

STUDI INHIBISI EKSTRAK METANOL KULIT BATANG *Artocarpus* Sp DALAM MENCEGAH HIPERPIGMENTASI KULIT

Florentina Maria Titin Supriyanti ¹⁾, Zackiyah ²⁾ Wisda Seviana Putri ³⁾

^{1,2,3)} Jurusan Pendidikan Kimia, FPMIPA, UPI

Jalan Dr. Setiabudhi 229 Bandung 40154 email : destyandy@gmail.com

Abstrak

Proses penuaan pada manusia atau sengatan matahari dapat menyebabkan timbulnya noda coklat pada kulit manusia. Noda coklat pada kulit ditimbulkan oleh pembentukan melanin yang berlebihan. Melanin merupakan pigmen warna coklat hasil reaksi L-tirosin dengan enzim tirosinase membentuk dopakuinon yang dapat dipolimerisasi langsung menjadi melanin. Dewasa ini banyak beredar krim pemutih kulit yang belum terjamin keamanannya, karena mengandung bahan kimia yang berbahaya bagi tubuh manusia. Melalui penelitian ini akan dipelajari mengenai eksplorasi bahan alam yang dapat mencegah proses hiperpigmentasi kulit, melalui pencarian senyawa bioaktif yang dapat berperan menghambat reaksi tirosin-tirosinase dari tanaman *Artocarpus* Sp. Metode yang dilakukan adalah ekstraksi kulit batang *Artocarpus* Sp. menggunakan pelarut metanol, dilanjutkan studi inhibisi reaksi tirosin-tirosinase dengan teknik spektroskopi ultra violet (UV). Hasil yang didapat dari penelitian ini adalah ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllus* memiliki daya inhihi terbaik dibandingkan 2 spesies lainnya dengan IC₅₀ = 103,29 µg/mL.

Kata kunci : *Artocarpus* Sp., inhibisi, hiperpigmentasi

PENDAHULUAN

Proses penuaan pada manusia atau sengatan matahari dapat menyebabkan timbulnya noda coklat pada kulit manusia. Noda coklat pada kulit ditimbulkan oleh pembentukan melanin yang berlebihan. Melanin merupakan pigmen warna coklat yang dapat melindungi jaringan kulit dari penghamburan sinar ultra violet. Jika jumlah melanin terbentuk berlebihan akan dapat menimbulkan hiperpigmentasi. Pada manusia proses pembentukan melanin dapat terjadi dengan bantuan biokatalis (enzim) dan sinar UV yang terdapat dalam matahari. Biokatalis yang berperan dalam reaksi pencoklatan ini adalah tirosinase, yang ditemukan pada hewan, tumbuhan dan manusia. Menurut Chang dkk. (2005), enzim ini mengkatalisis dua reaksi utama dalam biosintesis melanin, yaitu hidroksilasi L-tirosin menjadi L-dopa dan oksidasi L-dopa menjadi dopakuinon. Senyawa dopakuinon mempunyai kereaktifan yang sangat tinggi dan dapat dipolimerisasi secara spontan membentuk melanin.

Adanya inhibitor tirosinase akan menghambat reaksi pencoklatan atau pembentukan melanin. Berbagai inhibitor tirosinase telah banyak ditemukan dalam bahan kosmetik sebagai pencegah hiperpigmentasi, diantaranya adalah asam askorbat, arbutin, *cojic acid*, merkuri dan hidrokuinon. Dari beberapa senyawa tersebut, *cojic acid* memiliki efek inhibisi dan kestabilan paling besar dalam produk kosmetik, namun menurut Miyazawa dan Tamura (2006) *cojic acid* bersifat karsinogenik.

