

PENGUJIAN AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KULIT BUAH KECOMBRANG (*Etlingera elatior* (Jack) R.M.Sm) SEBAGAI INHIBITOR TIROSINASE

Harti Widiastuti*, Zainal Abidin

Fakultas Farmasi, Universitas Muslim Indonesia, Makassar

*Email: harti.widiastuti@umi.ac.id

ABSTRACT

Healthy skin should have a flat surface, the texture is soft, elastic, and have the same skin color. Skin color is determined by the size, number and distribution of melanin pigment. Pigment brownish pigment melanin is to protect the skin from UV light scattering. An enzyme that plays a role in this browning reaction is tyrosinase. Based on this research is conducted on the fruit skin kecombrang to see the activity of the enzyme tyrosinase barriers and whether rind kecombrang can inhibit tyrosinase enzyme and with the aim to utilize natural materials and waste that can inhibit the enzyme tyrosinase and can be used as a skin whitener. Research initiated by the extraction of fruit skins kecombrang using ethanol. Flavonid content test on the sample using Mg powder and HCl p, the results show a color change from dark brown to yellow. So positive it contains flavonoids. Measurements were conducted on a maximum wavelength of 478,003 nm, using the substrate L-tyrosine and the enzyme tyrosinase. Using comparators hidroquinon. Of the results of this study concluded that kecombrang fruit peel extract at a concentration of 2 mg/mL could inhibit amounted to 55,92% and a concentration of 2,5 mg/mL could inhibit amounted to 56,58%

Keywords: Inhibisi Tirosinase, Inhibitor Tirosinase, Kecombrang, Patikala.

PENDAHULUAN

Kulit adalah organ terbesar dari tubuh yang terletak paling luar dan membatasinya dari lingkungan hidup manusia. Kulit merupakan organ yang esensial dan vital serta mencerminkan kesehatan dan kehidupan. Kulit yang sehat harus memiliki permukaan yang rata, tekstur yang lembut, elastis, dan memiliki warna kulit yang sama. Warna kulit ditentukan oleh ukuran, jumlah dan distribusi pigmen melanin. Pigmen melanin adalah pigmen kecoklatan yang dapat melindungi jaringan kulit dari penghamburan sinar UV.¹ Sinar ultraviolet terdiri dari UVA, UVB serta UVC. Paparan sinar UV mempunyai kontribusi terhadap terjadinya *photoaging* seperti radiasi UVB (290-320 nm) memberikan efek pada kulit superfisial (epidermis) dan menyebabkan kulit terbakar

(*sun burn*), paling sering terjadi kulit terbakar pada jam 10 pagi sampai jam 2 siang. Paparan radiasi UVA (320-400 nm) mempunyai efek penetrasi sinar yang lebih dalam sampai di lapisan dermis sedangkan radiasi UVC (100-290 nm) hampir diserap sempurna oleh lapisan ozon sehingga tidak menimbulkan efek ke kulit.²

Pigmen melanin diproduksi oleh melanosom yang dihasilkan oleh melanosit, proses ini disebut dengan *melanogenesis*. Melanosit dapat dirangsang oleh faktor intrinsik seperti endokrin (hormonal), imun, inflamasi, dan sistem saraf pusat, serta juga faktor ekstrinsik seperti radiasi UV, obat, polusi, dan asap rokok.³ Berbagai produk pencerah kulit saat ini menjadi trend dalam bidang kosmetika. Produk pemutih kulit yang beredar di pasaran

dengan harga murah dapat menghasilkan kulit putih dengan cepat, namun kebalikannya dapat mengakibatkan kerusakan kulit seperti kanker kulit.⁴ Proses pembentukan melanin pada manusia terjadi dengan bantuan biokatalis (enzim) dan sinar UV cahaya matahari. Enzim yang berperan dalam reaksi pencoklatan ini adalah tirosinase. Peranan tirosinase adalah mempercepat terbentuknya melanin dari tirosin. Reaksi pencoklatan oleh tirosinase dapat diinhibisi (dihambat) oleh suatu penghambat reaksi enzimatik berupa ion atau molekul yang disebut tirosinase. Beberapa inhibitor tirosinase, diantaranya asam askorbat, arbutin, asam kojic, merkuri dan hidrokuinon.⁵

