

ARTIKEL PENELITIAN

**Aktivitas Antitirosinase Ekstrak Etanol Daun
Mitragyna speciosa Korth**

***The Antityrosinase Activity of Mitragyna speciosa
Korth Leaf Ethanolic Extract***

Normaidah¹, Maslia Rahmah², Hayatun Izma³, Fadlilaturrahmah^{4*}, Anna Khumaira Sari⁵

^{1,5} Program Studi Pendidikan Profesi Apoteker, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

^{2,3,4} Program Studi Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru, Indonesia

Abstract

*The kratom plant (*Mitragyna speciosa* Korth) is a the plant that is traditionally used to soften the skin. Kratom leaves have very strong antioxidant activity so they are predicted also to have anti-tyrosinase activity. The potential inhibition of tyrosinase enzyme activity is thought to come from the content of flavonoid compounds, polyphenols, steroids, tannins, and quinones. This research aims to determine the tyrosinase inhibitory activity of ethanol extract of *M. speciosa* leaves. The inhibitory activity of the tyrosinase enzyme using L-DOPA as substrate and kojic acid as positive control. Antityrosinase testing was carried out by in vitro method using UV-vis spectrophotometer through determination of IC₅₀ value. The results of the antityrosinase activity test of ethanol extract of *M. speciosa* leaves showed an IC₅₀ value of 2117.708 ppm. The ethanol extract of *M. speciosa* leaves is scientifically proven to have antityrosinase activity with a weak category.*

Keywords: kratom, melanogenesis, enzyme inhibitory activity, L-DOPA

Article history:

Submitted 27 September 2023

Accepted 28 Februari 2024

Published 30 April 2024

PUBLISHED BY:

Sarana Ilmu Indonesia (salnesia)

Address:

Jl. Dr. Ratulangi No. 75A, Baju Bodoa, Maros Baru,
Kab. Maros, Provinsi Sulawesi Selatan, Indonesia

Email:

info@salnesia.id, jika@salnesia.id

Phone:

+62 85255155883



Abstrak

Tanaman kratom (*Mitragyna speciosa* Korth) merupakan salah satu tanaman yang secara tradisional digunakan untuk menghaluskan kulit. Daun kratom memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat sehingga diprediksi juga memiliki aktivitas antitirosinase. Potensi penghambatan aktivitas enzim tirosinase diduga berasal dari kandungan senyawa flavonoid, polifenol, steroid, tanin, dan kuinon. Penelitian ini memiliki tujuan untuk mengetahui aktivitas penghambatan tirosinase ekstrak etanol daun *M. speciosa*. Aktivitas penghambatan enzim tirosinase menggunakan L-DOPA sebagai substrat dan asam kojat sebagai kontrol positif. Pengujian antitirosinase dilakukan dengan metode *in vitro* menggunakan spektrofotometer UV-vis melalui penentuan nilai IC₅₀. Hasil uji aktivitas antitirosinase ekstrak etanol daun *M. speciosa* menunjukkan nilai IC₅₀ 2117,708 ppm. Ekstrak etanol daun *M. speciosa* terbukti secara ilmiah memiliki aktivitas antitirosinase dengan kategori lemah.

Kata Kunci: kratom, melanogenesis, aktivitas penghambatan enzim, L-DOPA

*Penulis Korespondensi:

Fadlilaturrahmah, email: fadlilaturrahmah@ulm.ac.id



This is an open access article under the CC-BY license

PENDAHULUAN

Melanogenesis merupakan proses pembentukan pigmen kulit yang dapat menyebabkan hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi terjadi akibat produksi berlebihan dari melanin. Peristiwa pembentukan melanin terjadi dengan bantuan enzim tirosinase. Peningkatan aktivitas enzim tirosinase utamanya terjadi karena adanya paparan sinar UV (UVA dan UVB) yang mengakibatkan pembentukan melanin meningkat (Kurniasari *et al.*, 2018). Kulit yang mengalami hiperpigmentasi akan memiliki tekstur bersisik dan terlihat kusam. Hiperpigmentasi bahkan dapat meningkatkan risiko terjadinya kanker kulit (Rahayu *et al.*, 2017). Penghambatan enzim tirosinase merupakan cara utama untuk menghambat pembentukan melanin di lapisan epidermis sehingga dapat mencerahkan kulit (Kurniasari *et al.*, 2018). Agen inhibitor tirosinase dapat mencegah terjadinya melanogenesis yang disebabkan oleh radiasi ultraviolet dari sinar matahari melalui pencegahan oksidasi enzimatik (Gazali *et al.*, 2014).