Selain *cojic acid*, keberadaan senyawa merkuri dan hidrokuinon dalam kosmetik juga berbahaya, karena beberapa penelitian

menunjukkan bahwa merkuri bersifat toksik yaitu membahayakan kulit, dan dapat menyebabkan kulit berwarna coklat keabuan. Begitu pula senyawa hidrokuinon terbukti bersifat karsinogenik, sehingga berbahaya jika digunakan sebagai bahan kosmetik. Berdasarkan hal itu maka sangat perlu dihasilkan bahan pemutih kulit lain yang bersifat alami. Bahan tersebut diduga terdapat pada kulit batang *A. heterophyllus* yang banyak ditemukan di Indonesia. Menurut Shimizu, dkk. (1998) senyawa isoartocarpesin dari ekstrak inti kayu *Artocarpus incisus* memiliki aktifitas inhibisi yang sama kuat dengan *cojic acid*. Sementara itu penelitian yang dilakukan oleh Arung, dkk.(2003) menunjukkan bahwa senyawa bioaktif (artocarpanon) tanaman *A. heterophyllus* berpotensi sebagai inhibitor tirosinase dalam reaksi tirosin-tirosinase pada proses pencoklatan kulit. Mengingat di Indonesia tanaman *Artocarpus* ditemukan dalam berbagai spesies, seperti *A. communis* (kluwih), *A. heterophyllus* (nangka) dan *A. altilis* (sukun), maka pada penelitian ini akan diteliti mengenai jenis spesies *Artocarpus* apakah yang mempunyai aktivitas inhibisi tirosinase paling baik dan bagaimanakah aktifitas inhibisi ekstrak *Artocarpus* terpilih terhadap laju reaksi tirosin-tirosinase?.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini terdiri dari tiga tahapan, yaitu:

1. *Preparasi sampel dan identifikasi golongan dari ekstrak Artocarpus.*
- a. Tahap Preparasi, meliputi pengeringan dan penggilingan kulit batang *Artocarpus heterophyllus*, *Artocarpus altilis* dan *Artocarpus communis*.

- b. Tahap Ekstraksi, meliputi maserasi serbuk kulit batang ketiga jenis *Artocarpus* menggunakan metanol, kemudian diuapkan secara vakum hingga didapat ekstrak metanol.
- c. Identifikasi kandungan flavonoid.
Ekstrak kental hasil maserasi dilarutkan dalam 1 mL metanol, kemudian ditambahkan 1 gram serbuk Magnesium dan 10 mL HCl pekat. Jika larutan menimbulkan warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

2. Penentuan jenis *Artocarpus* yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase.

- a. Tahap Pengujian, meliputi uji pendahuluan (tirosinase dengan L-tirosin) dan uji inhibisi tirosinase dengan penambahan ekstrak metanol kulit batang ketiga jenis *Artocarpus*.
- b. Tahap pengukuran, meliputi pengukuran absorbansi larutan uji dengan menggunakan alat Spektrofotometer VIS (475 nm). Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi pembentukan produk (dopakrom). Dari pengukuran absorbansi ini maka dapat dihitung persentase aktivitas inhibisi tirosinase berdasarkan Chang dkk. (2005) dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Inhibisi tirosinase} = [(A-B)/A] \times 100$$

A adalah Absorbansi tanpa penambahan inhibitor (larutan buffer fosfat 0,1 M, larutan L-tirosin, dimetil sulfoksida (DMSO), larutan tirosinase) dan B adalah Absorbansi dengan penambahan inhibitor (larutan buffer fosfat 0,1 M, larutan L-tirosin, larutan sampel dan larutan tirosinase).

- c. Tahap Uji Aktivitas Inhibisi Tirosinase
Uji inhibisi tirosinase dilakukan berdasarkan metode Miyazawa dan Tamura (2006) dengan modifikasi tertentu. Sebanyak 660 μL buffer fosfat 0,1 M (pH 6,5), 200 μL larutan L-tirosin 0,03 %, 40 μL larutan sampel (konsentrasi 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$) dan 100 μL larutan tirosinase (524,4 U/mL)

dimasukkan dalam tabung tes (*ependorf microcentrifuge tube*), kemudian diinkubasi pada 37°C selama 1 jam. Aktivitas inhibisi tirosinase ditentukan dengan mengukur absorbansi larutan uji dengan Spektrofotometer VIS pada 475 nm. Langkah-langkah di atas dilakukan secara duplo.

3. Penentuan Aktivitas Inhibisi Melalui Uji IC_{50} .

IC_{50} merupakan banyaknya konsentrasi sampel yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % aktivitas tirosin-tirosinase. Penentuan IC_{50} dilakukan dengan memvariasikan konsentrasi inhibitor pada uji % aktivitas inhibisi. Adapun variasi konsentrasi sampelnya adalah 75 $\mu\text{g}/\text{mL}$; 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dan 450 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bagian ini akan dibahas mengenai hasil ekstraksi senyawa bioaktif *Artocarpus* dalam pelarut metanol dan uji inhibisi untuk menentukan nilai IC_{50} .