Inhibisi tirosinase merupakan salah satu strategi utama untuk mencegah hiperpigmentasi kulit.⁶ Enzim tirosinase mengkatalisis dua reaksi utama dalam biosintesis melanin, yaitu hidrosilasi L-tirosin menjadi L-dopa dan oksidasi L-dopa menjadi dopakuinon.⁷ Senyawa dopakuinon mempunyai kereaktifan yang sangat tinggi sehingga dapat mengalami polimerisasi secara spontan membentuk dopakrom yang kemudian menjadi melanin. Salah satu cara menghambat pembentukan melanin adalah dengan menghambat aktivitas tirosinase. Oleh karena itu senyawa yang dapat menghambat aktivitas tirosinase (inhibitor tirosinase) kemungkinan dapat dimanfaatkan sebagai pemutih kulit.

Tirosinase ditemukan pada mamalia, buah-buahan dan juga dalam proses pencoklatan secara enzimatik. Inhibisi terhadap enzim tirosinase untuk mengatur metabolisme pigmentasi telah menarik banyak perhatian terutama dalam dunia kosmetika. Oleh karena itu, beberapa senyawa aktif yang berasal dari tumbuhan diteliti sebagai inhibitor tirosinase untuk menghindari produksi melanin

secara berlebihan pada lapisan epidermal, sehingga dapat digunakan sebagai bahan kosmetika, atau sebagai bahan pemutih kulit.⁸ Senyawa polifenol (flavonoid) yang merupakan kelompok terbesar mempunyai efek dapat menghambat proses melanogenesis sebagai *tyrosinase inhibitory*. Polifenol juga mempunyai efek melindungi kulit dari radiasi UV yang dapat mengakibatkan terjadinya kanker kulit. Polifenol memiliki efek anti inflamasi, imunomodulator, memperbaiki DNA yang rusak, dan memperbaiki fungsi sel, dapat pula sebagai fotoprotektif.⁹ Polifenol merupakan kelompok tirosinase inhibitor terbesar sampai sekarang.¹⁰ Antioksidan alamiah umumnya banyak terdapat dalam tanaman yang berguna dapat mencegah kerusakan kulit karena penuaan, sinar matahari ataupun kanker. Banyak penelitian menemukan bahwa antioksidan dapat meningkatkan produksi kolagen, mencegah kerusakan kulit karena UVA dan UVB, mengoreksi masalah pigmentasi pada kulit, serta memperbaiki situasi radang pada kulit.²

Akhir-akhir ini penggunaan antioksidan semakin meningkat, baik secara oral maupun topikal untuk mencegah dan mengobati penuaan kulit. Banyak produk perawatan kulit menggunakan bahan alami yang mengandung antioksidan, baik yang terdapat dalam buah, daun, bunga, akar, dan bagian-bagian lain dari tanaman.^{11,12} Beberapa zat yang mempunyai efek sebagai antioksidan adalah vitamin C, vitamin E, selenium, zinc, silymarin, soy isoflavones, dan tea polyphenols, serta mempunyai efek lain sebagai anti kanker.¹³

Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) merupakan tanaman liar yang memiliki banyak manfaat, diantaranya sebagai sumber antioksidan alami. Penelitian

mengenai kecombrang telah dirintis oleh peneliti sebelumnya dengan menganalisis kandungan kimia bunga kecombrang yang terdiri dari alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid, saponin dan minyak atsiri yang diduga memiliki potensi sebagai antioksidan.¹⁴ Kandungan fitokimia bunga, batang, rimpang dan daun kecombrang hasil penelitian Naufalin (2005) diperoleh senyawa alkaloid, saponin, tanin, fenolik, flavonoid, triterpenoid, steroid dan glikosida yang berperan sebagai antioksidan.¹⁵ Pada rimpang ditemukan senyawa alkaloid, flavonoid, dan minyak atsiri yang bertindak sebagai antioksidan.¹⁶ Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa ekstrak kecombrang memiliki antioksidan yang tinggi yaitu sebesar 92,92% dalam 0,5 g/mL ekstrak kecombrang dengan pelarut etanol.¹⁷ Hasil penelitian oleh Asmah dan Yan (2010) tentang aktivitas antioksidan menggunakan senyawa BHT (Hydroxytoluene Butylated) menyatakan bahwa bunga kecombrang (*Etilingera elatior*, Jack) dalam keadaan segar memiliki kandungan antioksidan sebesar 1,45 % sedangkan dalam keadaan kering (menggunakan *freeze dried*) sebesar 11,45%.¹⁸

