

AKTIVITAS PENGHAMBAT ENZIM TIROSINASE EKSTRAK ETANOL, FRAKSI N-HEKSAN, FRAKSI ETIL ASETAT DAUN PUCUK MERAH (*SYZYGium MYRTIFOLIUM* WALP.)

Rafli Mulkan Mustaqim¹⁾, Purwati²⁾

¹Fakultas Farmasi, Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta, Indonesia

SUBMISSION TRACK

Submitted : 23 Agustus 2024
Accepted : 26 Agustus 2025
Published : 27 Agustus 2025

KEYWORDS

Pucuk merah, flavonoid, tyrosine, IC₅₀.

KORESPONDENSI

Phone:

E-mail:

purwati@uta45jakarta.ac.id

A B S T R A C T

As a organism, sunlight is an essential component of life, assisting in the synthesis of vitamin D, supporting bone health, and increase the immune system. However, continuous exposure to sunlight can lead to erythema, collagen damaged, and dark skin. The darkening of skin is caused by the activity of the enzyme tyrosinase, which converts L-tyrosine into melanin. Pucuk Merah leaves (*Syzygium myrtifolium* Walp.) contained flavonoids, tannins, saponins, and triterpenoids. Flavonoids are known to inhibit tyrosinase activity and act as Cu²⁺ metal chelators. This study aims to quantify the total flavonoid content and determine the IC₅₀ values of pucuk merah leaves. A total of 500 g of pucuk merah leaf was extracted using ultrasound-assisted extraction in 10 L of 70% ethanol for 40 minutes, followed by fractionation with n-hexane and ethyl acetate. Total flavonoid content was measured using quercetin as a standard at concentrations of (2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 ; 10,0) ppm. The absorbance was recorded at a wavelength of 418 nm, yielding a regression equation of $y = 0,0451x + 0,1570$ with a correlation coefficient (r) of 0,9977. The average total flavonoid contents for the ethanol extract and ethyl acetate fraction were 0,20% w/w $\pm$ 0,0042 and 0,31% w/w $\pm$ 0,0067. Enzyme inhibitory activity of the samples was performed at concentrations (1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625) ppm using kojic acid standard as a positive control. The results showed that kojic acid was the highest in tyrosinase enzyme inhibition activity with an IC₅₀ value of 38,40 μ g/mL in the strong category followed by ethanol extract IC₅₀ 181,25 μ g/mL in the medium category and ethyl acetate fraction with an IC₅₀ value of 341,63 μ g/mL in the medium category.

2025 All right reserved This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license

PENDAHULUAN

Indonesia ialah salah satu negara dari tiga belas negara yang terletak di daerah garis khatulistiwa. Hal ini menyebabkan Indonesia sebagai negara tropis dan memiliki potensi besar terhadap pancaran sinar matahari (Puteri dkk, 2020). Sebagai makhluk hidup, sinar matahari penting dibutuhkan untuk kelangsungan hidup manusia. Sinar matahari penting untuk membantu tubuh memproduksi vitamin D, yang mendukung kesehatan tulang dan sistem imun (Septywardani & Permadi, 2021). Terlepas dari manfaatnya sinar matahari terhadap manusia, radiasi sinar ultraviolet (UV) yang ada dalam sinar matahari dapat berdampak merugikan bagi tubuh. Jika sinar UV terpapar secara berlebihan dan berkepanjangan maka dapat menyebabkan kemerahan kulit (eritema), warna kulit menjadi gelap (hiperpigmentasi), penuaan kulit, rusaknya kolagen kulit sehingga kulit tidak elastis, dan kanker kulit, bahkan sinar UV A dapat menembus lapisan dermis yang menyebabkan kerusakan DNA (Erwiyani dkk, 2021).

Dengan sendirinya, organ tubuh yang terbesar yaitu kulit berupaya untuk memproteksi dirinya dan organ yang ada di dalamnya dari sinar UV melalui berbagai mekanisme seperti mengeluarkan keringat dan membentuk pigmen warna kehitaman atau kecoklatan yang disebut

sebagai melanin. Melanin bertindak sebagai *barrier* dari cahaya matahari agar tidak menembus ke lapisan dermis (Azzahra dkk, 2022). Namun, jika sinar UV terpapar secara terus – menerus maka diikuti juga dengan bertambahnya pembentukan melanin yang menyebabkan kulit menjadi lebih gelap dan munculnya noda – noda atau flek hitam pada bagian tubuh yang terpapar. Hal inilah yang menyebabkan beberapa orang merasa tidak nyaman dengan warna kulit gelap. Menurut Arwanda (2021) masyarakat penduduk Asia terutama Indonesia memiliki kulit yang putih sering dijadikan sebagai standar warna kulit yang ideal.

Melanin adalah pigmen warna kecoklatan atau kehitaman yang berguna untuk melindungi kulit dari paparan sinar UV. Melanin terbentuk karena adanya asam amino berupa tirosin melalui serangkaian reaksi oksidasi dan polimerisasi yang melibatkan bantuan enzim tirosinase dan sinar UV. Terdapat dua jenis pigmen dimiliki oleh melanin, yaitu pigmen berwarna coklat-hitam atau eumelanin dan pigmen warna kuning – kemerahan atau pheomelanin (Cao dkk, 2021). Enzim tirosinase memiliki peranan yang penting dalam pembentukan pigmen kulit atau melanogenesis. Dalam prosesnya, enzim tirosinase bertugas sebagai katalis untuk menghidroksilasi asam amino tirosin menjadi L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA) kemudian L-DOPA teroksidasi menjadi *dopaquinone* hingga terbentuklah melanin (Mostert, 2021). Berdasarkan mekanisme tersebut, pembentukan melanin dapat dihambat dengan berbagai cara, salah satunya ialah dengan agen penghambat aktivitas enzim tirosinase sehingga melanin tidak dapat diproduksi dan mengurangi masalah estetika kulit.

Agan kimia yang digunakan sebagai penghambat aktivitas enzim tirosinase telah banyak digunakan seperti hidrokuinon, merkuri, asam kojat, arbutin, dan asam askorbat. Namun, penggunaan senyawa tersebut memiliki efek samping, seperti hidrokuinon berefek iritasi kulit dan sensasi terbakar. Asam kojat, asam askorbat, dan arbutin dengan efek samping karsinogenesis dan mutagenesis (Goelzer *et al.*, 2022). Oleh karena itu, perlu adanya eksplorasi agen penghambat enzim tirosinase yang aman untuk digunakan.

Senyawa bahan alam atau metabolit sekunder dapat menjadi salah satu agen penghambat enzim tirosinase yang sering dilirik sebagai agen alternatif karena penggunaannya dinilai aman. Penghambat enzim yang dapat digunakan sebagai yakni golongan flavonoid dan fenolik. Obaid *et al* (2021) melaporkan flavonoid dapat secara langsung menghambat aktivitas enzim tirosinase dan bertindak sebagai inhibitor kompetitif dengan substrat. Gugus hidroksil pada cincin A dan cincin B flavonoid berperan sebagai antioksidan yang juga membantu kuat sebagai penghambat enzim tirosinase (Abidin dkk, 2019).

Tanaman pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) merupakan jenis tanaman hias yang termasuk ke dalam keluarga *myrtaceae*. Di Indonesia tanaman pucuk merah tumbuh dengan sangat baik karena tanaman ini cocok hidup di daerah tropis seperti di Indonesia (Sunarti, 2021). Tanaman pucuk merah marak dijadikan sebagai tanaman hias karena memiliki warna yang beragam. Bagian pucuk daun (daun muda) berwarna merah dan bagian bawahnya berwarna hijau. Warna merah pada daun menunjukkan tinggi akan antosianin. Antosianin adalah pigmen yang berperan memberi warna merah, ungu, atau biru pada tumbuhan (Syafriana & Wiranti, 2022). Namun, pemanfaatan pucuk merah sebagai obat belum semarak dengan penggunaannya sebagai tanaman hias. Kurangnya pemanfaatan ini diakibatkan karena ketidaktahuan masyarakat akan potensinya untuk dijadikan sebagai obat – obatan.

