

## PEMANFAATAN SENYAWA BIOAKTIF DARI EKSTRAK KULIT BATANG *Artocarpus* sp SEBAGAI INHIBITOR TIROSINASE PADA PIGMENTASI KULIT

Oleh

*Florentina Maria Titin Supriyanti*

Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA  
Universitas Pendidikan Indonesia

### ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pemanfaatan senyawa bioaktif dari ekstrak kulit batang *Artocarpus* sp sebagai inhibitor tirosinase pada pigmentasi kulit. Pada penelitian ini digunakan tiga jenis *Artocarpus*, yaitu *A. heterophyllus* (nangka), *A. altilis* (sukun) dan *A. communis* (kluwih). Kajian difokuskan pada penentuan jenis *Artocarpus* apakah yang potensial dalam menghambat reaksi tirosinase, serta pelarut organik apakah yang mampu mengekstrak senyawa bioaktif tersebut secara optimum. Metode yang digunakan dalam ekstraksi senyawa bioaktif inhibitor tirosinase ini adalah ekstraksi menggunakan teknik maserasi, sedang inhibisinya diketahui melalui metode spektroskopi visible. Hasil yang didapat adalah ekstrak metanol ketiga spesies *Artocarpus* mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat tirosinase, sedang daya inhibisi terkuat didapat pada ekstrak metanol dari kulit batang *A. heterophyllus* (nangka). Sementara itu, uji aktifitas inhibisi pada berbagai fraksi yaitu fraksi n-heksana, diklorometana dan metanol sisa dari ekstrak kulit batang *A. heterophyllus* menunjukkan bahwa ekstrak metanol sisa memiliki aktivitas inhibisi tirosinase yang terkuat. Dari penelitian ini diketahui bahwa *A. heterophyllus* merupakan spesies terbaik sedang metanol merupakan pelarut terbaik untuk ekstraksi senyawa bioaktif yang dapat berperan dalam menghambat reaksi tirosinase.

*Kata Kunci:* *Artocarpus*, inhibisi, tirosinase

### PENDAHULUAN

Pada kulit manusia sering timbul bercak warna coklat, terutama ditemukan pada orang yang kulitnya sering terbakar oleh matahari. Kondisi tersebut dikenal sebagai hiperpigmentasi. Hiperpigmentasi dapat terjadi akibat produksi melanin yang berlebihan, sedang melanin merupakan pigmen yang dapat melindungi jaringan kulit dari penghamburan sinar ultra violet (UV). 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 keabu-abuan. 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 (senyawa 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, maka pada penelitian ini akan diteliti mengenai jenis spesies *Artocarpus* apakah yang mempunyai aktivitas inhibisi tirosinase paling baik dan jenis pelarut organik apakah yang dapat mengekstrak senyawa bioaktif ini secara optimal.

## METODOLOGI

Penelitian ini terdiri dari tiga tahapan, yaitu:

### 1. *Preparasi sampel*

- 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* masing-masing dengan metanol, hingga didapat ekstrak metanol, yang kemudian diuapkan secara vakum.

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

- Tahap Pengujian, meliputi uji pendahuluan (tirosinase dengan L-tirosin) dan uji inhibisi tirosinase dengan penambahan ekstrak metanol kulit batang ketiga jenis *Artocarpus*.
- 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  $\mu\text{L}$  buffer fosfat 0,1 M (pH 6,5), 200  $\mu\text{L}$  larutan L-tirosin 0,03 %, 40  $\mu\text{L}$  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  $\mu\text{L}$  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 jenis pelarut terbaik pada ekstraksi senyawa inhibitor tirosinase.