Hasil penelitian oleh Naufalin dan Rukmini (2011) menunjukkan bahwa kandungan antioksidan hasil ekstraksi tanaman kecombrang pada bunga 61,61%-83,17%, pada batang 57,42%-84,65%, pada daun antara 40,64%-60,40%, rimpang antara 58,40%-69,66%.¹⁹ Hasil penelitian Naufalin dan Rukmini (2014) aktivitas antioksidan formula nanocapsul dari buah kecombrang adalah 32,165% dan total fenolik sebanyak 289,86 mg/100 g.²⁰ Sementara hasil penelitian Handayani, dkk (2014) daun kecombrang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan IC_{50} 30,65 μ g/mL.²¹

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu Spektrofotometer UV-VIS (Apel), Corong buchner, bejana maserasi dan timbangan analitik (Sortorius), pH meter (schot), rotavapor, , mikro pipet (akura825®). Bahan-bahan yang digunakan yaitu Kulit buah Kecombrang, Etanol 96%, Etanol 50%, Larutan dapar fosfat (50 mM pH 6,8), Larutan L-tirosin (sigma®), enzim tirosinase(sigma®), Metanol, Serbuk Mg (Merck), HCl P (merck)

Prosedur penelitian

Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahapan seperti: pengambilan sampel buah kecombrang dilakukan dengan dengan metode Random sampling. Kulit buah kecombrang dikeringkan pada suhu kamar kemudian diserbukkan. Selanjutnya, dilakukan ekstraksi terhadap semua zat yang terdapat di dalam serbuk kulit buah kecombrang dengan cara di maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dilakukan pengujian senyawa flavonoid pada ekstrak etanol kulit buah kecombrang namun sebelumnya ditentukan panjang gelombang maksimum. Tahap berikutnya, analisis kinerja inhibisi ekstrak. Kinerja inhibisi diukur melalui absorbansi larutan sampel menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang sinar tampak 475 nm. Absorbansi yang terukur diubah menjadi presentasi aktivitas inhibisi tirosinase berdasarkan Chang *et al* (2005) dengan rumus sebagai berikut:⁷

$$\% \text{ Inhibisi Tirosinase} = \frac{[(A-B)/A]}{1} \times 100$$

Keterangan: **(A)**: Absorbansi larutan kontrol positif (Larutan L-tirosin 0,244 mM dalam dapar fosfat (50 mM pH 6,8), Etanol 50%, dan larutan tirosinase 0,1 mg/mL); **(B)**: Absorbansi larutan uji (Larutan L-tirosin 0,244 mM dalam dapar fosfat, larutan sampel dan larutan tirosinase 0,1 mg/mL).

Pengujian Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Kecombrang (Etilingera elatior (Jack) R.M.Sm) Sebagai Inhibitor Tirosinase

Uji Senyawa flavonoid secara kualitatif

Ekstrak kental dari masing-masing pelarut dilarutkan dalam 1 mL pelarutnya, kemudian ditambahkan 1 gram serbuk Mg dan 10 mL HCl pekat. Jika larutan menghasilkan warna kuning menunjukkan adanya flavonoid di dalam ekstrak sampel.²²