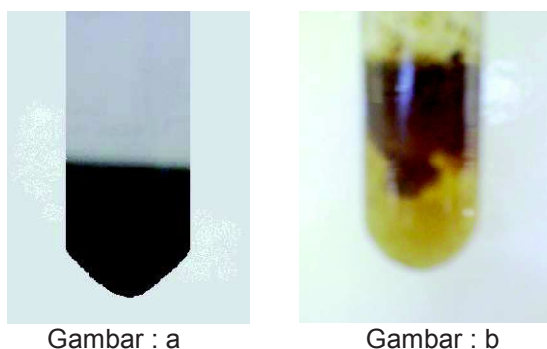
1. Ekstraksi Senyawa Bioaktif

Penelitian diawali oleh ekstraksi serbuk kulit batang berbagai spesies *Artocarpus* menggunakan pelarut metanol, dengan hasil seperti yang terdapat pada Tabel 1. Dari data tersebut terlihat bahwa ekstraksi dengan pelarut metanol menyebabkan lebih banyak senyawa *A. communis* yang terekstrak dibandingkan *A. heterophyllus* dan *A. altilis*. Pada penelitian ini digunakan pelarut metanol yang berfungsi untuk mengekstrak senyawa-senyawa bioaktif yang bersifat polar, seperti flavonoid. Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa senyawa yang menjadi inhibitor tirosinase dari beberapa tanaman *Artocarpus* termasuk golongan senyawa flavonoid (Erwin, 2006). Berdasarkan hal tersebut maka senyawa flavonoid inilah yang diduga memiliki efek depigmentasi. Telah dilaporkan beberapa senyawa bioaktif inhibitor tirosinase dari bahan alam diantaranya: *arbutin*, *ellagic acid*, *chloroformin*, *cojic acid*, *phytic acid*, *artocarpanone*, dan *oxyreveratrol* dimana *artocarpanone* dari getah kayu tumbuhan *Artocarpus heterophyllus* (nangka)

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Kulit Batang *A. heterophyllus*, *A. altilis*, *A. Communis*

Sampel	Berat serbuk kulit batang (g)	Berat ekstrak metanol kering (g)	Persentase (%)	Warna ekstrak metanol kering
<i>A. heterophyllus</i>	1002,6	16,6	1,7	Coklat
<i>A. altilis</i>	1002,5	35,8	3,6	Hitam kecoklatan
<i>A. communis</i>	981,4	47,5	4,8	Hitam

mempunyai potensi inhibitor tirosinase lebih besar dibandingkan *arbutin*, tetapi lebih lemah dari *cojic acid* (Arung, dkk.,2006). Menurut Kim, 2004 bahwa beberapa senyawa fenol dikenal berperan sebagai agen depigmentasi, karena struktur kimia senyawa fenol memiliki kemiripan dengan tirosin yang merupakan substrat dari reaksi tirosin-tirosinase. Selanjutnya untuk menguji keberadaan kandungan flavonoid didalam kulit batang *Artocarpus* dilakukan uji identifikasi kandungan flavonoid. Hasil menunjukkan terjadinya perubahan warna dari coklat pekat menjadi kuning seperti yang ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1: Hasil identifikasi kandungan flavonoid (a) sebelum reaksi dan (b) sesudah reaksi

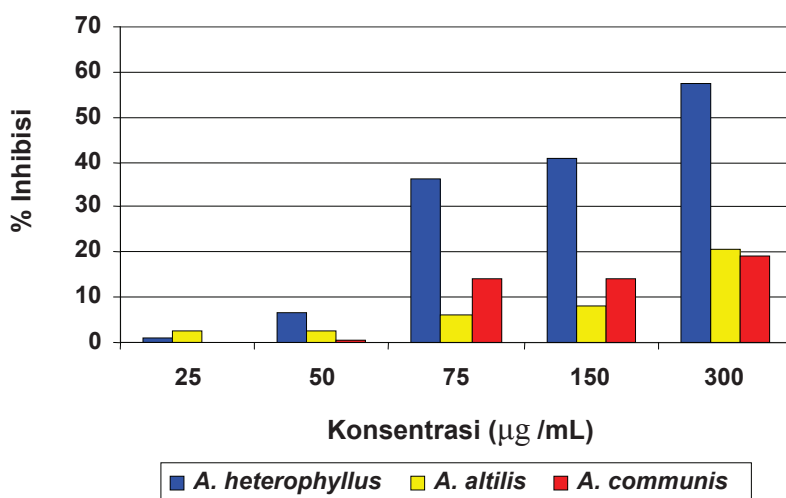
Hasil reaksi serbuk Mg dengan HCl akan menghasilkan ion magnesium dan gas hidrogen. Ion magnesium diduga akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus* membentuk kompleks berwarna kuning. Hal tersebut sesuai dengan pendapat Marliana et al., 2005 yang menyatakan bahwa