Bahan penghambat tirosinase yang saat ini banyak dimanfaatkan untuk memutihkan kulit yaitu hidrokuinon, asam azelat, merkuri, dan asam kojat. Namun, sebagian senyawa tersebut mempunyai efek samping yang berbahaya yaitu bersifat karsinogen dan mutagen. Asam kojat yaitu senyawa yang memiliki aktivitas penghambatan tirosinase dalam mencegah terjadinya hiperpigmentasi, jika digunakan pada konsentrasi besar dapat menyebabkan eritema dan dermatitis kontak (Gazali *et al.*, 2014). Oleh karena itu, penelitian untuk menemukan sumber inhibitor tirosinase yang efektif, aman, dan memiliki sumber daya yang melimpah sangat diperlukan.

Mitragyna Speciosa Korth, merupakan salah satu tanaman obat yang sering dimanfaatkan oleh masyarakat untuk pengobatan luka, meredakan demam, batuk, depresi, penambah energi, antidiabetes, stimulan seksual, penurun tekanan darah tinggi, meredakan nyeri otot, serta mengatasi diare (Elsa *et al.*, 2016; Suhaimi *et al.*, 2019). Selain itu, Suku Bentian di Kalimantan Timur juga menggunakan tanaman *M. speciosa* untuk menghaluskan kulit (Wahyono *et al.*, 2019). Daun *M. speciosa* diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan telah terbukti berkhasiat dalam mencegah

pertumbuhan bakteri penyebab jerawat pada kulit yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Propionibacterium acnes* (Niah dan Ariani, 2020; Suhaimi *et al.*, 2019).



Gambar 1. Daun *M. speciosa* Korth

Taksonomi Kratom (*M. speciosa* Korth.)

Kerajaan : Plantae
Filum : Tracheophyta
Kelas : Magnoliopsida
Bangsa : Gentianales
Suku : Rubiaceae
Marga : *Mitragyna* Korth.
Jenis : *Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil
(Wahyono *et al.*, 2019).

Potensi penghambatan aktivitas antitirosinase diduga berasal dari kandungan senyawa flavonoid, polifenol, steroid, tanin, dan kuinon. Senyawa polifenol, tanin dan flavonoid memiliki kemampuan untuk mengkelat ion logam tembaga yang merupakan kofaktor enzim tirosinase. Kemampuan tirosinase untuk mengkatalisasi proses melanogenesis berkurang akibat hilangnya situs aktif enzim sehingga mencegah pembentukan dopakrom. Senyawa steroid memiliki aktivitas antitirosinase dengan mekanisme mengikat beberapa situs dari enzim tersebut kecuali situs katalitik. Sedangkan, kuinon memiliki aktivitas antitirosinase yang mekanismenya berkaitan dengan gugus fungsi yang melekat pada kerangkanya (Prasetyo, 2021).

Terdapat hubungan antara aktivitas antioksidan dengan antitirosinase yaitu efek sinergis yang berhubungan penghambatan ROS (*Reactive Oxygen Species*) oleh antioksidan. ROS mengaktifkan tirosinase dengan memobilisasi hormon perangsang α -melanosit di epidermis, sehingga penghambatan ROS juga dapat menghambat enzim tirosinase (Wang *et al.*, 2018). Umumnya tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat juga memiliki aktivitas penghambatan tirosinase yang kuat (Abidin *et al.*, 2019). Aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun *M. speciosa* termasuk dalam kategori sangat kuat karena menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 38,56 $\mu\text{g/mL}$ (Yuniarti *et al.*, 2020).