Ekstrak kasar metanol selanjutnya diekstrak dengan 3 kali 20 mL n-heksana. Fraksi n-heksana digabung dan diuapkan vakum sehingga didapat ekstrak kasar n-heksana, sedangkan fraksi metanol sisa diekstraksi lebih lanjut menggunakan 3 kali 20 mL diklorometana. Fraksi diklorometana yang diperoleh diuapkan vakum hingga didapatkan ekstrak kasar diklorometana, dan fraksi metanol sisa. Ke dalam ketiga ekstrak kasar tersebut, yaitu ekstrak kasar n-heksana, diklorometana, dan metanol sisa selanjutnya ditambahkan pelarut DMSO dan diuji inhibisinya, lalu dibandingkan untuk menentukan ekstrak kasar yang berpotensi tinggi dalam inhibisi tirosinase.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

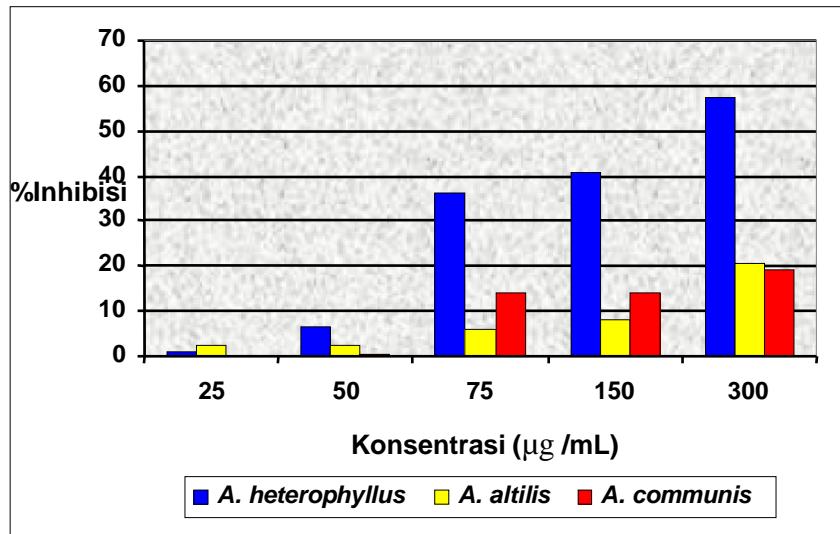
Penelitian diawali oleh ekstraksi serbuk kulit batang berbagai spesies *Artocarpus*, menggunakan pelarut metanol, dengan hasil seperti yang terdapat pada Tabel 1.

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

Sampel	Berat serbuk kulit batang (g)	Berat ekstrak metanol kering (g)	Persentase (%)	Warna ekstrak metanol kering
<i>A. heteropyllus</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