Pengujian Aktivitas Inhibisi Tirosinase

Metode yang digunakan oleh Ozer *et al* (2007)²³ dengan sedikit modifikasi. Aktivitas hambatan tirosinase ditentukan dengan menggunakan Spektrofotometer. Sebanyak 2 mL larutan L-tirosin 0,244 mM dalam dapar fosfat (50 mM pH 6,8), 0,9 mL Larutan sampel (2mg/mL ; 2,5 mg/mL) dan 0,1 mL larutan tirosinase (0,1 mg/mL) dipipet kedalam vial. Larutan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Aktivitas inhibisi tirosinase ditentukan

dengan mengukur absorbansi larutan uji dengan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum 475 nm. Absorbansi yang terukur merupakan absorbansi pembentukan produk (dopakrom). Dilakukan langkah-langkah diatas pada larutan pembanding hidroquinon (2 g/mL; 4 g/mL). Absorbansi yang terukur diubah menjadi presentasi aktivitas inhibisi tirosinase berdasarkan Chang *et al* (2005) dengan rumus sebagai berikut:⁷

$$\% \text{ Inhibisi Tirosinase} = \frac{DK - DK'}{DK} \times 100 = \frac{[A - B]}{A} \times 100.$$

Keterangan: **(DK)**: Dopokrom yang terbentuk tanpa adanya inhibitor; **(DK')**: Dopokrom yang terbentuk dengan adanya inhibitor; **(A)**: Absorbansi larutan kontrol (Larutan L-tirosin 0,244 mM dalam dapar fosfat, Etanol 50%, dan larutan tirosinase 0,1 mg/mL); **(B)**: Absorbansi larutan uji (Larutan L-tirosin 0,244 mM dalam dapar fosfat, larutan sampel dan larutan tirosinase 0,1 mg/mL).

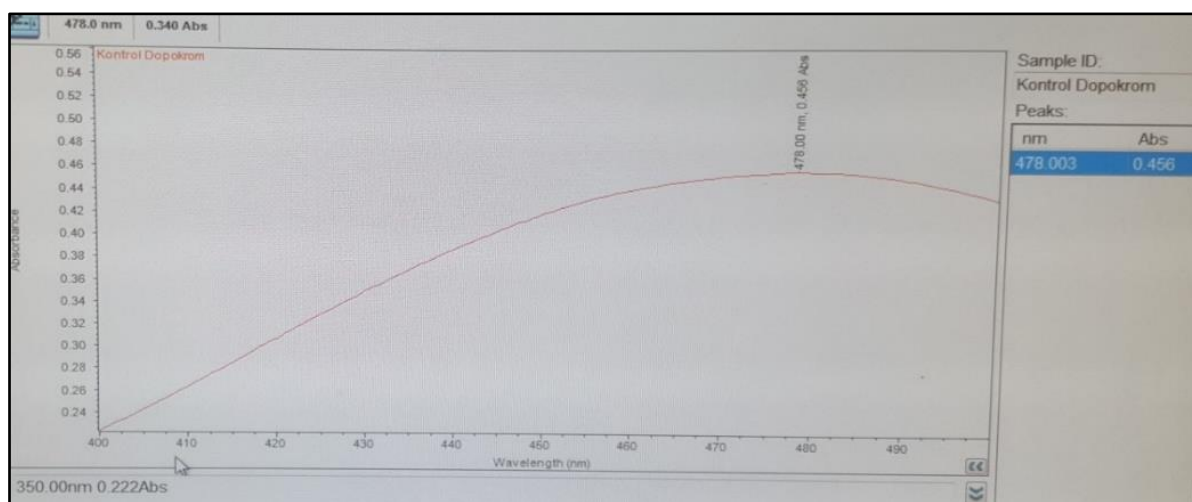
HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Ekstraksi dan % rendamen ekstrak etanol Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm)

Ekstrak Kulit buah Kecombrang	Pelarut etanol (mL)	Bobot sampel (g)	Hasil ekstrak (g)	Rendamen ekstrak (%)
Replikasi 1	800	50,0449	3,8763	7,746
Replikasi 2	800	50,0277	3,9615	7,92
Replikasi 3	800	50,0971	3,9714	7,93

Tabel 2. Hasil Uji Kualitatif senyawa Flavonoid

Sampel	Hasil
+ 1 mL ethanol 50% + 1 g serbuk Mg + 10 mL HCl p	Positif Berwarna Kuning