Aktivitas penghambatan enzim tirosinase menggunakan L-DOPA sebagai substrat dan asam kojat sebagai kontrol positif. Pengujian antitirosinase dilakukan dengan metode *in vitro* menggunakan spektrofotometer UV-vis melalui penentuan nilai IC₅₀. Prinsip dasar metode *in vitro* didasarkan pada penurunan jumlah dopakrom yang

dihasilkan dari proses oksidasi L-DOPA oleh enzim tirosinase. Dopakrom akan membentuk warna jingga tua hingga merah. Intensitas warna dopakrom akan berkurang jika aktivitas enzim tirosinase dihambat sehingga penyerapan dapat diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum (Prasasty dan Istyastono, 2020; Tristiyanti dan Oktaviani, 2020). Pengujian aktivitas antitirosinase bertujuan untuk mengetahui daya penghambatan senyawa bioaktif yang terkandung pada ekstrak etanol daun *M. speciosa*. Hingga saat ini belum ditemukan penelitian tentang aktivitas antitirosinase dari *M. speciosa*.

METODE

Daun *M. speciosa* diperoleh dari Desa Baruh Kembang, Kecamatan Daha Utara, Kabupaten Hulu Sungai Selatan, Kalimantan Selatan pada Desember 2022 dan telah dideterminasi (Surat Nomor 070/80-LIT/KRB dari BPPD Kebun Raya Banua, Banjarbaru, Kalimantan Selatan). Ekstrak etanol daun *M. speciosa* (rendemen 17,218% atau 86,09 gram) dengan karakteristik berwarna hitam kehijauan, berbentuk kental, memiliki bau khas yang kuat dan terasa pahit diperoleh dengan memaserasi 500 gram simplisia dalam etanol 96% (teknis) selama 3x24 jam. Ekstrak etanol daun *M. speciosa* diuji kandungan fitokimianya meliputi flavonoid, alkaloid, steroid, terpenoid, fenolik, saponin, tanin dan kuinon. Uji aktivitas antitirosinase dilakukan berdasarkan Sari *et al.* (2015) yang dimodifikasi menggunakan spektrofotometer UV-vis dengan pelarut dapar fosfat 50mM (pH 6,5) untuk melarutkan L-DOPA (Sigma, St. Louis, MO USA) 12 mM dan enzim tirosinase (Sigma, St. Louis, MO USA) konsentrasi 333 unit/mL (suhu preparasi enzim dijaga agar tetap dingin). Asam kojat (kontrol positif) dibuat seri konsentrasi 15, 60, 75, 90, dan 105 ppm dalam dapar fosfat. Stok ekstrak dilarutkan dalam larutan dapar fosfat 50 mM yang mengandung DMSO 1% dengan konsentrasi 4000 ppm dan diencerkan menjadi 1000, 1500, 2000, 3000, dan 3500 ppm dalam dapar fosfat. Penentuan aktivitas antitirosinase diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis (PerkinElmer UV-Vis) setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit. Penetapan panjang gelombang maksimal dilakukan *scanning* pada 400-550 nm yang terdiri atas campuran L-DOPA 2200 µL, enzim 600 µL, dan larutan dapat 1400 µL dan didapatkan serapan maksimal pada 479 nm (Ren *et al.*, 2018). Jumlah komponen untuk pengukuran aktivitas dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Jumlah komponen untuk pengukuran aktivitas antitirosinase

Pengukuran	Volume Larutan (µL)			
	L-DOPA	Enzim	Dapar	Sampel
Ekstrak	1980	540	-	1260
Asam kojat (kontrol positif)	1980	540	-	1260
Kontrol sampel	1980		540	1260
Blanko	1980	540	1260	-
Kontrol blanko	1980		1800	

Analisis data dilakukan dengan mengukur nilai % inhibisi dengan rumus sebagai berikut (Sari *et al.*, 2019).

$$\% \text{ inhibisi} = \left[\frac{(A-B) - (C-D)}{A-B} \right] \times 100\%$$

Keterangan: A = Absorbansi blanko (enzim tanpa sampel)
 B = Absorbansi kontrol blanko (tanpa enzim dan sampel)
 C = Absorbansi sampel (enzim dan sampel)
 D = Absorbansi kontrol sampel (sampel tanpa enzim)

