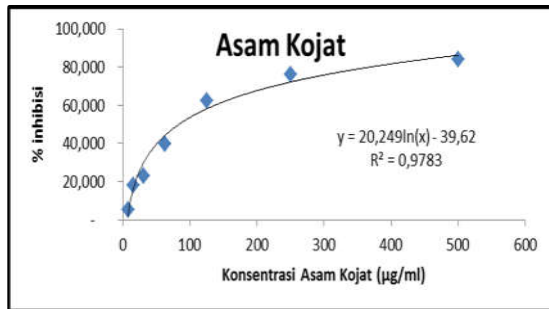
### Hasil uji kualitas ekstrak daun pepaya

Ekstraksi dilakukan terhadap 500 gram serbuk simplisia daun pepaya diperoleh ekstrak kental sebesar 67,9 gram dan rendemen yang dihasilkan sebesar 13,58 % serta ). Pada serbuk simplisia didapat kadar susut pengeringan sebesar 5,12% dan pada ekstrak sebesar 21,20%. Hasil uji organoleptik ekstrak berupa ekstrak kental, berwarna kecoklatan, berbau khas dan memiliki rasa pahit.

### Uji Penghambatan Aktivitas Tirosinase pada Asam Kojat sebagai Kontrol Positif

**Tabel 3.** Persentase Penghambatan Aktivitas Tirosinase oleh Asam Kojat

Konsentrasi sampel (µg/ml)	Persen Inhibisi (%)	IC <sub>50</sub> (µg/ml)
500	84,074	83,652
250	76,420	
125	62,346	
62,5	39,877	
31,25	22,963	
15,63	17,901	
7,8	5,185	



**Gambar 1.** Kurva Penghambatan Aktivitas Tirosinase oleh Asam Kojat

Pengujian asam kojat sebagai kontrol positif dilakukan untuk memastikan bahwa metode yang dipakai adalah benar dengan cara membandingkan nilai IC<sub>50</sub> yang didapat dengan nilai IC<sub>50</sub> dari hasil studi literatur. IC<sub>50</sub> adalah konsentrasi suatu inhibitor yang dibutuhkan untuk menghambat setengah dari aktivitas enzim dalam kondisi teruji (Chang, 2009). Jika nilai IC<sub>50</sub> yang didapat masuk dalam rentang nilai IC<sub>50</sub> hasil studi literatur maka dapat disimpulkan bahwa metode yang dilakukan dapat digunakan. Asam kojat dipilih sebagai kontrol positif karena asam kojat merupakan senyawa yang digunakan secara luas sebagai pemutih sampai saat ini (Moon et al, 2010). Selain itu, asam kojat memiliki kestabilan yang paling besar dalam produk kosmetik (Miyazawa dan Tamura, 2007). Pada pengujian penghambatan tirosinase ini, terdapat empat jenis larutan yang diuji, yaitu larutan kontrol positif dalam berbagai konsentrasi untuk menghitung nilai IC<sub>50</sub>, blanko sampel, kontrol sampel, dan kontrol blanko.

Larutan blanko dibuat sebagai pembanding data absorbansi antara larutan yang diberi inhibitor dengan yang tidak diberi inhibitor enzim tirosinase. Larutan kontrol sampel dan kontrol blanko digunakan sebagai faktor koreksi. Metode uji penghambatan tirosinase mengacu pada penelitian Batubara dkk. (2010). Penghambatan ditentukan dengan mengukur absorbansi pembentukan dopakrom menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 490 nm. Pengujian sampel asam kojat dilakukan pada konsentrasi 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 15.63, 7.8 µg/ml.

Dalam beberapa penelitian yang dilakukan untuk menemukan senyawa baru inhibitor tirosinase, asam kojat sering digunakan sebagai kontrol positif pada waktu yang sama untuk dibandingkan kekuatan inhibisinya (Chang 2012). Berdasarkan hasil pengujian didapat IC<sub>50</sub> asam kojat sebesar 83,65 µg/ml (Tabel 5 dan Gambar 2). Asam kojat menunjukkan penghambatan secara kompetitif dengan kemampuannya membentuk kelat logam tembaga pada situs aktif enzim tirosinase (Chang 2009). Semakin tinggi konsentrasi asam kojat yang

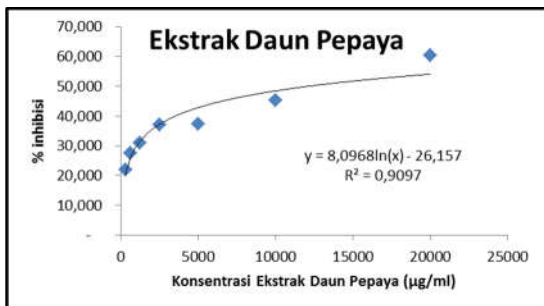
digunakan, maka semakin tinggi kemampuan inhibisinya. Kemampuan inhibisi yang tinggi ditandai dengan penurunan pembentukan dopakrom dan penurunan intensitas warna yang terbentuk.

#### Uji Penghambatan Aktivitas Tirosinase Sampel Ekstrak Etanol Daun Pepaya

Daun pepaya dapat berperan sebagai inhibitor tirosinase karena adanya kandungan senyawa flavonoid. Mekanisme penghambatan yang terjadi adalah penghambatan kompetitif untuk oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase dan bagian 3-hidroksi-4-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 CuA dan CuB 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.