Gambar 1. Penentuan panjang gelombang maksimum serapan dopokrom

Kecombrang (*Etilingera elatior* (Jack) R.M.Sm) merupakan salah satu jenis tanaman dari suku *Zingiberaceae*. Tanaman ini dapat di gunakan sebagai bahan pangan dan juga digunakan dalam pengobatan. Bunga, batang, rimpang, dan daun kecombrang mengandung senyawa bioaktif seperti polifenol, alkaloid, flavonoid, steroid, saponin dan minyak atsiri yang memiliki potensi sebagai antioksidan.¹⁵

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Digunakan metode maserasi karena metodenya lebih mudah dari pada metode lain dalam proses ekstraksinya tidak menggunakan pemanasan, dimana pemanasan ini dapat membuat kadar dari fenol berkurang, maserasi merupakan cara penyarian sederhana dimana

cairan penyari akan menembus dinding sel tanaman dan masuk ke rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel maka larutan yang terpekat akan di desak keluar.²⁴ Metode maserasi juga merupakan metode yang paling sederhana, dimana pengerjaannya yang tidak begitu rumit dan alat – alat yang digunakan juga sederhana sehingga dapat memudahkan penelitian yang dilakukan dan waktu yang digunakan juga relatif singkat yaitu berkisar antara 3-10 hari tergantung dari ekstrak yang dimaserasi dan jumlah ekstrak yang di inginkan.²⁴

Tabel 3. Data Aktivitas Hambatan Tirosinase Dari Larutan Uji

Konsentrasi Larutan Uji (mg/mL)	Absorbansi	Persen Inhibisi (%)
2	0,201	55,92
2,5	0,198	56,58

Tabel 4. Data Aktivitas Hambatan Tirosinase Dari Larutan Pemanding

Konsentrasi Larutan Pemanding (g/mL)	Absorbansi	Persen Inhibisi (%)
2	0,352	22,59
4	0,343	24,78

Penelitian diawali oleh ekstraksi serbuk kulit buah kecombrang menggunakan pelarut etanol. Dari proses maserasi dihasilkan ekstrak cair yang kemudian di uapkan hingga diperoleh ekstrak kental dan hasil persen rendemen yang dapat dilihat pada tabel 1. Penentuan persen rendemen ini bertujuan untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terbawa oleh pelarut, namun tidak dapat menentukan jenis senyawa yang terbawa tersebut. Dari data tersebut diperoleh untuk masing-masing replikasi 7,746, 7,92% dan 7,93%.

Pada penelitian ini digunakan pelarut etanol untuk mengekstrak senyawa-senyawa

bioaktif yang bersifat polar, seperti flavonoid. Dimana Senyawa polifenol (flavonoid) yang merupakan kelompok terbesar mempunyai efek dapat menghambat proses melanogenesis sebagai *tyrosinase inhibitory*. Berdasarkan hal tersebut maka senyawa flavonoid inilah yang diduga memiliki efek depigmentasi. Beberapa inhibitor tirosinase, diantaranya asam askorbat, arbutin, asam kojic, merkurio dan hidrokuinon.⁵ Inhibisi tirosinase merupakan salah satu strategi utama untuk mencegah hiperpigmentasi kulit.⁶ 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.²⁵ Selanjutnya untuk menguji keberadaan kandungan flavonoid didalam kulit buah kecombrang dilakukan uji identifikasi kandungan flavonoid. Hasil menunjukkan terjadinya perubahan warna dari coklat pekat menjadi kuning. Hasil reaksi serbuk Mg dengan HCl akan menghasilkan ion magnesium dan gas hydrogen. Ion magnesium diduga akan berikatan dengan senyawa flavonoid yang terdapat pada ekstrak etanol kulit buah kecombrang membentuk kompleks berwarna kuning. Berdasarkan uji kualitatif tersebut dapat disimpulkan bahwa dalam ekstrak etanol kulit buah kecombrang terkandung senyawa golongan flavonoid.

Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk menentukan panjang gelombang pada pengukuran serapan untuk pengujian sampel terhadap penghambatan aktivitas tirosinase. Berdasarkan hasil pengukuran, diperoleh panjang gelombang maksimum yaitu pada panjang gelombang 478,003 nm dengan absorbansi 0,456. Pada panjang gelombang ini didapatkan puncak serapan yang tinggi, artinya terjadi pembentukan dopokrom yang paling banyak. Panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada Gambar 1. Tirosinase adalah monooksigenase yang mengandung Cu dimana enzim ini berperan sebagai katalisator pada reaksi o-hidroksilasi monofenol menjadi bentuk difenol (monofenol) dan oksidasi difenol menjadi o-quinon (difenol). Tirosinase berperan penting dalam pembentukan melanin selama proses melanogenesis karena tirosinase mampu menghidroksilasi L-Tirosin (monofenol) menjadi L-Dopa (difenol) dan mengoksidasi L-

Dopa menjadi dopaquinon (senyawa kuinon). Dopaquinon yang terbentuk akan bereaksi spontan membentuk dopokrom.²⁶ Dalam reaksi enzimatik terdapat 2 substrat yang berperan, yaitu L-tirosin dan L-Dopa. Pada penelitian ini digunakan L-Tirosin.

Dari data Tabel 3 dapat dilihat untuk larutan uji dari ekstrak etanol kulit buah kecombrang konsentrasi 2 mg/mL memiliki daya inhibisi 55,92% dan konsentrasi 2,5 mg/mL memiliki daya inhibisi 56,58%. Hal ini membuktikan adanya senyawa yang berperan sebagai inhibitor tirosinase di dalam ekstrak etanol kulit buah kecombrang, dimana semakin bertambah konsentrasinya semakin meningkat daya inhibisi tirosinasinya. Hal yang sama terlihat pada data tabel 4 untuk larutan pembanding hidroquinon. yang merupakan inhibitor tirosinase semakin bertambah konsentrasinya maka semakin meningkat daya inhibisinya. Diperoleh daya inhibisi untuk masing-masing larutan pembanding konsentrasi 2 g/mL dan 4 g/mL yaitu 22,59% dan 24,78%. Dengan meningkatnya persentase (%) inhibisi menunjukkan bahwa pembentukan produk (dopokrom) mengalami penurunan. Artinya tirosinase terhambat aktivitasnya untuk menghasilkan produk (dopokrom)

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian ini, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak kulit buah kecombrang dengan konsentrasi 2 mg/mL mampu menghambat sebesar 55,92% dan konsentrasi 2,5 mg/mL mampu menghambat sebesar 56,58%

DAFTAR PUSTAKA

1. Paul AJ. Anatomy and Physiology of the Skin Journal of the Dermatology Nurses Association. 2011; 3(4):203-213.

Pengujian Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Kecombrang (Etilingera elatior (Jack) R.M.Sm) Sebagai Inhibitor Tirosinase