apabila dalam identifikasi flavonoid dihasilkan warna merah sampai jingga, maka senyawa yang memberikan warna tersebut adalah flavon. Berdasarkan hal tersebut dapat disimpulkan bahwa dalam ekstrak metanol *Artocarpus* terkandung senyawa golongan flavonoid.

Hubungan daya inhibisi ekstrak metanol ketiga kulit batang *Artocarpus* (*A. heterophyllus*, *A. altilis*, *A. communis*) dengan variasi konsentrasi ekstrak metanol ketiga kulit batang *Artocarpus* ditunjukkan pada Gambar 2. Berdasarkan Gambar 2, tampak bahwa dari ekstrak metanol ketiga spesies kulit batang *Artocarpus* memiliki daya inhibisi tirosinase yang berbeda dan semakin meningkat dengan bertambahnya konsentrasi. Hal ini membuktikan adanya senyawa bioaktif dalam ekstrak metanol ketiga kulit batang *Artocarpus* yang dapat berperan sebagai inhibitor tirosinase. Dengan meningkatnya persentase (%) inhibisi menunjukkan bahwa pembentukan produk (dopakuinon) mengalami penurunan. Artinya, tirosinase terhambat aktivitasnya untuk menghasilkan produk (dopakuinon), sementara itu dopakuinon akan dapat berpolimerisasi membentuk melanin. Gambar 3 menunjukkan reaksi pembentukan melanin yang dikemukakan oleh Jacques.

2. Penentuan jenis *Artocarpus* yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase.

Uji inhibisi tirosinase dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya daya inhibisi senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak metanol dari ketiga kulit batang spesies *Artocarpus*, seperti yang terlihat pada Tabel 2.



Gambar 2. Inhibisi ekstrak metanol kulit batang *A. heterophyllus* (nangka), *A. altilis* (sukun) dan *A. communis* (kluwih) pada konsentrasi 25, 50, 75, 150 dan 300 µg/mL.

Tabel 2. Persentase inhibisi ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus* terhadap tirosinase

Konsentrasi Sampel ($\mu\text{g/mL}$)	% Inhibisi dengan Penambahan Sampel		
	<i>A. heterophyllum</i>	<i>A. altilis</i>	<i>A. communis</i>
25	0,76	2,56	0
50	6,41	2,65	0,32
75	36,14	6,09	14,23
150	40,96	7,87	14,23
300	57,35	20,47	19,22

Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa untuk Pada konsentrasi *A. heterophyllum* (nangka) dan *A. altilis* (sukun) semakin besar konsentrasi sampel ditambahkan maka daya inhibisinya semakin besar, sementara itu untuk *A. communis* (kluwih) pada konsentrasi 75 $\mu\text{g/mL}$ dan 150 $\mu\text{g/mL}$ memiliki daya inhibisi yang sama. Pada konsentrasi sampel yang sama, ketiga sampel memperlihatkan daya inhibisi yang berbeda-beda. Dari kelima variasi konsentrasi sampel yang diuji (25, 50, 75, 150 dan 300 $\mu\text{g/mL}$) memperlihatkan bahwa sampel kulit batang *A. heterophyllum* memiliki daya inhibisi paling kuat dibandingkan dua sampel lainnya (kulit batang *A. altilis* dan *A. communis*). Perbedaan daya inhibisi ini diduga karena adanya perbedaan jenis senyawa bioaktif yang terkandung atau jumlah senyawa bioaktif yang berfungsi sebagai inhibitor tirosinase yang dapat terekstrak oleh metanol.