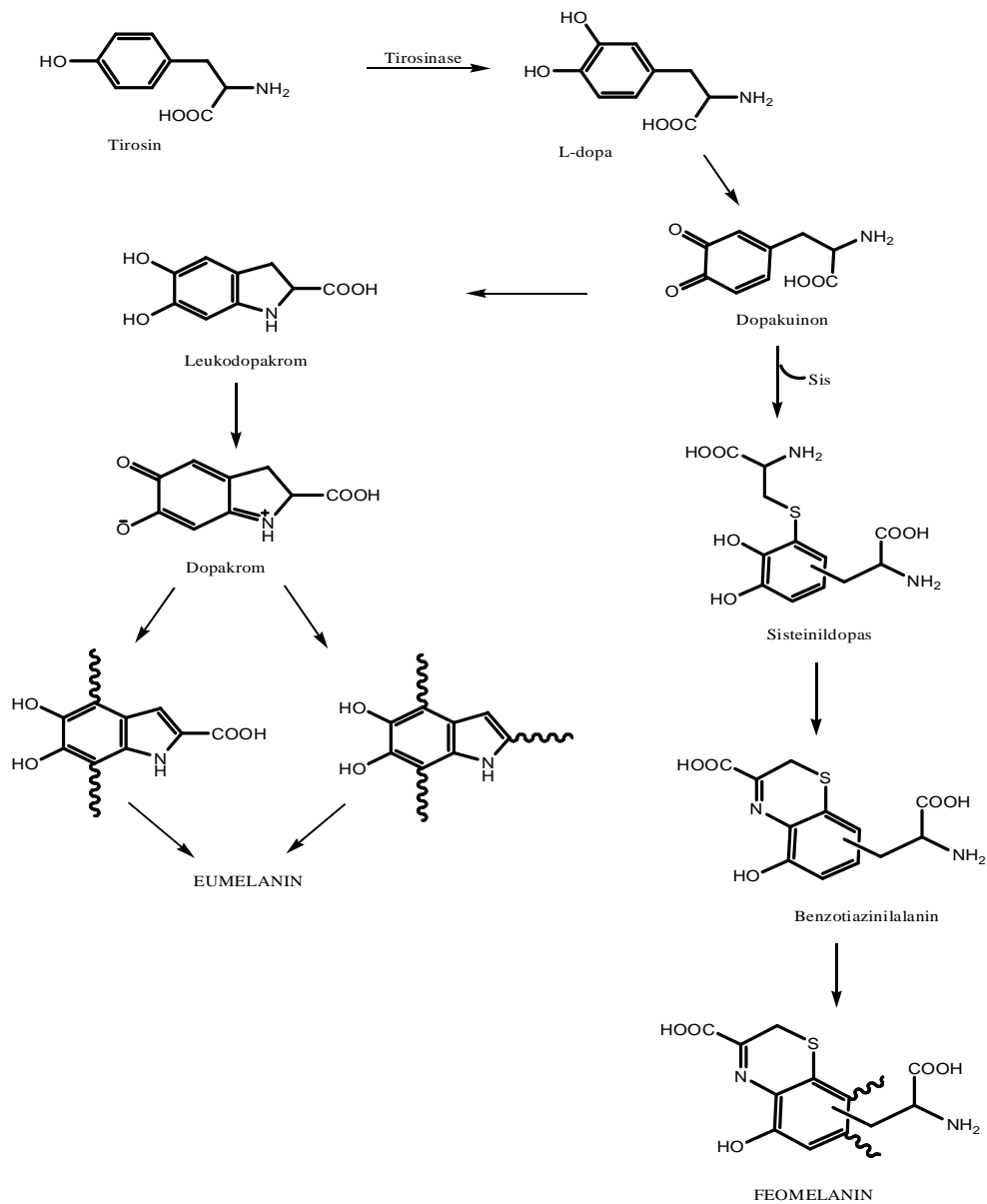
Dari data tersebut terlihat bahwa ekstraksi dengan pelarut metanol menyebabkan lebih banyak senyawa *A. communis* yang terekstrak dibandingkan *A. heteropyllus* dan *A. altilis*. Pelarut metanol berfungsi untuk mengekstrak senyawa-senyawa bioaktif yang bersifat polar, seperti flavonoid. Dari penelitian sebelumnya diketahui bahwa senyawa yang menjadi inhibitor tirosinase adalah senyawa golongan flavonoid pada beberapa tanaman *Artocarpus* termasuk golongan senyawa flavonoid (Erwin, 2006). Oleh karena itu senyawa flavonoid inilah yang diduga memiliki efek depigmentasi seperti umumnya tanaman lain yang mempunyai efek depigmentasi. Telah dilaporkan beberapa senyawa bioaktif inhibitor tirosinase dari bahan alam diantaranya: *arbutin*, *ellagic acid*, *chloroformin*, *kojic acid*, *phytic acid*, *artocarpanone*, dan *oxyreveratrol* dimana *artocarpanone* dari getah kayu tumbuhan *Artocarpus heteropyllus* (nangka) mempunyai potensi bioaktif inhibitor tirosinase lebih besar dibandingkan *arbutin*, tetapi lebih lemah dari *kojic 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 dihubungkan dalam aktifitas inhibisi terhadap tirosinase.

Hubungan daya inhibisi ekstrak metanol ketiga kulit batang *Artocarpus* (*A. heteropyllus*, *A. altilis*, *A. communis*) dengan konsentrasi ekstrak metanol ketiga kulit batang *Artocarpus* ditunjukkan dengan kurva pada Gambar 1.