2. Pandel R, Poljsak B, Godic A, Dahmane R. Skin Photoaging and The Role of Antioxidants in Its Prevention. International Scholarly Research Notices (ISRN Dermatology). 2013; Article ID 930164.
3. Ichihashi M, Ando H, Yoshida M, Niki Y, Matsui M. Photoaging of the Skin. Journal of Anti Aging Medicine. 2009;6(6):46-59.
4. Hartanti L, Setiawan HK. Inhibitory Potential Of Some Synthetic Cinnamic Acid Derivatives Towards Tyrosinase Enzyme. Indo. J. Chem. 2009;9(1):158-168.
5. You J, Jae KN, Ji HL, Hae YC. 4,4-Dihydroxybiphenyl as a New Potent Tyrosinase Inhibitor. Biological and Pharmaceutical Bulletin. 2005;28(2):323-327.
6. Nerya O, Musa R, Khatib S, Tamir S, Vaya J. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the effect of hydroxyl positions and numbers. Phytochemistry. 2004;65: 1389-1395.
7. Chang TS, Ding HY, Lin HC. Identifying 6,7,4'-Trihydroxyisoflavone as a potent Tyrosinase Inhibitor. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2005;69(10): 1999-2001.
8. Rohaeti E, Batubara I, Lieke LDNA, Darusman LK. Potensi Ekstrak Rhizophora sp sebagai Inhibitor Tirosinase. Bogor: Prosiding Seminar Nasional Sains III (Biochemistry). 2010;196-201.
9. Adhami VM, Afaq F, Ahmad N. Suppression of Ultraviolet B Exposure-mediated Activation of NF-kappaB in Normal Human Keratinocyte by Resveratrol. Neoplasia. 2003;5(1):74-82.
10. Chang TS. *An Updated Review of Tyrosinase Inhibitors*. Taiwan: Department of Biological Science and Technology. National University Tainan, 2009.
11. Baumann L, Alleman IB. *Depigmentation Agent*. In Baumann L, Saghari S, Weisberg E, editors. *Cosmetic Dermatology. 2nd edition*. New York: McGraw Hill. 2009. p 280-288.
12. Stallings AF, Lupo MP. Practical uses of botanicals in skin care. J Clin Aesthet Dermatol. 2009;2(1):36-40.
13. Pinnel SR. Cutaneous Photodamage, Oxidative Stress, and Topical Antioxidant Protection. Journal of the American Academy of Dermatology. 2003;48:1-22.
14. Tampubolon OT, Suhatsyah S, and Sastraprajda S. *Penelitian pendahuluan kimia kecombrang (Nicolaia speciosa Horan)*. Yogyakarta: Risalah Simposium Penelitian Tumbuhan Obat III. Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta, 1983.
15. Naufalin R. *Kajian Sifat Antimikroba Ekstrak Bunga kecombrang (Nicolaia speciosa Horan) Terhadap Berbagai Mikroba Patogen dan Perusak Pangan (Disertasi)*. Bogor: Sekolah Pascasarjana. Institut Pertanian Bogor, 2005.
16. Antoro ED. *Skrining Fitokimia Rimpang Nicolaia speciosa Horan Secara Mikrokimiawi Kromatografi Lapis Tipis dan Spektrofotometri UV*. Jogjakarta: FF-UGM, 1995.
17. Krismawati A. *Uji Toksisitas Beberapa Jenis Tanaman Indonesia Yang Dipercaya Dapat Menurunkan Berat Badan (Ceremai, Jati Belanda, Kunci Pepet, Delima Putih, Bangle, Kemuning) Terhadap Proliferasi Sel limfosit Manusia Secara In Vitro (Skripsi)*. Bogor: IPB, 2007.
18. Asmah R and Yan SW. Comparison of Total Phenolic Contents and Antioxidant activities of Turmeric Leaf, Pandan Leaf, and Torch Ginger Flower. International Food Research Journal. 2010. 17: 417-423
19. Naufalin, Rifda and Rukmini HS. *Potensi Antioksidan Hasil Ekstraksi Tanaman kecombrang (Nicolaia speciosa, Horan) Selama Penyimpanan*. Purwokerto: Fakultas Pertanian. Universitas Jenderal Sudirman. 2011.
20. Naufalin R and Rukmini HS. *International Conference on Nutrition and Food Sciences*. Singapore: IPCBEE. IACSIT Press, 2014.
21. Handayani V, Ahmad AR, Sudir M. Uji Aktivitas Ekstrak Metanol Bunga dan Daun Patikala (*Etilingera elatior (Jack) R.M.Sm*) Menggunakan Metode DPPH. Pharm Sci. 2014;1(2):86-93.
22. Markham KR. Cara Mengidentifikasi Flavonoid, diterjemahkan oleh Kosasih

Pengujian Aktivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Kecombrang (Etilingera elatior (Jack) R.M.Sm) Sebagai Inhibitor Tirosinase

- Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB, 1988.
23. Ozer O, Mutlu B, Kivcak B. Antityrosinase Activity of Some Plant Extracts and Formulations containing Ellagic Acid. *Pharmaceutical Biology*. 2007;45(6):519-524.
24. Ditjen POM. *Farmakope Indonesia. Ed III*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 1979.
25. Kim YJ, Kyung KJ, Lee JJH, and Chung HY. 4-4-Dihydroxybiphenyl as a New potent Tyrosinase Inhibitor. *J. Biol. Pharm. Bull.* 2004;28(2):323-327.
26. Ramsden CS and Patrick AR. *Mechanistic Studies of Tyrosinase Suicide Inactivation*. Special Issue Reviews and Accounts. 2010: 260-274.