Dilihat dari kandungan flavonoid, ketiga kulit batang *Artocarpus* (*A. heterophyllum*, *A. altilis* dan *A. communis*) mengandung jenis senyawa flavonoid yang berbeda-beda, maka diduga bahwa perbedaan daya inhibisi ketiga kulit batang *Artocarpus* ini disebabkan oleh perbedaan jenis senyawa flavonoid yang terkandung dalam ketiga kulit batang *Artocarpus* tersebut.

Menurut Ohguchi dkk, 2003, substituen hidroksi (OH) mempunyai peran penting dalam senyawa yang berperan sebagai inhibitor tirosinase. Sementara itu senyawa fenolik khususnya flavonoid merupakan senyawa yang mengandung substituen OH dengan jenis yang sangat banyak. Hal tersebut yang menyebabkan daya inhibisi ekstrak *Artocarpus* berbeda-beda. Ekstrak metanol ketiga spesies kulit batang *Artocarpus* memiliki daya inhibisi yang berbeda-beda dapat disebabkan karena jenis senyawa fenoliknya yang berbeda yang disebabkan oleh substituen OH yang berbeda posisi.

Inhibisi pada reaksi yang menggunakan biokatalis dapat terjadi apabila penggabungan substrat pada bagian aktif enzim mengalami hambatan dengan adanya penambahan inhibitor. Hambatan terhadap aktivitas tirosinase dalam reaksi tirosin-tirosinase mempunyai arti penting karena dapat menghambat pembentukan melanin (Gambar 3).

Setelah diketahui bahwa *Artocarpus heterophyllum* memiliki daya inhibisi terbaik dibandingkan kedua spesies lainnya, selanjutnya ditentukan nilai IC_{50} nya.

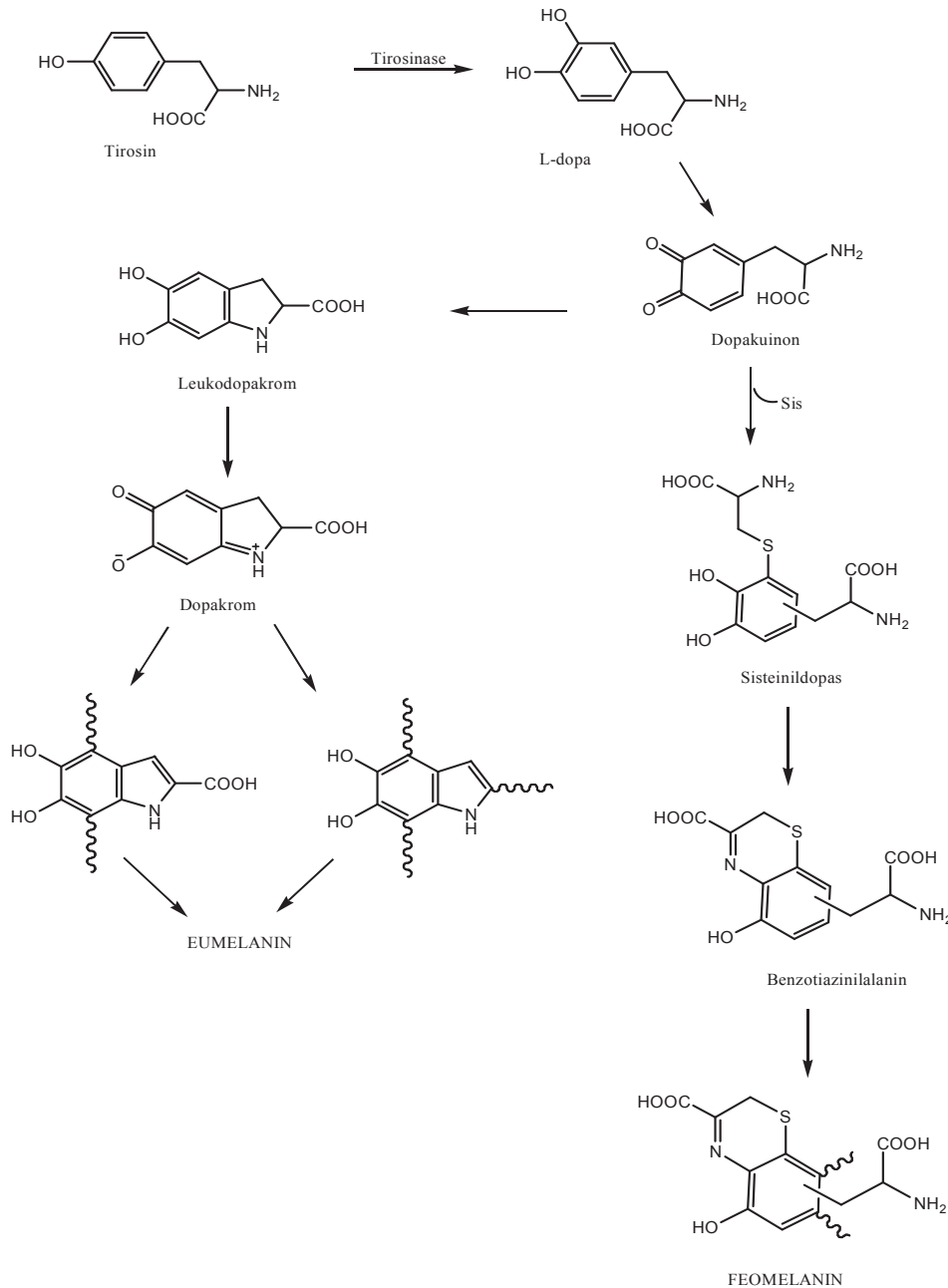
IC_{50} merupakan konsentrasi larutan inhibitor yang dibutuhkan untuk menghambat 50 % aktifitas tirosin-tirosinase. Untuk menentukan nilai IC_{50} perlu dilakukan uji inhibisi seperti yang ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3 : Aktivitas inhibisi ekstrak metanol kulit batang *A. Heterophyllum* pada penentuan IC_{50} .