Pucuk merah memiliki berbagai senyawa kimia yang berguna untuk meningkatkan kesehatan manusia diantaranya dimethyl cardamonin, sianidin-glikosida, flavonoid, tanin, saponin, steroid, dan triterpenoid (Syafriana & Wiranti, 2022)^a. Daun pucuk merah mengandung banyak senyawa golongan flavonoid, studi ini disampaikan Nasution (2024) kadar flavonoid total dari daun pucuk merah sebesar 9,45 mg QE / gram ekstrak. Studi lain juga dilakukan Sugihartini & Maryati (2022) ekstrak etanol 96% daun pucuk merah terkandung

senyawaan fenolik sebesar 371,833 mg GAE/g ekstrak dengan nilai IC_{50} sebesar 2,195 ppm lebih besar daripada kontrol positif vitamin E yakni 2,59 ppm yang tergolong sangat kuat. Berdasarkan latar belakang tersebut, masih terbatasnya studi mengenai pemanfaatan daun pucuk merah terhadap aktivitas penghambat enzim tirosinase. Oleh karena itu, peneliti bertujuan untuk melakukan uji aktivitas penghambat enzim tirosinase daun pucuk merah.

METODE PENELITIAN

ALAT DAN BAHAN

Peralatan yang digunakan terdiri dari alat modern berupa instrumen dan alat penunjang seperti alat gelas. Alat instrumen yang digunakan yaitu neraca analitik merek *sartorius*, Spektrofotometer UV-Vis merek *Shimadzu*, pH meter merek *Hanna*, *microplate 96 well*, ekstraktor ultrasonik merek *Antiteck*. Alat – alat gelas yang digunakan yaitu labu takar, pipet mohr, tabung reaksi, corong pisah, gelas ukur, gelas piala, toples kaca, pipet tetes, dan oven.

Bahan yang digunakan terdiri dari bahan uji dan bahan kimia. Bahan uji yang digunakan ialah sampel daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.). Bahan kimia yang digunakan yaitu standar kuersetin, standar asam kojat, etanol 70%, n-heksan, etil asetat, akuades, asam asetat anhidrat, aluminium klorida ($AlCl_3$), asam klorida (HCl), besi III klorida ($FeCl_3$), kloroform ($CHCl_3$), asam asetat (CH_3COOH), mononatrium fosfat (NaH_2PO_4), dinatrium fosfat (Na_2HPO_4), enzim tirosinase, substrat L-tirosin, dimetil sulfosida (DMSO), natrium hidroksida (NaOH).

Determinasi Tanaman

Pemeriksaan atau determinasi daun pucuk merah dilakukan di Lembaga Determinasi Lansida Herbal Technology, Kecamatan Umbulharjo, Kota Yogyakarta, Provinsi DI Yogyakarta.

Preparasi Daun Pucuk Merah

Sampel daun pucuk merah sebanyak 1,8 kg dipetik dari taman Perumahan Bukit Cimanggung City, Bogor Utara, Kota Bogor kemudian daun dikumpulkan. Daun dipisahkan dari ranting – ranting lalu dicuci dan dikeringkan dengan cara diangin – anginkan. Kemudian, daun dihaluskan dengan blender (Furi dkk, 2022).

Ekstraksi Daun Pucuk Merah

Ekstraksi dilakukan dengan cara ekstraksi ultrasonik menggunakan etanol 70%. Sebanyak 500 gram sampel kering dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambah pelarut etanol 70% 10L dengan rasio bahan : pelarut (1 : 20) selama 40 menit pada frekuensi 38 kHz. Perlakuan ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Ekstrak disaring lalu dipekatkan menggunakan rotari evaporator hingga diperoleh ekstrak kental (Furi dkk, 2022). Ekstrak kental dipekatkan kembali dengan *water bath* yang diatur suhunya 50 – 60 °C (Rujianti dkk, 2020).

Fraksinasi Ekstrak Daun Pucuk Merah

Ekstrak kental etanol ditimbang sebanyak 100 g lalu dilarutkan dengan 200 mL akuades hangat dalam gelas piala kemudian diaduk homogen. Larutan dipindahkan ke corong pisah lalu ditambahkan n-heksan 200 mL kemudian campuran dikocok hingga terfraksi sempurna kemudian didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Kedua lapisan dipisahkan, lalu lapisan bawah (lapisan air) difraksi kembali dengan n-heksan dengan cara yang sama hingga 3x pengulangan. Fraksi n-heksan digabungkan lalu dipekatkan dengan rotari evaporator hingga diperoleh fraksi kental.

Lapisan air difraksinasi kembali dengan etil asetat sebanyak 200 mL dengan pengerjaan yang sama seperti fraksinasi n-heksan. Kemudian, fraksi etil asetat dipekatkan dengan rotari evaporator hingga diperoleh fraksi kental dengan suhu 50 -60 °C (Furi dkk, 2022).

Parameter Non-Spesifik Ekstrak

a. Perhitungan Rendemen

Persen rendemen diperoleh dengan cara membagi bobot ekstrak kental dengan bobot simplisia yang digunakan. Persen rendemen dari ditentukan dengan rumus : (Syafriana & Wiranti, 2022).

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{bobot ekstrak pekat (g)}}{\text{bobot simplisia (g)}} \times 100\%$$

b. Kadar Air

Penetapan kadar air dilakukan dengan cara gravimetri, yakni didasarkan pada mencari bobot yang hilang. Sejumlah sampel 1 gram ditimbang dalam cawan porselen yang telah diketahui bobot kosongnya, lalu dimasukkan oven suhu 105 °C selama 5 jam. Lalu, cawan didinginkan dalam desikator dan ditimbang kembali. Penetapan kadar air dilakukan secara triplo (BPOM, 2000).

$$\text{Kadar air (\%)} = \frac{(W_1 - W_2)(g)}{\text{Sampel (g)}} \times 100\%$$

W_1 (bobot sebelum dioven)

W_2 (bobot sesudah dioven)

c. Kadar Abu

Penetapan kadar abu juga dilakukan dengan cara gravimetri yang didasarkan pada bobot yang bertambah. Sejumlah sampel ditimbang 2 gram dalam cawan porselen yang telah diketahui beratnya. Lalu, dimasukkan dalam tanur suhu 600 – 700 °C. Kemudian, cawan didinginkan dengan desikator lalu ditimbang kembali. Penetapan kadar air dilakukan secara triplo BPOM, 2000).

$$\text{Kadar abu (\%)} = \frac{(W_2 - W_1) (g)}{\text{Bobot sampel (g)}} \times 100\%$$

W_2 (bobot sesudah pengabuan)

W_1 (bobot sebelum pengabuan)

Skrining Fitokimia

a. Flavonoid

Sebanyak 0,25 gram sampel ditambahkan dengan 10 mL akuades lalu sampel dididihkan lalu disaring. 0,5 mL filtrat diambil lalu ditambahkan 5 mL AlCl_3 1%, lalu dikocok dan diamati. Positif flavonoid ditandai dengan terbentuknya warna larutan kuning (Lindawati & Ni'ma, 2022).

b. Saponin

Sebanyak 0,25 gram sampel ditambahkan dengan 25 mL akuades panas diaduk lalu disaring. Filtrat diambil 10 mL ke dalam tabung reaksi ulir lalu dikocok kuat 10 detik. Terbentuknya buih diamati tidak kurang dari 10 menit setinggi 1 – 10 cm. Jika ditambahkan HCl 2M buih tidak hilang, sampel positif saponin (Syafriana & Wiranti, 2022).

c. Tanin

Sebanyak 0,25 gram sampel ditambahkan dengan 25 mL akuades panas diaduk lalu disaring. Filtrat diambil 3 mL ke tabung reaksi lalu ditetaskan FeCl_3 1%. Positif tanin jika terbentuk warna biru tua atau ungu (Syafriana & Wiranti, 2022).

d. Steroid/Triterpenoid

Sebanyak 0.25 gram sampel ditambahkan dengan 25 mL akuades panas diaduk lalu disaring. Filtrat diambil sebanyak 3 mL lalu ditambahkan asam asetat anhidrat 1 drop lalu CHCl_3 1 drop dan tambahkan H_2SO_4 lewat dinding. Jika terbentuk cincin hijau atau merah triterpenoid ; jika terbentuk hijau atau biru steroid (Syafriana & Wiranti, 2022).