**Gambar 1. 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.**

Berdasarkan Gambar 1, tampak bahwa dari ketiga sampel ekstrak metanol kulit batang *Artocarpus* memiliki daya inhibisi tirosinase semakin meningkat dengan bertambahnya konsentrasi. Hal ini membuktikan adanya senyawa bioaktif dalam ekstrak metanol ketiga kulit batang *Artocarpus* yang berperan sebagai inhibitor tirosinase. Dengan meningkatnya persentase (%) inhibisi menunjukkan bahwa pembentukan produk (dopakrom) mengalami penurunan. Artinya, tirosinase terhambat aktivitasnya untuk menghasilkan produk (dopakrom). Gambar 2 menunjukkan reaksi pembentukan melanin, yang dikemukakan oleh Jacques.



**Gambar 2. Biosintesis melanin (Prota dkk. (1988) di dalam Jacques (tanpa tahun))**

### 1. 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 *Artocarpus*. Hasil yang di dapat dari uji ini ditunjukkan pada Tabel 2.

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

Konsentrasi Sampel ( $\mu\text{g/mL}$ )	% Inhibisi dengan Penambahan Sampel		
	<i>A. heterophyllus</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

Pada konsentrasi 50  $\mu\text{g/mL}$  s/d 300  $\mu\text{g/mL}$  *A. heterophyllus* (nangka) memiliki daya inhibisi lebih kuat dibandingkan pada *A. altilis* (sukun) dan *A. communis* (kluwih). Pada konsentrasi sampel yang sama, ketiga sampel memperlihatkan daya inhibisi yang berbeda-beda. Pada konsentrasi 25, 50 dan 300  $\mu\text{g/mL}$ , sampel kulit batang *A. altilis* memiliki daya inhibisi lebih kuat daripada sampel kulit batang *A. communis*. Sebaliknya, pada konsentrasi sampel 75 dan 150  $\mu\text{g/mL}$ , daya inhibisi sampel kulit batang *A. communis* lebih kuat dari pada sampel kulit batang *A. altilis*. Dari kelima variasi konsentrasi sampel yang diuji (25, 50, 75, 150 dan 300  $\mu\text{g/mL}$ ) memperlihatkan bahwa sampel kulit batang *A. heterophyllus* memiliki daya inhibisi paling kuat diantara 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. Selain itu jenis inhibisi yang dimainkan oleh inhibitor dapat juga berpengaruh terhadap daya inhibisinya.

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

Selain itu, berdasarkan kinetika inhibisi dikenal macam-macam inhibisi reaksi enzimatik.

Secara umum reaksi enzimatik dapat dituliskan sebagai berikut:



Keterangan:

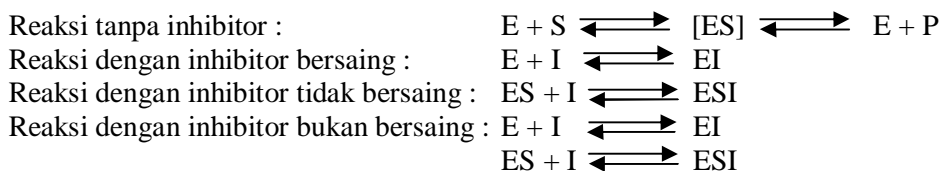
E = Enzim            S = Substrat  
 P = Produk        [ES] = kompleks enzim-substrat

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 :



Komplek EI dan ESI, tidak dapat menghasilkan produk.

Menurut Ohguchi dkk, 2003, substituen hidroksi (OH) mempunyai peran penting dalam senyawa yang berperan sebagai inhibitor tirosinase. Sementara itu senyawa fenolik 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.

## 2. Penentuan jenis pelarut terbaik pada ekstraksi senyawa inhibitor tirosinase

Terhadap ekstrak total hasil maserasi kulit batang nangka digunakan sebanyak 4,736 g (dari total massa 23,16 g) untuk di fraksinasi menggunakan dua jenis pelarut organik (n-heksana dan diklorometana). Di dapat 3 fraksi, yaitu Fraksi n-heksana, fraksi diklorometana dan fraksi metanol sisa (c). Ketiga fraksi diuapkan vakum dan dihasilkan massa masing-masing fraksi sebagai yang ditunjukkan pada Tabel 3.