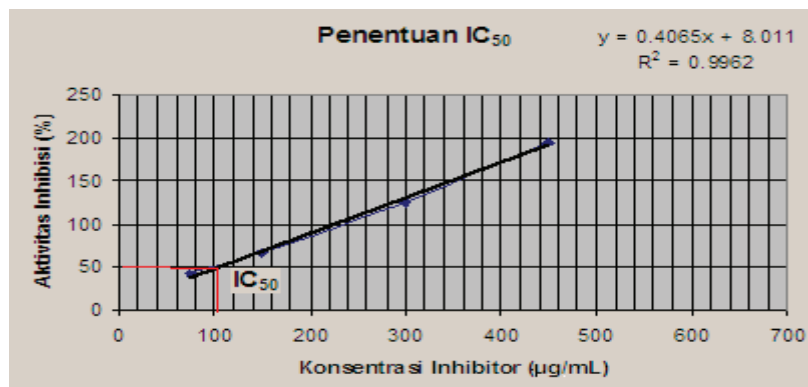
Konsentrasi Inhibitor $\mu\text{g/mL}$	% Inhibisi
0	0
75	42,045
150	67,044
300	125,001

Pada konsentrasi inhibitor 75 $\mu\text{g/mL}$ persentase inhibisi adalah 42,045 yang berarti bahwa pada konsentrasi inhibitor 75 $\mu\text{g/mL}$ inhibitor akan menghambat reaksi tirosin-tirosinase sebanyak 42,045% , sedang jika konsentrasi inhibitor dinaikkan hingga 150 $\mu\text{g/mL}$ ternyata persen inhibisinya menjadi 67,044%. Maka untuk menentukan nilai IC_{50} perlu dibuat kurva hubungan antara konsentrasi inhibitor dan daya inhibisi seperti yang ditunjukkan pada gambar 4. Daya inhibisi meningkat jika konsentrasi inhibitor ditingkatkan, seperti yang terlihat pada konsentrasi inhibitor 300 $\mu\text{g/mL}$ dengan % inhibisi 125,001%. Adanya inhibitor dalam suatu reaksi akan menghambat reaksi antara substrat dengan enzim, dengan arti kata bahwa pembentukkan kompleks ES (Enzim-substrat) terganggu sehingga produk dalam hal ini melanin tidak terbentuk. Untuk menentukan nilai IC_{50} maka dibuatlah kurva hubungan konsentrasi inhibitor dengan aktivitas inhibisi seperti yang terdapat pada Gambar 4.