Penetapan Kadar Flavonoid

- a. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin 1000 ppm
Serbuk standar kuersetin ditimbang sebanyak 50 mg lalu dimasukkan ke labu takar 50 mL. Serbuk dilarutkan dengan etanol hingga batas tara lalu larutan dikocok homogen (Deviani dkk, 2024).
- b. Pembuatan Larutan Standar Kuersetin 100 ppm
Larutan 1000 ppm dipipet 2,5 mL lalu dipindahkan labu takar 25,0 mL. Kemudian larutan, diencerkan dengan etanol hingga batas tara lalu dikocok homogen (Deviani dkk, 2024).
- c. Pembuatan Standar Kuersetin (2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 ; 10,0) ppm
Larutan baku standar 100 ppm dipipet (0,4 ; 0,8 ; 1,2 ; 1,6 ; 2,0) mL lalu ke labu takar 20 mL. Masing – masing larutan diencerkan dengan etanol hingga batas tara lalu dikocok. Setiap larutan dipipet 2,0 mL lalu dipindahkan ke tabung reaksi, lalu tiap tabung ditambahkan 3,0 mL etanol lalu ditambahkan 0,2 mL larutan $AlCl_3$ 10%. kemudian ditambahkan 0,2 mL asam asetat 5%. Masing – masing tabung di ad akuades hingga 20,0 mL lalu didiamkan selama 36 menit (Deviani dkk, 2024).
- d. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum Kuersetin
Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan pada salah satu konsentrasi standar kuersetin. Absorbansi larutan kuersetin dibaca pada rentang panjang gelombang 370 – 450 nm. Hasil yang terbaca pada alat digunakan untuk mengukur absorbansi standar dan sampel (Deviani dkk, 2024).
- e. Penentuan Kadar Flavonoid Total
Sampel ditimbang sebanyak 50 mg lalu dilarutkan dengan etanol pada labu takar 50 mL lalu dikocok. Sampel dipipet 2,0 mL ke labu takar 20 mL, lalu ditambahkan 2,0 mL $AlCl_3$ 10%, kemudian ditambahkan 16,0 mL asam asetat 5% lalu dikocok. Larutan sampel dibiarkan selama 36 menit kemudian absorbansi sampel diukur dan kadar flavonoid total sampel ditetapkan dengan rumus (Deviani dkk, 2024). Sampel yang digunakan ialah ekstrak etanol dan fraksi etil asetat.

$$\text{Flavonoid} = \frac{\text{Kons.sampel (ppm)} \times \text{Vol.Sampel (L)} \times Fp}{\text{sampel (gram)}} \times 100\%$$

Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase

1. Penyiapan Larutan Pereaksi

- a. Pembuatan Dapar Fosfat 0,05M pH 6,5
 NaH_2PO_4 ditimbang sebanyak 1,2 gram lalu dilarutkan dalam 200 mL akuades. Lalu, Na_2HPO_4 ditimbang sebanyak 1,43 gram lalu dilarutkan dalam 200 mL akuades. Kedua larutan dicampurkan dan diaduk, lalu pH larutan di adjust hingga 6,5 dengan $NaOH$ 0,1N / HCl 0,1N (Furi dkk, 2022).
- b. Pembuatan Enzim Tirosinase 0,333 KU/mL
Serbuk enzim tirosinase 50 KU dilarutkan oleh dapar fosfat pH 6,5 sebanyak 10 mL sehingga diperoleh konsentrasi enzim 5 KU/mL. Lalu, dipipet sebanyak 1,332 mL ke dalam vial gelap dan di ad dengan dapar fosfat hingga 20 mL sehingga diperoleh konsentrasi enzim 0.333 KU/mL (Furi dkk, 2022).
- c. Pembuatan Substrat L-Tirosin 2m
Substrat L-tirosin ditimbang sebanyak 18,1 mg lalu dimasukkan ke gelas piala. Lalu, substrat L-tirosin dilarutkan dengan 50 mL dapar fosfat pH 6,5 kemudian diaduk (Furi dkk, 2022).
- d. Pembuatan Larutan Asam Kojat

Standar asam kojat ditimbang sebanyak 50 mg dan dilarutkan dalam 50 mL dapat fosfat pH 6,5 dalam labu takar 50 mL. Konsentrasi yang didapat sebesar 1000 ppm. Kemudian, dipipet (10,0 ; 5,0 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,625 ; 0,3125) mL dan dipindahkan ke labu takar 20 mL untuk membuat konsentrasi sampel (500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,625) ppm. Masing – masing standar diencerkan dengan dapat fosfat pH 6,5 hingga batas tara lalu dikocok homogen (Furi dkk, 2022).

e. Preparasi Sampel Uji

Sampel ekstrak etanol dan fraksi etil asetat ditimbang sebanyak 50 mg lalu dilarutkan dengan DMSO 25 mL hingga didapat konsentrasi sampel 2000 ppm. Kemudian, sampel dipipet (10,0 ; 5,0 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,625 ; 0,3125 ; 0,15625) mL dan dipindahkan ke labu takar 20 mL untuk membuat konsentrasi sampel (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,625) ppm. Masing – masing standar diencerkan dengan dapat fosfat pH 6,5 hingga batas tara lalu dikocok homogen (Furi dkk, 2022).

2. Uji Aktivitas Penghambat Enzim Tirosinase

a. Blangko (B)

Blangko pada *microplate 96 well* yang digunakan adalah 70 μ L dapat fosfat pH 6,5 dan dicampurkan dengan enzim tirosinase 30 μ L, dan substrat L-tirosin sebanyak 110 μ L (Furi dkk, 2022).

b. Kontrol Negatif (K-)

Pembuatan larutan kontrol negatif sama halnya dengan pembuatan blangko (B) hanya saja 110 μ L substrat L-tirosin diganti 110 μ L dapat fosfat pH 6,5 (Furi dkk, 2022).

c. Sampel (S)

Sampel dengan konsentrasi (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,625) ppm masing – masing dipipet 70 μ L lalu dicampurkan dengan 30 μ L enzim tirosinase dan 110 μ L L-tirosin (Furi dkk, 2022).

d. Asam Kojat (A)

Larutan standar asam kojat dengan konsentrasi (1000 ; 500 ; 250 ; 125 ; 62,5 ; 31,25 ; 15,625) ppm masing – masing dipipet 30 μ L lalu dicampurkan μ L enzim tirosinase dan 110 μ L L-tirosin (Furi dkk, 2022).

Analisis Data

Data yang terbaca pada alat berupa nilai serapan atau absorbansi. Jika terdapat adanya penghambat aktivitas enzim tirosinase pada ekstrak maka produksi melanin akan terhambat. Data absorbansi yang didapat digunakan untuk menentukan inhibisi (%) dengan rumus :

$$\text{In. Asam Kojat (\%)} = \frac{((B-K-) - (A-K-))}{(B-K-)} \times 100\%$$

$$\text{In. Sampel (\%)} = \frac{((B-K-) - (S-K-))}{(B-K-)} \times 100\%$$

Aktivitas penghambat enzim tirosinase dapat ditetapkan dengan menghitung nilai *inhibitory concentration* (IC₅₀). IC₅₀ adalah konsentrasi yang mampu menghambat enzim tirosinase sebesar 50%. IC₅₀ ditentukan dengan persamaan regresi linier dengan rumus (Furi dkk, 2022) :

$$y = ax + b \rightarrow x = \frac{50-b}{a}$$

*keterangan : a (slope) ; b (intersep) ; x (IC₅₀) ; B (blanko) ; K- (Kontrol negatif) ; S (sampel) ; A (asam kojat)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman pucuk merah dilakukan di Lembaga Determinasi Lansida Herbal Technology, Kecamatan Umbulharjo, Kota Yogyakarta, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta. Determinasi dilakukan guna memastikan keakuratan tanaman yang akan digunakan sebagai sampel uji dalam penelitian. Hasil determinasi menunjukkan bahwa daun pucuk yang dijadikan sampel uji dalam penelitian ini adalah benar sebagai tanaman pucuk merah spesies *Syzygium myrtifolium* Walp.