**Tabel 3. Data hasil ekstraksi menggunakan n-heksana dan diklorometana.**

Pelarut Organik Massa	Ekstrak (g)	Persentase terekstraksi (%)
Fraksi heksana	1,413	32,31
Fraksi diklorometana	2,881	60,83
Fraksi metanol sisa	0,110	2,32

Berdasarkan data Tabel 3, komponen senyawa kimia dalam ekstrak metanol hasil maserasi kulit batang *A. heterophyllus* paling banyak terlarut (60,83%) dalam fasa diklorometana. Selanjutnya perolehan komponen senyawa kimia terlarut yang lebih rendah yaitu sebesar 32,31% dengan dalam pelarut heksana. Fasa metanol sisa mengandung komponen bioaktif terlarut paling kecil yaitu sebesar 2,32%.

**Tabel 4: Persentase inhibisi tirosinase dari ketiga fraksi.**

Konsentrasi	% Inhibisi n-heksana	% Inhibisi diklorometana	% Inhibisi metanol (sisa)
75 µg/mL	11,46	15,63	17,71
150 µg/mL	14,24	19,10	20,49
225 µg/mL	15,28	22,22	20,14
300 µg/mL	15,28	21,88	23,27
375 µg/mL	17,01	25,70	27,09

Dari data yang terdapat pada Tabel 4 tampak bahwa pada umumnya persentase inhibisi meningkat dengan bertambahnya konsentrasi masing-masing fraksi. Selain itu untuk konsentrasi yang sama fraksi metanol memiliki daya inhibisi lebih besar dari fraksi diklorometana dan fraksi n-heksana. Jadi senyawa bioaktif hasil ekstraksi termasuk senyawa kimia yang polar dan memiliki kepolaran yang relatif sama dengan metanol.

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Ketiga spesies *Artocarpus* yaitu *Artocarpus heterophyllus* (nangka), *Artocarpus altilis* (sukun) dan *Artocarpus communis* (kluwih) mengandung senyawa bioaktif yang dapat menghambat tirosinase. Daya inhibisi terkuat didapat pada ekstrak metanol dari kulit batang *Artocarpus heterophyllus* (nangka).
2. Hasil fraksinasi menggunakan pelarut n-heksana dan diklorometana menunjukkan bahwa diklorometana dapat mengekstrak kandungan kimia ekstrak metanol sebanyak (60,83%), sedang n-heksana mengekstrak kandungan kimia ekstrak metanol sebanyak 32,31 %, dan fraksi metanol sisa terdapat 2,32%.
3. Dari uji inhibisi ketiga fraksi didapat bahwa untuk konsentrasi senyawa bioaktif yang sama, persen inhibisi paling besar ditemukan pada fraksi metanol sisa. Jadi hasil fraksinasi menunjukkan bahwa senyawa bioaktif inhibitor tirosinase terekstrak baik dalam pelarut metanol.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan pada kelompok penelitian tirosinase, Ibu Dra. Zackiyah M.Si., Rustianingsih dan Adytia Rakhmawan.

## 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.M., J. Yun , L.C., Min dan K.R., Kim Y(2002)., Oxyresveratrol and Hydroxystilbene Compounds inhibitory effect on tyrosinase and mechanism of action., *J. Biol. Chem* 277, 16340-16344.
- 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.
- Lerch and Konlard. (1978). "Amino acid sequence of tyrosinase from *Neurospora crassa*". *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* **75** (8) 3635-3639.
- 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.
- Mene, R (2001)., Treatment of epidermal melasma with a new peel (yellow peel), III Congreso Europeo de medicina estética, XVII Congg reso nacional de la sociedad espanola de medicina estética Valencia 25-28 October, Rio de Janeiro.
- 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.
- 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.
- Wikipedia Team. (2008). *Enzyme* [online]. Tersedia: <http://en.Wikipedia.org/wiki/Enzyme>. Wikimedia Foundation, Inc. [11 Januari 2007].