Berdasarkan kurva yang terdapat pada gambar 4, didapat bahwa nilai IC_{50} terjadi pada konsentrasi inhibitor sebesar 103,29 $\mu\text{g/mL}$. Menurut Kim, dkk., 2004, nilai IC_{50} penting diketahui untuk menentukan berapa besar potensi inhibitor dalam menginhibisi reaksi enzimatik. Nilai IC_{50} sebesar 103,29 $\mu\text{g/mL}$ masih cukup besar, hal tersebut terjadi



Gambar 3. Biosintesis melanin
(Prota dkk. (1988) di dalam Jacques (tanpa tahun))



Gambar 4: Kurva hubungan antara konsentrasi inhibitor (Ekstrak Metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllus*) dengan aktivitas enzim

karena inhibitor masih merupakan ekstrak kasar dari pelarut metanol, maka perlu lebih lanjut dilakukan penelitian untuk mencari pelarut terbaik yang dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa bioaktif yang dapat berperan sebagai inhibitor tirosinase. Dengan ditemukannya pelarut yang cocok untuk mengekstraksi senyawa bioaktif, diharapkan nilai IC_{50} menjadi lebih kecil (rendah) yang berarti bahwa aktivitas inhibisinya tinggi. Keefektifan senyawa bioaktif ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus heterophyllus* masih perlu diuji secara *in vivo* dengan menggunakan sel kulit misalnya pada melanoma sel B-16. Pada bagian sel melanoma inilah melanin diproduksi sehingga pengamatan inhibisi dapat terlihat lebih jelas dan dapat digunakan sebagai monitoring awal dengan cepat dan sederhana (Arung, dkk,2006).

Secara umum reaksi enzimatik dapat dituliskan sebagai berikut:



Keterangan:

E = Enzim S = Substrat
P = Produk [ES] = kompleks enzim-substrat

Reaksi enzimatik yang terjadi karena kontak enzim dan substrat dalam membentuk kompleks enzim-substrat (ES) dapat dihambat oleh adanya molekul atau ion yang dinamakan inhibitor. Secara umum, ada dua jenis inhibitor enzim yaitu inhibitor dapat balik (*reversible*) dan inhibitor tidak dapat balik (*irreversible*). Inhibitor tidak dapat balik adalah inhibitor yang dapat merusak molekul enzim dengan cara mengadakan ikatan kovalen antara residu asam amino bagian aktif enzim dengan inhibitor, dan menyebabkan enzim tidak aktif. Sebaliknya, pada inhibitor dapat balik tidak terjadi ikatan kovalen antara enzim dengan inhibitor, dan tidak menyebabkan kerusakan enzim. Ada tiga kelompok inhibitor dapat balik, yaitu inhibitor bersaing (*competitive inhibitor*), inhibitor tidak bersaing (*noncompetitive inhibitor*), dan inhibitor bukan bersaing (*uncompetitive inhibitor*).

Inhibitor bersaing mempunyai struktur molekul yang mirip dengan substrat. Oleh karena itu, terjadi kompetisi antara inhibitor dengan substrat untuk masuk ke dalam pusat aktif enzim. Pengaruh inhibitor ini dapat dikurangi dengan jalan menaikkan konsentrasi substrat. Pada inhibitor yang tidak bersaing, inhibitor tidak bergabung dengan enzim bebas melainkan dengan kompleks enzim-substrat. Pengaruh inhibitor ini tidak dapat dikurangi dengan menaikkan kadar substrat.

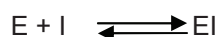
Pada inhibitor bukan bersaing, inhibitor dapat bergabung dengan kompleks enzim-substrat pada sisi di luar bagian aktifnya. Besarnya inhibisi ini tidak dapat dikurangi dengan menaikkan kadar substrat (Martoharsono, 1993).

Persamaan reaksi yang terjadi akibat pengaruh ketiga inhibitor tersebut dapat digambarkan sebagai berikut:

Reaksi tanpa inhibitor :



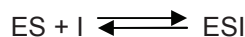
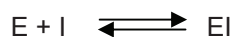
Reaksi dengan inhibitor bersaing :



Reaksi dengan inhibitor tidak bersaing :



Reaksi dengan inhibitor bukan bersaing:



Komplek EI dan ESI, tidak dapat menghasilkan produk.