Preparasi Sampel Daun Pucuk Merah

Preparasi dilakukan dengan cara memetik sampel daun pucuk merah yang berwarna merah saja. Warna merah pada daun menandakan terdapatnya pigmen antosianin yang tinggi sebagai senyawa golongan dari flavonoid (Putri, 2020). Sampel sebanyak 1,8 kg dicuci dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung selama ± 5 hari. Pengeringan dilakukan untuk menghilangkan kadar air yang terdapat dalam sampel sehingga tidak mudah ditumbuhi oleh mikroorganisme seperti jamur dan kapang. Selain itu, pengeringan dilakukan juga untuk disimpan lebih lama karena reaksi enzimatis pada daun terhenti (Fatwami & Riyani, 2023). Sampel yang telah kering dihaluskan dengan blender untuk memperbesar luas permukaan sampel. Semakin besar luas permukaan maka pelarut akan lebih mudah masuk lalu kontak dengan metabolit sekunder sehingga metabolit sekunder akan larut di dalam pelarut (Asworo & Widwastuti, 2023).

Pembuatan Ekstrak Kental dan Fraksinasi

Metode ekstraksi yang dilakukan untuk menarik senyawa daun pucuk merah ialah ultrasonik. Ekstraksi ultrasonik merupakan ekstraksi modern yang menggunakan gelombang ultrasonik dengan frekuensi lebih besar dari 16 kHz (BPOM, 2023). Ekstraksi ultrasonik dipilih karena memiliki beberapa keuntungan yakni waktu yang relatif lebih singkat dan keefektifan dalam memperoleh metabolit sekunder yang terdapat dari daun pucuk merah. Hal ini disebabkan karena gelombang ultrasonik akan memecah dinding sel tumbuhan dan metabolit sekunder yang terdapat di dalam sel ke media ekstraksi (Rifkia & Revina, 2023). Selain itu menurut Sholihah (2017) metode ultrasonik dapat digunakan untuk memperoleh senyawa target berupa golongan fenolik dan flavonoid yang rentan rusak bila dalam suhu panas. Penggunaan etanol 70% sebagai pelarut pengekstrak dipilih karena etanol bersifat sebagai pelarut universal, yakni dapat menarik metabolit sekunder polar hingga nonpolar.

Ekstrak kental yang didapat dilakukan penyederhanaan senyawa dengan cara fraksinasi. Fraksinasi dilakukan dengan dua pelarut yang sifatnya berbeda yakni pelarut non polar (n-heksan) dan pelarut semi polar (etil asetat). Fraksinasi didasarkan dengan prinsip *like dissolve like* yaitu senyawa akan larut dalam pelarut yang sama, senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar dan sebaliknya (Furi dkk, 2022). Fraksinasi dilakukan dari pelarut yang sifatnya non polar yakni n-heksan untuk menarik senyawa yang sifatnya non polar pada ekstrak lalu dilanjutkan dengan pelarut etil asetat untuk menarik yang sifatnya semi polar.

Hasil Rendemen Ekstrak Etanol

Tabel 1. Rendemen Ekstrak Etanol

Sampel	Bobot Simplisia (gram)	Bobot Ekstrak (gram)	Rendemen (%)
Ekstrak Etanol	500,0	258,0	51,6

Hasil rendemen ekstrak yang diperoleh sebesar 51,6%. Hasil yang diperoleh memenuhi syarat yang ditetapkan oleh Depkes RI (2000) yaitu $>10,0\%$. Hasil penelitian lain juga dilaporkan oleh Syafriana & Wiranti (2022) hasil rendemen daun pucuk merah ekstrak etanol

70% sebesar 51,6%. Hal ini menandakan bahwa, penggunaan alkohol dinilai efektif untuk menarik senyawa flavonoid (polifenol). Ekstrak kental daun pucuk merah yang diperoleh dari 258,0 gram simplisia kering sebesar 500 gram. Sehingga diperoleh persen rendemen sebesar 51,6%. Semakin tinggi nilai persentase rendemen menandakan bahwa ketepatan metode yang digunakan. Hal ini menandakan bahwa metode ultrasonik menggunakan pelarut etanol 70% sebagai pelarut pengekstrak dapat menarik metabolit sekunder yang terdapat pada daun pucuk merah yang ditandakan dengan persen rendemen yang tinggi.

Hasil Rendemen Fraksi n-Heksan dan Fraksi Etil Asetat

Tabel 2. Rendemen Fraksi n-Heksan dan Fraksi Etil Asetat

Sampel	Bobot Ekstrak (g)	Bobot Fraksi (g)	Rendemen (%)
Fraksi n-Heksan	100	0,0286	0,03
Fraksi Etil Asetat	100	11,28	11,28

Dari hasil yang telah didapat, diperoleh hasil bobot fraksi n-heksan dan fraksi etil asetat sebesar 0,0286 gram dan 11,28 gram. Bobot fraksi etil asetat lebih besar dibandingkan bobot fraksi n-heksan, hal ini dikarenakan banyak senyawa – senyawa semi polar yang dapat larut dalam fraksi etil asetat. Namun, pada fraksi n-heksan bobot fraksi yang diperoleh sangat sedikit. Hal ini dapat disebabkan karena senyawa - senyawa yang dapat larut dalam fraksi n-heksan seperti golongan terpenoid, steroid, atau senyawa lain yang bersifat non polar juga sedikit. Studi yang sama juga dilaporkan oleh Panjaitan & Farida (2023) menunjukkan bahwa, bobot fraksi n-heksan menghasilkan bobot fraksi yang lebih kecil dibanding dengan fraksi – fraksi lain menggunakan metode ekstraksi ultrasonik.

Hasil Penetapan Kadar Air Ekstrak

Tabel 3. Kadar Air Ekstrak Etanol

	Bobot Sampel (gram)	Bobot W1 (gram)	Bobot W2 (gram)	Kadar air %	Rata – rata (%)
I	1,0060	33,5868	33,5793	0,74	0,50
II	1,0020	33,5830	33,5796	0,34	
III	1,0013	33,5820	33,5777	0,43	

Penetapan kadar air ini bertujuan untuk mengetahui kandungan air yang ada dalam ekstrak, jika kandungan airnya tinggi maka ekstrak mudah ditumbuhi oleh mikroorganisme seperti jamur, kapang, bakteri sehingga akan memengaruhi sifat fisik atau kimia (Rahmiani, 2019). Jika di dalam ekstrak masih banyak mengandung air artinya membutuhkan waktu yang lama untuk menguapkan seluruh air yang ada dan menandakan bahwa ekstrak belum sepenuhnya kental. Dari hasil penetapan kadar air, diperoleh kadar air sebesar (0,74 ; 0,34 ; 0,43) % b/b dengan rata – rata kadar air sebesar 0,50 % b/b. Hasil yang diperoleh memenuhi syarat yang ditetapkan Depkes RI, 2008 yaitu <10%.