Nilai IC<sub>50</sub> dibawah 100 µg/ml menunjukkan potensi penghambatan aktivitas tirosinase yang paling kuat, nilai IC<sub>50</sub> 100-450 µg/ml menunjukkan potensi penghambatan yang kurang kuat, dan 450-700 µg/ml menunjukkan potensi penghambatan aktivitas tirosinase sangat lemah (Batubara et al., 2010). Bisa disimpulkan dari data yang diperoleh daun pepaya memiliki potensi sebagai penghambatan aktivitas tirosinase, walaupun berpotensi sangat lemah sebagai inhibitor tirosinase dibandingkan dengan nilai IC<sub>50</sub> asam kojat dengan potensi relatif sebesar  $6,879 \times 10^{-3}$  kali. Hal ini sebanding dengan hasil pengujian kandungan total flavonoid ekstrak etanol daun pepaya yang sangat kecil yaitu hanya 8,236 mg. Keamanan adalah pertimbangan utama dalam pemilihan senyawa sebagai inhibitor tirosinase. Penggunaan asam kojat mulai dibatasi karena menyebabkan iritasi kulit dan kemampuannya masuk ke aliran darah sistemik, sehingga dapat menimbulkan gangguan pada kelenjar tiroid (Aytemir dan Karakaya 2012). Oleh karena itu, daun pepaya (*Carica papaya L.*) dengan kandungan senyawa alami yaitu flavonoid masih memiliki peluang untuk dikembangkan sebagai inhibitor tirosinase.

**Tabel 4.** Persentase Penghambatan Aktivitas Tirosinase Ekstrak Etanol Daun Pepaya



Gambar 3. Kurva Penghambatan

## SIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) mempunyai aktivitas inhibitor tirosinase dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 12.158,87  $\mu\text{g/ml}$ . Kemampuan aktivitas daun pepaya untuk menghambat enzim tirosinase memiliki potensi yang sangat lemah yaitu dengan nilai potensi relatif sebesar  $6,879 \times 10^{-3}$  kali asam kojat.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan Terima Kasih disampaikan kepada Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi yang telah memberikan support dana melalui Hibah Penelitian Dosen Pemula dan semua civitas akademika Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta atas bantuannya dalam pelaksanaan proyek ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- Batubara I, Darusman LK, 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.
- Borovansky, J. Dan Riley, P.A. 2011. *Melanins and Melanosomes: Biosynthesis, Biogenesis, Physiological, and Pathological Functions*. Weinheim: Wiley-Blavkwell, 1-407.
- Cayce K A, McMichael A J, Feldman S R., 2004, Hyperpigmentation: an Overview of the Common Afflictions. *Dermatol Nursing*, 16 (5): 400-416.

Konsentrasi sampel ( $\mu\text{g/ml}$ )	Persen Inhibisi (%)	$IC_{50}$ ( $\mu\text{g/ml}$ )
20.000	60,468	12158,87
10.000	45,197	
5.000	37,315	
2.500	36,946	
1.250	30,911	
625	27,463	
312,5	22,044	

- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. 2002. Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10(3): 178-182.
- Chang TS. 2009. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences* 10: 2440-2475.
- Erdmann, V.A., dan Barciszewski, J., 2010, RNA Technologies and Their Applications. Heidelberg: Springer-Verlag, 227-254.
- Fais, A., Corda, M., Era, B., Fadda, M.B., Quezada, E., Santana, L., Picciau, C., et al. 2009. Tyrosinase Inhibitor Activity of Coumarin-Resveratrol Hybrid. *Molecules*, 2514-2520.
- Hindritiani R, Dhianawaty D, Sujatno M, Sutedja E, dan Setiawan. 2013. Penurunan Aktivitas Tirosinase dan Jumlah Melanin oleh Fraksi Etil Asetat Buah Malaka (*Phyllanthus emblica*) pada Mouse Melanoma B16 Cell-Line. *Bandung Medical Journal*. Vol 45: 118-124.
- Meechai I, Dej-adisai S. 2010. Screening of Anti-Tyrosinase Activity from Thai Medicinal Plants. *Seminar Natural Medicine Research for the Next Decade: New Challenges and Future Collaboration*. Faculty of Pharmaceutical Sciences Chulalongkorn University, Thailand: 199-121.
- Miyazawa, M. and Tamura, N. 2007. Inhibitory Compound of Tyrosinase Activity from The Sprout of Polygonum Hydropiper L. (benitade). *Biology Pharmaceutical bulletin*. 30(3), 595-597.
- Supriyanti FMT. 2009. Pemanfaatan Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Kulit Batang *Artocarpus sp.* Sebagai Inhibitor Tirosinase pada Pigmentasi Kulit. *Jurnal Pengajaran MIPA*. Vol. 13: 105-115.
- Woolery-Lloyd, H. dan Kammer, J.N. 2011. Treatment of hyperpigmentation. In *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 171-175.
- You J., Jae KN, Ji HL, Hae YC. 2005. 4,4-Dihydroxybiphenyl as a New Potent Tyrosinase Inhibitor. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(2), 323-327.