Nilai IC₅₀ dihitung dengan membuat persamaan regresi linier antara konsentrasi ekstrak (sumbu x) dan % inhibisi (sumbu y). Regresi linier dapat dirumuskan dalam $y = bx + a$ (Sagala dan Ripaldo, 2020).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak etanol daun *M. speciosa* mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, steroid, fenolik, saponin, tanin, dan kuinon. Hasil yang diperoleh sama dengan penelitian sebelumnya yang menyatakan bahwa ekstrak etanol daun *M. speciosa* mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, fenol, dan steroid (Juanda dan Andayani, 2019). Namun, pada penelitian tersebut tidak dilakukan uji identifikasi kuinon. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun *M. speciosa* dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia

Pemeriksaan	Hasil
Flavonoid	+
Alkaloid (Pereaksi Mayer)	+
Alkaloid (Peraksi Dragendorff)	+
Steroid	+
Terpenoid	-
Fenolik	+
Saponin	+
Tanin	+
Kuinon	+

Kekuatan penghambatan enzim tirosinase memiliki 3 (tiga) tingkatan berdasarkan nilai IC₅₀ yaitu paling kuat (<100 ppm), sedang (100-450 ppm), dan paling lemah (>450 ppm) (Yani et al., 2022). Hasil persen inhibisi uji aktivitas antitirosinase ekstrak daun *M. speciosa* dan asam kojat sebagai kontrol positif dapat dilihat pada Tabel 2 dan nilai IC₅₀ dapat dilihat pada Tabel 3 dan 4.

Tabel 3. Hasil persen inhibisi ekstrak dan asam kojat terhadap enzim tirosinase

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Persen inhibisi			\bar{x} % inhibisi	SD	RSD
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III			
Ekstrak	1000	18,753	18,906	19,162	18,941	0,207	1,090
	1500	35,003	34,951	34,951	34,968	0,030	0,084
	2000	47,266	46,909	47,522	47,232	0,308	0,652

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Persen inhibisi			\bar{x} % inhibisi	SD	RSD
		Replikasi I	Replikasi II	Replikasi III			
Asam kojat	3000	71,845	70,669	69,954	70,823	0,955	1,348
	3500	89,371	89,320	89,423	89,371	0,051	0,057
	15	34,115	34,072	34,115	34,101	0,025	0,072
	60	52,623	52,281	52,495	52,466	0,172	0,328
	75	61,962	61,876	61,706	61,848	0,130	0,211
	90	64,861	64,776	64,648	64,762	0,107	0,166
	105	71,471	71,642	71,557	71,557	0,085	0,119

Asam kojat yang digunakan sebagai kontrol positif pada penelitian ini memiliki IC₅₀ yang masuk dalam rentang literatur yaitu berada pada rentang 10,74 – 61,38 ppm (Charissa *et al.*, 2016; Kurniasari *et al.*, 2018). Asam kojat memiliki mekanisme penghambatan secara kompetitif yaitu adanya gugus hidroksi yang dapat membentuk kelat logam tembaga pada sisi aktif enzim tirosinase. Pembentukan kelat tersebut mencegah penempelan substrat dengan enzim tirosinase sehingga dopakrom tidak terbentuk (Ashooriha *et al.*, 2019; Sagala *et al.*, 2019).

Hasil penentuan aktivitas ekstrak etanol daun *M. speciosa* yang diperoleh dari kurva kalibrasi menghasilkan persamaan regresi linear $y = 0,027x - 7,1778$ memiliki nilai koefisien korelasi (r) 0,997. Nilai koefisien korelasi yang diperoleh telah memenuhi persyaratan linearitas yang baik yaitu 0,995-0,999. Koefisien korelasi tersebut menunjukkan bahwa 99,7 persen penghambatan aktivitas tirosinase dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi ekstrak etanol daun *M. speciosa* (Nur *et al.*, 2019). Hasil perhitungan persen inhibisi ekstrak etanol daun *M. speciosa* menunjukkan nilai relatif standar deviasi (RSD) $\leq 2\%$ (Riyanto, 2014). Hal tersebut menunjukkan nilai keterulangan data yang baik.