Hasil Penetapan Kadar Abu Ekstrak

Tabel 4. Kadar Abu Ekstrak Etanol

	Bobot Sampel (gram)	Bobot W1 (gram)	Bobot W2 (gram)	Kadar abu (%)	Rata – Rata (%)
I	2,0114	52,5424	52,6001	2,87	2,91
II	2,0123	52,5466	52,6059	2,59	
III	2,0189	52,5535	52,6125	2,92	

Penetapan kadar abu ditujukan untuk mengetahui kandungan mineral anorganik yang terhitung sebagai kadar abu pada sampel. Kadar abu yang tinggi menandakan bahwa suatu bahan memiliki mineral yang tinggi (Amelia dkk, 2021). Namun kandungan mineral yang tinggi juga berdampak buruk bagi kesehatan seperti menyebabkan diare, mual, dan perut kram sehingga perlu adanya batas kandungan mineral pada suatu sampel. Zat kimia yang menempel dalam sampel terbagi atas zat organik dan anorganik. Kadar abu ditetapkan dengan mengabukan sejumlah sampel dalam tanur pada suhu 500 – 700 °C hingga semua zat organik menguap dan tersisa hanyalah zat anorganik berupa abu (Pangestuti & Darmawan, 2021). Dari

Hasil Skrining Fitokimia

Tabel 5. Skrining Fitokimia Ekstrak dan Fraksi

Kandungan Kimia	Ekstrak Etanol	Fraksi Etil Asetat	Fraksi n-Heksan	Pengamatan Positif
Flavonoid	+	+	-	Larutan kuning
Saponin	+	+	-	Buih 1 – 10 cm stabil <10 menit
Tanin	+	+	-	Larutan ungu kehitaman
Steroid	-	-	-	Cincing cokelat kemerahan
Terpenoid	-	-	-	Larutan hijau

Pada pengujian flavonoid, dikatakan positif jika terbentuknya warna kuning ketika ditetaskan oleh AlCl₃. Uji positif flavonoid ditemukan pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat. Namun, negatif flavonoid pada fraksi n-heksan. Sampel dapat berubah menjadi warna kuning karena adanya reaksi kompleks antara flavonoid dengan logam Al.

hasil penetapan kadar abu yang dilakukan sebanyak triplo diperoleh rata – rata kadar abu sebesar 2,91% Hasil yang diperoleh memenuhi yang ditetapkan oleh Depkes RI, 2008 yaitu <16,6%.

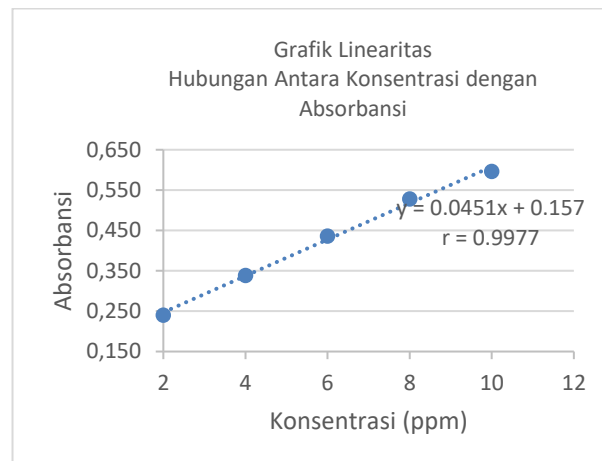
Sampel uji dikatakan positif saponin jika terbentuknya buih setinggi 1 – 10 cm dengan waktu tidak kurang 10 menit dan saat diteteskan HCl 2N buih tidak hilang. Sampel uji positif saponin terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat. Terbentuknya buih ini disebabkan saponin memiliki struktur glikosil sebagai gugus polar dan gugus steroid sebagai gugus nonpolar sehingga struktur tersebut bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok dengan air. Dengan adanya struktur misel yaitu gugus polar berada di kepala dan gugus non polar berada di ekor yang tampak seperti struktur sabun (Suleman dkk, 2022).

Sampel uji dikatakan positif tanin jika terbentuknya warna larutan ungu kehitaman. Sampel yang mengandung tanin terdapat pada ekstrak etanol dan fraksi etil asetat. Terbentuknya warna ungu kehitaman karena adanya ikatan kovalen koordinasi antara atom logam (Fe^{+3}) dengan atom non logam sehingga membentuk ikatan kompleks (Khoiroh dkk, 2018).

Sampel uji dikatakan positif jika terbentuk warna cincin berwarna cokelat kemerahan artinya mengandung terpenoid namun jika terbentuk warna hijau kebiruan artinya mengandung steroid (Takaeb & Leo, 2023). Berdasarkan hasil pengujian tidak didapatkan warna cincin kemerahan atau warna hijau kebiruan. Hal ini menandakan bahwa tidak adanya steroid dan terpenoid di dalam sampel ekstrak etanol dan fraksi n-heksan. Temuan ini tampak adanya perbedaan terhadap studi Syafriana & Wiranti (2022) yang terdapatnya positif uji pada steroid dan terpenoid. Hal ini dapat disebabkan karena metode yang digunakan berbeda atau analitis steroid dan terpenoid hanya sedikit sehingga tidak dapat terdeteksi oleh reagen Libermann-Burchard.

Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total

Penetapan flavonoid didasarkan dengan pembentukan reaksi kompleks antara $AlCl_3$ dengan flavonoid. Mekanisme reaksi ini karena gugus orto pada benzena dihidroksi oleh gugus hidroksi keton pada senyawa flavonoid (Harborne, 2006). Penetapan kadar flavonoid dilakukan pada panjang gelombang maksimum. Pada panjang gelombang tersebut memberikan absorbansi yang tertinggi (Ramadhan dkk, 2021). Panjang gelombang yang digunakan selama pengukuran yaitu 418 nm. Panjang gelombang tersebut masih berada dikisaran panjang gelombang flavonoid kuersetin yaitu 415 – 425 nm (Dachriyanus, 2004). Pembentukan reaksi kompleks antara kuersetin dengan $AlCl_3$ membutuhkan waktu agar reaksi kompleks berjalan sempurna. Maka itu, pengukuran didasarkan pada *operating time* yang mengukur absorbansi sampel yang berdekatan selama periode waktu. Berdasarkan studi (Deviani dkk, 2024) melaporkan *operating time* pembentukan reaksi kompleks antara kuersetin dengan $AlCl_3$ yakni selama 36 menit. Dalam waktu 36 menit tersebut artinya, waktu yang diperlukan oleh kuersetin bereaksi sempurna dengan $AlCl_3$ ditandai dengan absorbansi yang dihasilkan sudah stabil.



Persamaan regresi linear dari deret standar kuersetin pada 2,0 ; 4,0 ; 6,0 ; 8,0 ; 10,0 ppm yang didapat yaitu $y = a + bx$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9977 dengan nilai intercept (a) sebesar 0,1570 serta slope (b) sebesar 0,0451. Nilai (r) yang mendekati 1 menandakan bahwa adanya hubungan yang sangat kuat antara nilai absorbansi dengan konsentrasi (Winahyu dkk, 2019).

Tabel 6. Penetapan Kadar Flavonoid Sampel

Sampel	Ulang	Abs.	Kons. (ppm)	Kadar Flavonoid % (b/b)	Rata – Rata % (b/b)
Ekstrak Etanol	I	0.388	5,122	0,20	0,20
	II	0.381	4,967	0,20	
	III	0.379	4,922	0,20	
Fraksi Etil Asetat	I	0,492	7,428	0,30	0,31
	II	0,506	7,738	0,31	
	III	0,504	7,694	0,31	

Pada penetapan kadar flavonoid total dilakukan terhadap sampel yang positif uji flavonoid yakni etanol dan fraksi etil asetat. Kadar flavonoid total yang diperoleh dari ekstrak etanol yakni 0,2 % b/b $\pm$ 0,0042 sementara kadar flavonoid total yang diperoleh dari fraksi etil asetat yakni 0,31% b/b $\pm$ 0,0067. Kadar flavonoid total tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat yakni sebesar. Hal ini dikarenakan etil asetat memiliki sifat semi polar yang mampu menarik senyawa flavonoid baik yang bersifat polar maupun non polar dan disebabkan karena adanya beberapa flavonoid bebas dalam tanaman seperti flavon, flavanon, flavanol yang mudah larut dalam pelarut semi polar (Theodora dkk, 2022).