Berdasarkan kinetika inzim tersebut maka setelah didapatkan pelarut terbaik untuk ekstraksi senyawa bioaktif akan dilanjutkan studi kinetika enzim tirosinase untuk menentukan jenis inhibisinya.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ketiga spesies *Artocarpus* yaitu *A. heterophyllus* (nangka), *A. altalis* (sukun), *A. communis* (kluwih) mengandung senyawa bioaktif yang dapat menginhibisi tirosinase. Daya inhibisi terkuat didapat pada kulit batang *A. heterophyllus* (nangka).
2. Hasil identifikasi kandungan flavonoid didapat bahwa ekstrak metanol kulit batang *A. heterophyllus* (nangka) mengandung senyawa golongan flavonoid.

Harga IC_{50} didapat pada konsentrasi inhibitor (ekstrak metanol *A. heterophyllus* sebesar 103,29 $\mu\text{g/mL}$).

DAFTAR PUSTAKA

- Arung , E. T., K. Shimizu., and R. Kondo. (2006). "Inhibitory Effect of Artocarpanone from *Artocarpus heterophyllus* on Melanin Biosynthesis". *J. Biol. Pharm. Bull.* **29** (9), 1966-1969.

- Chang, T. S., H.Y. Ding, and H.C. Lin. (2005). "Identifying 6,7,4'-Trihydroxyisoflavone as a potent Tyrosinase Inhibitor". *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **69** (10), 1999-2001.
- Erwin. (2006). *Senyawa Fenolik dari Kayu Batang Artocarpus altilis (Park.) Fosb.* Tesis Magister pada FMIPA ITB Bandung: tidak diterbitkan.
- Jacques, S. Tanpa tahun. *Optical Absorption of Melanin*. [Online]. Tersedia: <http://omlc.ogi.edu/spectra/melanin/index.html>[10 Februari 2007].
- Kim, Y. J., K. J. Kyung, J. H. Lee., and H. Y. Chung. (2004). "4-4'-Dihydroxybiphenyl as a New Potent Tyrosinase Inhibitor". *J. Biol. Pharm. Bull.* **28** (2) 323-327.
- Marliana, Soerya dewi, Venty Suryanti, dan Suyono.(2005)."Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam(*Sechium edule* Jacq.Swartz.) dalam ekstrak etanol". *Biofarmasi* 3(1):26-31.
- Martoharsono,S.(1993). *Biokimia jilid I*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Masamoto, Yukimitsu., H. Ando., Y. Murata., Y. Shimoishi., M. Tada., and K. Takahata. (2003). "Mushroom Tyrosinase Inhibitory Activity of Esculetin Isolated from Seed of *Euphorbia lathyris* L.". *J. Biosci. Biotechnol. Biochem.* **67** (3) 631-634.
- Miyazawa, M. (2007). "Inhibitory Compound of Tyrosinase Activity from the Sprout of *Polygonum hydropiper* L. (Benitade)". *Biology Pharmaceutical Bulletin.* 30(3):595-597.
- Ohguchi, Kenji. (2003). "Gnetol as a Potent Tyrosinase Inhibitor from Genus *Gnetum*." *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 67(3):663-665.
- Putri, W.S. (2009), Penentuan aktivitas jenis inhibisi ekstrak metanol kuli batang *Artocarpus heterophyllus* LAMK sebagai inhibitor tirosinase, Skripsi. UPI, Tidak diterbitkan
- Shimizu, K. (2003). "A New Stilbene with Tyrosinase Inhibitory Activity from *Chlorophora excelsa*". *Biology Pharmaceutical Bulletin.* 51(3):318-319.
- Supriyanti, F.M T., dkk (1996), Isolasi dan identifikasi kandungan kimia dari daun dan kulit batang tanaman *artocarpus heterophyllus* LmK, Laporan Penelitian Proyek Pembinaan & Peningkatan Mutu Tenaga Kependidikan, FPMIPA UPI Bandung.
- _____, (2009), Pemanfaatan senyawa bioaktif dari kulit batang *Artocarpus* SP. Sebagai inhibitor tirosinase pada pigmentasi kulit, Jurnal Pengajaran MIPA, volume 13(1):105-115