Tabel 4. Hasil IC₅₀ ekstrak dan asam kojat terhadap enzim tirosinase

Sampel	IC ₅₀	\bar{x} IC ₅₀ ± SD (ppm)	RSD (%)
Ekstrak	2114,522	2117,708 ± 5,280	0,249
	2120,633		
	2117,970		
Asam kojat	52,214	52,379 ± 0,1424	0,271
	52,478		
	52,447		

Hasil menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *M. speciosa* memiliki potensi menghambat aktivitas enzim tirosinase kategori lemah. Nilai IC₅₀ dengan tingkat serupa juga didapatkan pada ekstrak etanol daun kemangi (*Ocimum americanum* L.) yaitu sebesar 2330,44 ppm (Sagala *et al.*, 2019). Hasil lain yang menunjukkan aktivitas antitirosinase pada tingkat serupa terdapat pada ekstrak etanol kulit batang taya (*Nauclea subdita*) yaitu sebesar 1374,69 ppm (Charissa *et al.*, 2016).

Berdasarkan penelitian Yuniarti (2020), aktivitas antioksidan dari ekstrak etanol daun *M. speciosa* termasuk dalam kategori sangat kuat karena menunjukkan nilai IC₅₀ sebesar 38,56 ppm. Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan tidak selalu berbanding lurus dengan aktivitas antitirosinase. Penelitian

Sagala dan Ripaldo (2020), menunjukkan bahwa ekstrak etanol buah harendong (*Melastoma malabathricum* L.) memiliki IC₅₀ aktivitas antioksidan sebesar 10,20 ppm yang termasuk kategori sangat kuat dan memiliki IC₅₀ aktivitas antitirosinase sebesar 996,917 ppm yang termasuk kategori lemah. Penelitian lain juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah Nyirih (*Xylocarpus granatum*) memiliki IC₅₀ aktivitas antioksidan sebesar 19,90 ppm dan memiliki IC₅₀ aktivitas antitirosinase sebesar 1926,03 ppm (Gazali *et al.*, 2014).

Potensi antioksidan yang tidak berbanding lurus dengan aktivitas anti tirosinase pada ekstrak etanol daun *M. speciosa* dapat dipengaruhi oleh kondisi ekstrak yang belum dilakukan proses purifikasi. Pada ekstrak kasar terdapat komponen lain seperti flavon yang dapat menginduksi melanogenesis sehingga dapat menghambat aktivitas penghambatan tirosinase. Purifikasi ekstrak berfungsi untuk mengeliminasi senyawa karbohidrat atau lipid dalam ekstrak kasar yang belum melalui proses purifikasi (Abidin *et al.*, 2019). Daun *M. speciosa* mengandung makromolekul seperti lipid, protein, asam nukleat, dan karbohidrat (Surianti, 2022; Wahyono *et al.*, 2019). Ekstrak kasar mengandung semua senyawa yang tersari oleh pelarut seperti karbohidrat dan lipid yang dapat meningkatkan melanogenesis sehingga menghambat aktivitas penghambatan tirosinase (Noor *et al.*, 2018). Hal tersebut dibuktikan dengan penelitian yang dilakukan oleh Abidin *et al.* (2019), yang menunjukkan ekstrak kasar daun kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki nilai IC₅₀ sebesar 4405,24 ppm dan ekstrak terpurifikasi daun kelor memiliki IC₅₀ sebesar 401,6228 ppm. Purifikasi ekstrak perlu dilakukan untuk mengetahui potensi aktivitas antitirosinase dari senyawa yang terkandung di dalam daun *M. speciosa*.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan Wijaya *et al.* (2020), kadar flavonoid dalam ekstrak etanol daun *M. speciosa* adalah sebesar 3,951±0,33%. Namun, beberapa penelitian menunjukkan bahwa kandungan flavonoid tidak selalu berpengaruh terhadap aktivitas penghambatan tirosinase. Berdasarkan penelitian yang dilakukan Siregar *et al.* (2019), menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit bengkuang (*Pachyrhizuserosus*) secara kualitatif tidak mengandung flavonoid tetapi menghasilkan nilai IC₅₀ yaitu 97,05 ppm, nilai tersebut lebih kecil dibandingkan ekstrak etanol buah bengkuang yang secara kualitatif mengandung flavonoid dengan nilai IC₅₀ 194,51 ppm. Penelitian lain yang menunjukkan kadar flavonoid pada ekstrak etanol daun *C. papaya* sebesar 8,236 b/b dengan nilai IC₅₀ anti tirosinase sebesar 12158,87 ppm (Sagala *et al.*, 2019).