Hasil Aktivitas Penghambat Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol Faraksi n-Heksan, dan Fraksi Etil Asetat

Aktivitas penghambat enzim tirosinase dilakukan terhadap ekstrak etanol dan fraksi etil asetat menggunakan substrat L-tirosin sebagai bahan awal dalam pembentukan melanin. Asam amino L - tirosin akan diubah menjadi L-3,4 dihidroksifenilalanin (L-DOPA) dengan bantuan enzim tirosinase (TRY). L-DOPA kemudian mengalami reaksi oksidasi untuk membentuk DOPAquinone (DQ), lalu DOPAquinone menjadi 5,6-dihidroksiindole (DHI) atau DHI-2-carboxylic acid (DHICA) untuk membentuk pigmen melanin yang intensitas gelombangnya terukur pada 492 nm (Snyman, 2024). Jika dalam sampel terdapat senyawa yang bertindak sebagai penghambat enzim maka pembentukan melanin dapat terhambat. Penghambatan enzim ini dapat ditandai dengan intensitas warna coklat semakin berkurang.

Jika intensitas warna coklat berkurang maka diikuti juga dengan berkurangnya absorbansi sampel.

Tabel 7. Pengujian Aktivitas Penghambat Enzim Tirosinase Asam Kojat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rerata Inhibisi (%)	Persamaan
	I	II	III		
1000	0,024	0,024	0,025	104,247	$y = 16,907\ln(x) - 11,68$ $IC_{50} = 38,40 \text{ ppm}$
500	0,072	0,074	0,072	92,388	
250	0,101	0,102	0,101	85,978	
125	0,182	0,182	0,182	66,586	
62,5	0,201	0,201	0,202	62,900	
31,25	0,293	0,293	0,295	40,224	
15,625	0,303	0,303	0,305	37,339	
Blanko	0,459	0,460	0,458		

Tabel 8. Pengujian Aktivitas Penghambat Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rerata Inhibisi (%)	Persamaan
	I	II	III		
1000	0,130	0,127	0,127	91,106	$y = 22,113\ln(x) - 65,468$ $IC_{50} = 185,25 \text{ ppm}$
500	0,170	0,171	0,173	75,400	
250	0,245	0,249	0,246	54,648	
125	0,324	0,328	0,325	34,936	
62,5	0,383	0,382	0,380	20,032	
31,25	0,430	0,429	0,425	9,375	
15,625	0,451	0,447	0,449	3,605	
Blanko	0,459	0,460	0,458		

Tabel 9. Pengujian Aktivitas Penghambat Enzim Tirosinase Fraksi Etil Asetat

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rerata Inhibisi (%)	Persamaan
	I	II	III		
1000	0,170	0,166	0,170	78,204	$y=19,685\ln(x)-64,837$ $IC_{50} = 341,63 \text{ ppm}$
500	0,237	0,237	0,240	58,893	
250	0,303	0,305	0,301	40,145	
125	0,369	0,369	0,367	22,997	
62,5	0,425	0,423	0,421	9,856	
31,25	0,447	0,447	0,449	3,445	
15,625	0,471	0,471	0,471	-2,083	
Blanko	0,459	0,469	0,458		

Hasil pengujian aktivitas enzim tirosinase diperoleh nilai IC_{50} asam kojat sebesar 38,40 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} ekstrak etanol daun pucuk merah sebesar 185,25 $\mu\text{g/mL}$. Nilai IC_{50} fraksi etil asetat sebesar 341,63 $\mu\text{g/mL}$.

Absorbansi yang dihasilkan oleh standar asam kojat, ekstrak etanol, dan fraksi etil asetat daun pucuk merah seiring dengan bertambahnya konsentrasi semakin kecil nilai absorbansinya. Hal ini disebabkan karena intensitas warna coklat kehitaman atau pigmen melanin tidak terjadi, yang ditandai dengan nilai absorbansi yang semakin kecil. Berdasarkan hal ini menunjukkan bahwa, konsentrasi yang lebih besar pada sampel memiliki kemampuan yang meningkat dalam menghambat enzim tirosinase untuk membentuk melanin sehingga melanin yang dihasilkan lebih sedikit. Menurut Furi dkk (2022) semakin kecil nilai absorbansi yang didapatkan maka semakin besar pula persen inhibisi atau daya hambat yang dimiliki larutan uji, semakin besar konsentrasi sampel maka semakin besar pula persen inhibisi atau daya hambat yang dimiliki larutan uji.

Berdasarkan kategori aktivitas penghambatan aktivitas enzim tirosinase, kategori kuat jika $<100 \mu\text{g/mL}$, sedang $100 - 450 \mu\text{g/mL}$, lemah $415 - 700 \mu\text{g/mL}$, dan tidak memiliki aktivitas jika $> 700 \mu\text{g/mL}$. Berdasarkan kategori tersebut maka, diperoleh hasil bahwa standar asam kojat tergolong sebagai kategori kuat. Sementara ekstrak etanol dan fraksi etil asetat tergolong sebagai kategori sedang. Ekstrak etanol memiliki aktivitas penghambat enzim terbaik dengan nilai IC_{50} 185,25 $\mu\text{g/mL}$ dibandingkan dengan fraksi etil asetat dengan aktivitas penghambat enzim IC_{50} 341,63 $\mu\text{g/mL}$, tetapi tidak lebih baik dari standar asam kojat dengan aktivitas penghambat enzim 38,40 $\mu\text{g/mL}$.

Pengujian aktivitas penghambatan enzim tirosinase menunjukkan bahwa ekstrak etanol memiliki potensi lebih tinggi dibandingkan dengan fraksi etil asetat, yang ditunjukkan oleh nilai IC_{50} yang lebih rendah. Sebaliknya, hasil analisis kandungan flavonoid total memperlihatkan bahwa fraksi etil asetat memiliki kadar flavonoid total lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak etanol. Temuan ini tampak adanya perbedaan, mengingat kandungan flavonoid yang lebih tinggi umumnya menggambarkan dengan peningkatan aktivitas biologis. Faktor ini disebabkan karena adanya perbedaan kompleksitas komposisi kimia dalam ekstrak etanol, yang mengandung senyawa polar dan semi-polar seperti flavonoid

glikosida, asam fenolat, dan senyawa bioaktif lainnya yang berkontribusi secara sinergis terhadap penghambatan enzim tirosinase. Sementara itu, fraksi etil asetat mengandung flavonoid aglikon yang jumlahnya lebih tinggi tetapi kurang efektif sebagai aktivitas penghambat enzim tirosinase.

Menurut studi oleh Gulo dkk (2022) yang menyatakan bahwa aktivitas biologis ekstrak tidak selalu berbanding lurus dengan kadar flavonoid total yang terkandung di dalamnya. Studi lain oleh Irsal *et al* (2023) turut menguatkan temuan ini yang menunjukkan hal yang sama. Efektivitas dari flavonoid sangat dipengaruhi oleh struktur kimia dari masing – masing golongan flavonoid yang memiliki aktivitas yang berbeda pada posisi gugus fungsi dan interaksi dengan situs aktif enzim (El-Nashar *et al*, 2021)

KESIMPULAN

Berdasarkan pengujian kandungan flavonoid total dan aktivitas penghambat enzim tirosinase yang dilakukan terhadap sampel ekstrak etanol dan fraksi n-heksan daun pucuk merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.), dapat disimpulkan bahwa, kandungan flavonoid total terbesar terdapat pada fraksi etil asetat sebesar 0,31% b/b $\pm$ 0,0067 diikuti dengan ekstrak etanol sebesar 0,20% b/b $\pm$ 0,0042. Namun, tidak diperoleh kandungan flavonoid total pada fraksi n-heksan karena tidak ada senyawa yang larut dalam fraksi n-heksan. Sampel ekstrak etanol dan fraksi etil asetat dapat dijadikan sebagai aktivitas penghambat enzim tirosinase dengan kategori sedang. Nilai aktivitas penghambat enzim tirosinase sampel paling tinggi terdapat pada ekstrak etanol dengan nilai IC_{50} sebesar 185,25 μ g/mL daripada fraksi etil asetat dengan nilai IC_{50} 341,63 μ g/mL tetapi, lebih rendah daripada standar asam kojat dengan nilai IC_{50} sebesar 38,40 μ g/mL.