Faktor yang dapat mempengaruhi potensi senyawa flavonoid dalam penghambatan aktivitas tirosinase adalah adanya kandungan glukosa yang terikat pada gugus polifenol pada struktur flavonoid. Akibatnya polifenol pada struktur flavonoid tidak dapat bekerja maksimal untuk mengkelat logam tembaga pada situs aktif enzim tirosinase. Sampel yang mengandung flavonoid yang mengikat glukosa memiliki potensi penghambatan tirosinase yang lemah karena tidak adanya gugus hidroksi yang dapat mengkelat logam tembaga pada situs aktif enzim tirosinase (Lukitaningsih *et al.*, 2020; Nur *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Aktivitas antitirosinase ekstrak etanol daun *M. speciosa* menggunakan spektrofotometer UV-Vis termasuk dalam kategori lemah dengan nilai IC₅₀ 2117,708 ppm.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada LPPM Universitas Lambung Mangkurat atas hibah yang diberikan melalui Program Dosen Wajib Meneliti Tahun Anggaran 2023 dengan nomor kontrak 066.140/UN8.2/PG/2023.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin Z, Khaeriah U, Zuhriana, Z, Pratama, M, Baits M. 2019. Tyrosinase Inhibitor Activity Measurement of Crude and Purified Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* L). Indonesian Journal of Pharmaceutical Science and Technology, 1(1): 52-58. Tyrosinase Inhibitory Activity Measurement of Crude and Purified Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* L.) - UMI Repository
- Ashooriha M, Khoshneviszadeh M, Khoshneviszadeh M, Moradi SE, Rafiei A, Kardan M, Emami S. 2019. 1,2,3-Triazole-Based Kojic Acid Analogs as Potent Tyrosinase Inhibitors: Design, Synthesis and Biological Evaluation. Bioorganic Chemistry, 82: 414-422. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.10.069>
- Charissa M, Djajadisastra J, Elya B. 2016. Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan Tirosinase Serta Uji Manfaat Gel Ekstrak Kulit Batang Taya (*Nauclea Subdita*) terhadap Kulit. Jurnal Kefarmasian Indonesia, 6(2): 98-107.
- Elsa L, Yuwono M, Prawita A. 2016. Pengembangan Metode Isolasi dan Identifikasi Mitragynine dalam Daun Kratom (*Mitragyna Speciosa*). Jurnal Biosains Pascasarjana, 18(3): 191-202. <https://dx.doi.org/10.20473/jbp.v18i3.2016.191-202>
- Gazali M, Zamani NP, Batubara I. 2014. Potensi Limbah Kulit Buah Nyirih *Xylocarpus Granatum* Sebagai Inhibitor Tirosinase. Depik, 3(3): 187-194. <http://dx.doi.org/10.13170/depik.3.3.2153>
- Juanda E, Andayani S. 2019. Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Kratom Leaf (*Mitragyna Speciosa* Korth) Against *Aeromonas hydrophilla*. The Journal of Eksperimental Life Science, 9(3): 155-158. <http://dx.doi.org/10.21776/ub.jels.2019.009.03.02>
- Kurniasari A, Anwar E, Djajadisastra J. 2018. Potensi Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma Cacao* Linn) Sebagai Inhibitor Tirosinase untuk Produk Pencerah Kulit. Jurnal Kefarmasian Indonesia, 8(1): 34-43. Potensi Ekstrak Biji Coklat (*Theobroma cacao* Linn) sebagai Inhibitor Tirosinase untuk Produk Pencerah Kulit | Jurnal Kefarmasian Indonesia (kemkes.go.id).
- Lukitaningsih E, Nur S, Qonithah F, Zulbayu A, Kuswahyuning R, Rumiati R. 2020. In Vitro Anti-Wrinkle and Tyrosinase Inhibitory Activities of Grapefruit Peel and Strawberry Extracts. Traditional Medicine Journal, 25(3): 182-189. <https://doi.org/10.22146/mot.59194>
- Niah R, Ariani N. 2020. Kemampuan Penghambatan Radikal Bebas Hand Sanitizer Ekstrak Metanol Daun Sepat (*Mitragynaspeciosa*). Jurnal Ilmiah Manuntung, 6(1): 98-102. <http://dx.doi.org/10.51352/jim.v6i1.314>
- Noor SU, Faridah F, Pamela M. 2018. Uji Aktivitas Inhibisi Enzim Tirosinase In-Vitro Krim Ekstrak Akar Manis (*Glycyrrhiza glabra* L.). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia, 16(1): 150-158. In Vitro Enzyme Tyrosinase Inhibitory Activity Test on Liquorice Root Extract Cream (*Glycyrrhiza glabra* L.) | Pamela Magdalena - Academia.edu.