DAFTAR PUSTAKA

- Abidin, Z., Khaeriah, U., Pratama, M. and 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, pp.52–58.
- Amelia, J.R., Azni, I.N., Basriman, I. and Prasasti, F.N.W. (2021). Karakteristik Kimia Minuman Sari Tempe-Jahe Dengan Penambahan Carboxy Methyl Cellulose dan Gom Arab pada Konsentrasi Yang Berbeda. *Chimica et Natura Acta*, 9(1). doi:<https://doi.org/10.24198/cna.v9.n1.33038>.
- Arwanda, D., Wulandari, E.A. and Padma Saputra, M.R. (2021). Putih yang Ideal: Representasi Warna Kulit Perempuan dalam Iklan Kosmetik Vaseline Insta Fair Tahun 2013. *Jurnal Audiens*, 3(1), pp.48–60. doi:<https://doi.org/10.18196/jas.v3i1.11769>.
- Astuti, P., Rohama, R. and Budi, S. (2023). Profil Kromatografi Dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi N-Heksan Daun Kalangkala (*Litsea angulata* Bl) Menggunakan Spektrofotometri UV-Vis. *Journal of Pharmaceutical Care and Sciences*, 3(2), pp.30–41. doi:<https://doi.org/10.33859/jpcs.v3i2.237>.
- Asworo, R.Y. and Widwastuti, H. (2023). Pengaruh Ukuran Serbuk Simplisia dan Waktu Maserasi terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kulit Sirsak. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 3(2). doi:<https://doi.org/10.37311/ijpe.v3i2.19906>.
- Azzahra, F., Fauziah, V., Nurfajriah, W., dan Emmanuel, S.W. (2023). Daun Kelor (*Moringa oleifera*) : Aktivitas Tabir Surya Ekstrak dan Formulasi Sediaan Lotion. *Majalah Farmasetika*, 8(2), p.133. doi:<https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v8i2.43662>.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2023). *Rancangan Pedoman Penyiapan Bahan Baku Obat Bahan Alam Berbasis Ekstrak/ Fraksi*. Badan Pengawas Obat dan Makanan. Jakarta.

- Cao, W., Zhou, X., McCallum, N.C., Hu, Z., Ni, Q.Z., Kapoor, U., Heil, C.M., Cay, K.S., Zand, T., Mantanona, A.J., Jayaraman, A., Dhinojwala, A., Deheyn, D.D., Shawkey, M.D., Burkart, M.D., Rinehart, J.D. and Gianneschi, N.C. (2021). Unraveling the Structure and Function of Melanin through Synthesis. *Journal of the American Chemical Society*, 143(7), pp.2622–2637. doi:<https://doi.org/10.1021/jacs.0c12322>.
- Dachriyanus (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK).
- Datu, F.N.S., Hasri and Pratiwi, D.E. (2021). Identifikasi dan Uji Kestabilan Tanin dari Daging Biji Pangi (*Pangium edulu* Reinw.) sebagai Bahan Pewarna Alami. *Chemica Jurnal Ilmiah Kimia & Pendidikan*, 22(1), pp.29–34. Doi.org/doi.org/10.35580/chemica.v%2022i1.21726.
- Deviani, N., Hakim, A.R., Ikeh, T.S.D. and Nastiti, K. (2024). Penetapan Kadar Flavonoid Total Dan Nilai Sun Protector Factor (SPF) Fraksi Ekstrak Etanol Daun Sirih Mudah (*Piper betle* L.). *Journal Pharmaceutical Care and Sciences*, 5(1).
- Dewatisari, W.F. (2020). Perbandingan pelarut kloroform dan etanol terhadap rendemen ekstrak daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata*. Prain) menggunakan metode maserasi. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 6(1), pp.127–32. doi:<https://doi.org/10.24252/psb.v6i1.15638>.
- El-Nashar, H.A.S., El-Din, M.I.G., Hritcu, L. and Eldahshan, O.A. (2021). Insights on the Inhibitory Power of Flavonoids on Tyrosinase Activity: A Survey from 2016 to 2021. *Molecules*, 26(24), p.7546. doi:<https://doi.org/10.3390/molecules2624754>
- Erwiyani, A.R., Sonia Cahyani, A., Mursyidah, L., Sunnah, I. and Pujistuti, A. (2021). Formulasi dan Evaluasi Krim Tabir Surya Ekstrak Daging Labu Kuning (*Cucurbita maxima*). *Majalah Farmasetika*, 6(5), p.386. doi:<https://doi.org/10.24198/mfarmasetika.v6i5.35969>.
- Fatwami, E.F. and Royani, S. (2023). Skrining Fitokimia dan Uji Antioksidan Ekstrak Daun Cabai Rawit (*Capsicum frutescens* L.). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*, 5(2). doi:<https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i2.20896>.
- Furi, M., Alfatma, A., Dona, R., Fernando, A., Aryani, F., Utami, R., Muharni, S., Husnawati, Suhery, W.N. and Octaviani, M. (2022). Uji Inhibitor Enzim Tirosinase Ekstrak dan Fraksi Daun Kedabu (*Sonneratia ovata* Bakcer) secara In-Vitro. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(2), pp.201–214. doi:<https://doi.org/10.51352/jim.v8i2.529>.
- Goelzer, F., Nascimento, P. do, Cristina, Brugnera, A. and Bertol, C.D. (2022). Natural sources of melanogenic inhibitors: A systematic review. *International Journal of Cosmetic Science*, 44(2), pp.143–153. doi:<https://doi.org/10.1111/ics.12763>.
- Gulo, K.N., Suhartomi, Saragih, A.D., Raif, M.A. and Ikhtiari, R. (2022). Antioxidant Activity of Flavonoid Compounds in Ethanol and Ethyl Acetate Extract from *Citrussinensis*. *Journal of IEEE Explore*. doi:<https://doi.org/10.1109/AIMS52415.2021.9466078>.
- Hafizh, M., Wydiamala, E. and Biworo, A. (2021). Uji Aktivitas Larvasida Ekstrak Etanol Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) terhadap Nyamuk *Aedes aegypti*. *Homeostatis*, 4(3), pp.567–574. doi:<https://doi.org/10.20527/ht.v4i3.4541>.
- Harborne, J.B. (2006). *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan (Cetakan Ke-4)*. Bandung: ITB.
- Irsal, R.A.P., Safithri, M., Andrianto, D. and Mardliyati, E. (2023). Flavonoid Concentration and Tyrosinase Inhibition Activity of Ethanol Extract of *Piper crocatum* (*Piper crocatum* var. Ruiz & Pav) from Various Regions in Indonesia and Their Correlations. *Jurnal Kimia Valensi*, 9(1), pp.42–52. doi:<https://doi.org/10.15408/jkv.v9i1.31426>.