- Nur S, Rumiya EL, Lukitaningsih E. 2017. Skrining Aktivitas Antioksidan, Antiaging dan Penghambatan Tyrosinase dari Ekstrak Etanolik dan Etilasetat Daging Buah dan Kulit Buah Langsung (*Lansium domesticum* Corr) Secara In Vitro. *Traditional Medicine Journal*, 22(1): 63-72. <http://dx.doi.org/10.22146/tradmedj.24342>
- Nur S, Sami FJ, Awaluddin A, Afsari MIA. 2019. Korelasi Antara Kadar Total Flavonoid dan Fenolik dari Ekstrak dan Fraksi Daun Jati Putih (*Gmelina Arborea* Roxb.) terhadap Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Farmasi Galenika*, 5(1): 33-42. <https://doi.org/10.22487/j24428744.2019.v5.i1.12034>
- Prasasty VD, Istyastono EP. 2020. Rancangan Obat Berbantuan Komputer: Peptida Rantai Pendek Sebagai Antikolinesterase. Sanata Dharma University Press: Depok.
- Prasetyo BF. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan dan Daya Hambat Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol *Azolla filiculoides* Lam. *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 8(1): 53-59. <https://doi.org/10.25077/jsfk.8.1.53-59.2021>
- Rahayu TD, Ardana M, Rijai L. 2017. Potensi Kulit Bawang Merah (*Allium Epa* L) Sebagai Antoksidan dan Tabir Surya. [Prosiding]. *Mulawarman Pharmaceuticals Conferences*, 6: 84-89.
- Ren G, Xue P, Sun X, Zhao G. 2018. Determination of the Volatile and Polyphenol Constituents and the Antimicrobial, Antioxidant, and Tyrosinase Inhibitory Activities of the Bioactive Compounds from the By-Product of *Rosa Rugosa* Thunb. Var. *Plena* Regal Tea. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18(307): 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2374-7>
- Riyanto. 2014. Validasi dan Verifikasi Metode Uji. Deepublish: Yogyakarta.
- Sagala Z, Mulyaningsih T, 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*, 1(1): 1-11.
- Sagala Z, Ripaldo F. 2020. Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase dan Uji Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Harendong (*Melastoma malabathricum* L.) Secara In Vitro. *Indonesia Natural Research Pharmaceutical Journal*, 5(1): 1-16. [341717-uji-aktivitas-inhibisi-terhadap-enzim-ti-0ce89078.pdf](https://doi.org/10.24127/indonesianaturalresearchpharmaceuticaljournal.v5i1.341717-uji-aktivitas-inhibisi-terhadap-enzim-ti-0ce89078.pdf) (neliti.com).
- Sari DM, Anwar E, Arifianti AE. 2019. Antioxidant and Tyrosinase Inhibitor Activities of Ethanol Extracts of Brown Seaweed (*Turbinaria Conoides*) as Lightening Ingredient. *Pharmacognosy Journal*, 11(2): 379-382. <http://dx.doi.org/10.5530/pj.2019.11.58>
- Sari RK, Utami R, Batubara I, Carolina A, Febriany S. 2015. Antioxidant and Tyrosinase Inhibitor Activities of Methanol Extracts of *Acacia Mangium*. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kayu Tropis*, 13(1): 88-97. [337694-antioxidant-and-tyrosinase-inhibitor-act-8dfb75b9.pdf](https://doi.org/10.24127/indonesianaturalresearchpharmaceuticaljournal.v5i1.341717-uji-aktivitas-inhibisi-terhadap-enzim-ti-0ce89078.pdf) (neliti.com)
- Siregar ID, Kusuma HSW, Widowati W, Marpaung HH, Ferdinand S, Fachrial E, Lister INE. 2019. Antioxidant and Antityrosinase Activities of Ethanolic *Pachyrhizuserosus* Peel and Tuber Extract. *Majalah Kedokteran Bandung*, 51(2): 75-81. <https://doi.org/10.15395/mkb.v51n2.1628>.
- Suhaimi S, Puspasari H, Husnani H, Apriani M. 2019. Uji Daya Hambat Ekstrak Kental Daun Kratom (*Mitragyna Speciosa* Korth) terhadap Bakteri *Propionibacterium Acnes* Sebagai Penyebab Jerawat. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian*, 4(1): 1-6. <https://doi.org/10.37874/MS.V4I2.128>
- Surianti. 2022. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder pada Famili Rubiaceae dan Amaryllidaceae serta Potensi Penerapan pada Pembelajaran Biologi. [Skripsi].

- Universitas Borneo: Tarakan.
- Tristiyanti D, Oktaviani S. 2020. Inhibitory Activity of Tyrosinase Enzyme on Lotion Contains Pear (*Pyrus Pyrifolia* (Burm. F) Nakai) Rind Extract. 2nd Bakti Tunas Husada-Health Science International Conference, 88-91. <http://dx.doi.org/10.2991/ahsr.k.200523.022>
- Wahyono S, Widowati L, Handayani L, Sampurno OD, Haryanti S, Fauzi F, Ratnawati G, Budiarti M. 2019. Kratom: Prospek Kesehatan dan Sosial Ekonomi. Lembaga Penerbit Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan: Jakarta Pusat.
- Wang Y, Hao MM, Sun Y, Wang LF, Wang H, Zhang YJ, Li HY, Zhuang PW, Yang Z. 2018. Synergistic Promotion on Tyrosinase Inhibition by Antioxidants. *Molecules*, 23(1), 1-13. <https://doi.org/10.3390/molecules23010106>
- Wijaya H, Tinggi S, Samarinda IK, Poddar S, Heri, W, Siti J, Achmad K, Henny N, Sandeep P. 2020. Determination of Phenolic and Flavonoid Levels and Antioxidant Activity Test from Ethanol Extract of Biak-Leaves (*Mitragyna Speciosa*) with ABTS Method [2,2-Azinobis- (3-) Ethylbenzotiazolin) -6-Sulfonic Acid. *Journal of Chemistry and Environment*, 24(5): 31-35.
- Yani VT, Suparto IH, Batubara I. 2022. Twelve Asteraceae Species as Tyrosinase Inhibitors: Selection and Assumption of Active Compounds. *Jurnal Jamu Indonesia*, 7(1):1-11. Twelve Asteraceae Species as Tyrosinase Inhibitors: Selection and Assumption of Active Compounds | *Jurnal Jamu Indonesia* (ipb.ac.id)
- Yuniarti R, Nadia S, Alamanda A, Zubir M, Syahputra RA, Nizam M. 2020. Characterization, Phytochemical Screenings and Antioxidant Activity Test of Kratom Leaf Ethanol Extract (*Mitragyna Speciosa* Korth) Using DPPH Method. *Journal of Physics: Conference Series*, 1462(1): 1-7. Characterization, Phytochemical Screenings and Antioxidant Activity Test of Kratom Leaf Ethanol Extract (*Mitragyna speciosa* Korth) Using DPPH Method - IOPscience.