- Jovanovic, A., Petrovic, P., Dordjevic, V., Zdunic, G., Savikin, K. and Bugarski, B. (2017). Polyphenols extraction from plant sources. *Lekovite sirovine*, 37(37), pp.45–49.
- Khoiroh, N., Lukiati, B. and Parabaningtyas (2018). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Kulit Buah Apel Manalagi (*Malus sylvestris* Mill.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus epidermidis* secara In Vitro. *Jurnal Ilmu Hayat*, 2(1), pp.34–44.
- Lindawati, N.Y. and Ni'ma, A. (2022). Analysis of Total Flavonoid Levels of Fennel Leaves (*Foeniculum vulgare*) Ethanol Extract by Spectrophotometry Visible. *Jurnal Farmasi Sains dan Praktis*, 8(1), pp.1–12. doi:<https://doi.org/10.31603/pharmacy.v8i1.4972>.
- Liniawati, S.R., Saleh, C. and Edwin (2019). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Triterpenoid dari Ekstrak n-Heksan Fraksi 8 Noda ke - 2 dari Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp). *Jurnal Kimia Mulawarman*, 16(2), pp.73–77.
- Mostert, A.B. (2021). Melanin, the What, the Why and the How: An Introductory Review for Materials Scientists Interested in Flexible and Versatile Polymers. *Polymers*, 13(10).
- Nasution, S.F., Umar Siregar, A. and Lubis, P.P. (2024). *Jurnal Kesehatan Syuhada*.
- Nautiyal, A. and Wairkar, S. (2021). Management of Hyperpigmentation: Current Treatments and Emerging Therapies. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 34(6). doi:<https://doi.org/10.1111/pcmr.12986>.
- Obaid, R.J., Mughal, E.U., Naeem, N., Sadiq, A., Alsantali, R.I., Jassas, R.S., Moussa, Z. and Ahmed, S.A. (2021). Natural and synthetic flavonoid derivatives as new potential tyrosinase inhibitors: a systematic review. *RSC Advances*, 11(36), pp.22159–22198. doi:<https://doi.org/10.1039/d1ra03196a>.
- Pangestuti, E.K. and Darmawan, P. (2021). Analisis Kadar Abu dalam Tepung Terigu dengan Metode Gravimetri. *Jurnal Kimia Rekayasa*, 2(1), pp.16–21.
- Panjaitan, R.S. & Farida, H. (2023) Comparison of Phytochemical Content and Toxicity of n-Hexane Extracts and Fractions of *Padina australis*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan*, 8 (2), pp. 225 – 240.
- Pratiwi, D.I., Masriani, Fadly, D., Muharini, R. and Rasmawan, R. (2024). Penghambatan Enzim Tirosinase Ekstrak Etanol dari Tiga Varian Daun Kratom (*Mitragyna speciosa* Korth). *Jurnal Sains dan Kesehatan (J.Sains Kes)*, 6(3), pp.385–391. doi:<https://doi.org/10.25026/jsk.v6i3.2240>.
- Purba, N. and Putri, N. (2022). Test of Antibacterial Activity form the Combination of Ethanol Extract of Waru (*Hibuscustiliaceus L*) Leaves and Leaf Red Pucuk (*Syzygium oleana*) Against *Salmonella thypi* on 2021. *Jurnal Farmasimed (JFM)*, 4(2), pp.44–50. doi:<https://doi.org/10.35451/jfm.v4i2.1009>.
- Puteri, K., Tiyas and Widyartono, M. (2020). Pengaruh Efek Suhu Terhadap Kinerja Panel Surya Pengaruh Efek Suhu Terhadap Kinerja Panel. *Jurnal : Teknik Elektro*, pp.87–876.
- Putri, O.N.E. (2020). Analisis Kandungan Klorofil dan Senyawa Antosianin Daun Pucuk Merah (*Syzygium oleana*) Berdasarkan Tingkat Perkembangan Daun yang Berbeda. Skripsi: UIN Raden Intang. Lampung.
- Ramadhan, H., Rezky, D.P. and Susiani, E.F. (2021). Penetapan Kandungan Total Fenolik-Flavonoid pada Fraksi Etil Asetat Kulit Batang Kasturi (*Mangifera casturi* Kosterman). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 8(1), p.58. doi:<https://doi.org/10.20473/jfiki.v8i12021.58-67>.
- Rukmini, A. (2020). Skrining Fitokimia dari Tumbuhan Familia Piperaceae. *Jurnal Biologi dan Pembelajarannya (JB&P)*, 7(1), pp.28–32.
- Rifkia, V. and Revina, R. (2023). Pengaruh Variasi Bahan: Pelarut dan Lama Ekstraksi Ultrasonik dari Ekstrak Daun Kelor terhadap Rendemen dan Kadar Total Fenol. *JFI : Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(1), pp.94–100. doi:<https://doi.org/10.35617/jfionline.v15i1.126>.

- Rujiyanti, L.M., Kunarto, B. and Pratiwi, E. (2020). Pengaruh Lama Ekstraksi Kulit Melinjo Merah (*Gnetum gnemon* L.) Berbantu Gelombang Ultrasonik Terhadap Yield, Fenolik, Flavonoid, Tanin dan Aktivitas Antioksidan. *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*, 15(1), p.17. doi:<https://doi.org/10.26623/jtphp.v15i1.2290>.
- Septywardani, D. and Parmadi, A. (2021). Formulasi Krim Tabir Surya Dan Penentuan Nilai SPF Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Anredera cardifolia*(Tenore) Steenis) Sunscreen Cream Formulation and Determination of SPF Value Binahong (*Anredera cardifolia* (Tenore) Steenis) Ethanol Extract. *IJMS -Indonesian Journal On Medical Science*, 8(2). doi:<https://doi.org/10.55181/ijms.v8i2.319>.
- Sholihah, M., Ahmad, U. and Budiastira, I.W. (2017). Application of Ultrasonic Wave to Increase Extraction Yield and Effectiveness of Antioxidant from *Mangosteen Rind*. *Jurnal Keteknikaan Pertanian*, 05(2), pp.1–11. doi:<https://doi.org/10.19028/jtep.05.2.161-168>.
- Snyman, M., Rachel Elizabeth Walsdorf, Wix, S.N. and Gill, J.G. (2024). The metabolism of melanin synthesis—From melanocytes to melanoma. *Pigment cell & melanoma research*, 37(4). doi:<https://doi.org/10.1111/pcmr.13165>.
- Sugihartini, A. and Maryati, M. (2022). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium*) dan Penetapan Kadar Fenol Total. *Journal of Pharmacy*, 267-277, pp.267–277. doi:<https://doi.org/10.23917/ujp.v1i3.77>
- Suharyanto, S. and Hayati, T.N. (2021). Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Buah Gambas (*Luffa acutangular* (L.) Roxb.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Visble. *Pharmacon: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1), pp.82–88.
- Sunarti (2021). *Daun Pucuk Merah : Inovasi dan Pengembangan Obat Herbal sebagai Terapi Antidiabetes*. Literasi Nusantara Abadi. Malang.
- Suleman, Sulistijowati, R., Manteu, S.H. and Nento, W.R. (2022). Identifikasi Senyawa Saponin Dan Antioksidan Ekstrak Daun Lamun (*Thalassia hemprichii*). *Jambura Fish Processing Journal*, 4(2).doi:<https://doi.org/10.37905/jfpj.v4i2.15213>.
- Syafriana, V. and Wiranti, Y. (2022). Potensi Daun Tanaman Pucuk Merah (*Syzygium myrtifolium* Walp.) Sebagai Agen Antibakteri Terhadap *Streptococcus mutans*. *Farmasains Jurnal Ilmiah Ilmu Kefarmasian*, 9(2), pp.65–75. doi:<https://doi.org/10.22236/farmasains.v9i2.8392>.
- Takaeb, M.J. and Leo, M.I. (2023). Identifikasi Metabolit Sekunder pada Sopi Kualin (Soklin) yang Dibuak Dengan dan Tanpa Fermentasi di Desa Kualin Nusa Tenggara Timur. *Jurnal Sains dan Edukasi Sains*, 6(2), pp.111–116. doi:<https://doi.org/10.24246/juses.v6i2p111-116>.
- Tenda, P.E., Kapitan, V., Maria and Soeharto, F.R. (2023). Quality and Antioxidant Activity of Faloak (*Sterculia quardifida* R.Br) Extract Syrup with Variations in Addition of Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 19(1),pp.15–30.
- Theodora, C.T., Gunawan, I.W.G. and Swantara, I.M.D. (2019). Isolasi dan Identifikasi Golongan Flavonoid pada Ekstrak Etil Asetat Daun Gedi (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal Kimia*, p.131. doi:<https://doi.org/10.24843/jchem.2019.v13i02.p02>.