

**KAJIAN POTENSI EKSTRAK *Padina australis* (Hauck 1887) SEBAGAI
INHIBITOR TIROSINASE ASAL KEPULAUAN SIMEULUE**

**THE POTENCY STUDY OF *Padina australis* (Hauck 1887) EXTRACT AS
TYROSINASE INHIBITOR FROM SIMEULUE ISLANDS**

¹Mohamad Gazali

¹Prodi Ilmu Kelautan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Universitas Teuku Umar, Aceh Barat

Korespondensi : mohamadgazali@utu.ac.id

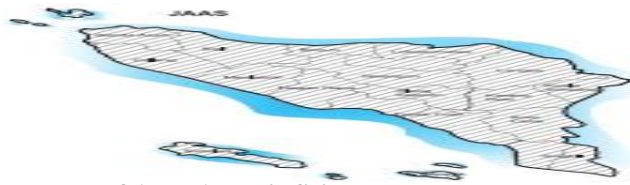
Abstract

Seaweed contains bioactive compound which can serve as a defense from ultraviolet radiation that caused hyperpigmentation effect. The brown algae, *Padina australis* always distributed dominantly at coastal area that various substrates which play important role in biological and ecological system. The aim of this study is to analyse the tyrosinase inhibitory activity of *P. australis* extract from Simeulue Island Aceh Province. The results showed that the methanol extract of *P. australis* possessed phytochemical properties such as flavonoids, tannin and saponin. Turn out of Tyrosinase inhibitory activity of *P. australis* methanol extract had low or no activity to inhibit monophenolase with R-squared ($R^2 = 0,0542$). It showed that variable of inhibition percentage and concentration significantly influenced as much as 5% in monophenolase pathway. Whereas in diphenolase pathway showed that detemination of coefisient was $y = -1,82\ln(x) + 30,263$ dan $R^2 = 0,2966$. It showed that variable of percentage inhibition and concentration (ppm) significantly influenced as much as 20% in diphenolase pathway. Thus, it can be concluded that *P. australis* had no activity in tyrosinase inhibitory. Because the inhibition percentage and concentration (ppm) must be influenced positively with level of significant 95%. It can be hypothesized that the human error in laboratory that influenced the extract had no activity in tyrosinase inhibitory.

Keywords : *Padina australis*, Seaweed, Simeulue, Tyrosinase Inhibitor

I. Pendahuluan

Luas wilayah Indonesia sebagian besar, yaitu dua per tiganya merupakan wilayah perairan. United Nation Convention on the Law of the Sea (UNCLOS) pada tahun 1982 melaporkan bahwa luas perairan Indonesia adalah 5,8 juta km² dan didalamnya terdapat 27,2% dari seluruh spesies flora dan fauna di dunia. Rumpun laut atau lebih dikenal dengan sebutan seaweed merupakan salah satu sumber daya hayati yang sangat melimpah di perairan Indonesia yaitu sekitar 8,6% dari total biota di laut (Dahuri, 1998).

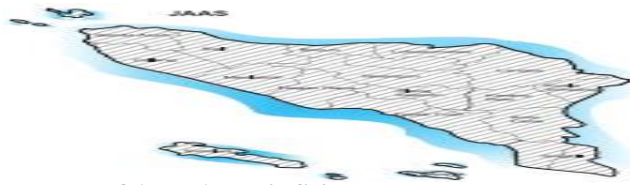


Luas wilayah yang menjadi habitat rumput laut di Indonesia mencapai 1,2 juta hektar atau terbesar di dunia (Wawa, 2005). Potensi rumput laut perlu terus digali, mengingat tingginya keanekaragaman rumput laut di perairan Indonesia. Van Bosse (melalui ekspedisi Laut Siboga pada tahun 1899-1900) melaporkan bahwa Indonesia memiliki kurang lebih 555 jenis dari 8.642 spesies rumput laut yang terdapat di dunia. Dengan kata lain, perairan Indonesia sebagai wilayah tropis memiliki sumberdaya plasma nutfah rumput laut sebesar 6,42% dari total biodiversitas rumput laut dunia (Santosa, 2003; Suroño, 2004). Rumput laut dari kelas alga merah (Rhodophyceae) menempati urutan terbanyak dari jumlah jenis yang tumbuh di perairan laut Indonesia yaitu sekitar 452 jenis, setelah itu alga hijau (Chlorophyceae) sekitar 196 jenis dan alga coklat (Phaeophyceae) sekitar 134 (Winarno, 1996). Dibalik peran ekologis dan biologisnya dalam menjaga kestabilan ekosistem laut serta sebagai tempat hidup sekaligus perlindungan bagi biota lain, golongan makroalga ini memiliki potensi ekonomis yaitu sebagai bahan baku dalam industri dan kesehatan.

Pemanfaatan rumput laut secara ekonomis sudah dilakukan oleh beberapa negara. Cina dan Jepang sudah dimulai sejak tahun 1670 sebagai bahan obat-obatan, makanan tambahan, kosmetika, pakan ternak, dan pupuk organik. Rumput laut telah dimanfaatkan sebagai makanan sehari-hari bagi penduduk Jepang, Cina dan Korea, dan bahkan pada tahun 2005 nilai konsumsi rumput laut mencapai 2 milyar US\$. Ironisnya, di Indonesia, rumput laut hanya dibiarkan sebagai sampah lautan, mengapung, hanyut terbawa arus, ataupun terdampar di pinggir pantai (Yunizal, 1999). Pemanfaatan rumput laut di Indonesia sampai saat ini terbatas sebagai bahan makanan bagi penduduk yang tinggal di daerah pesisir dan belum banyak kalangan industri yang mau melirik potensi rumput laut ini.

Pembentukan melanin berlebih pada kulit disebut dengan hiperpigmentasi atau melanogenesis. Untuk mengurangi pembentukan melanin pada kulit, diperlukan bahan untuk menghambat pembentukannya. Mekanisme pengurangan melanin pada kulit manusia ada beberapa cara, seperti dengan antioksidan, inhibitor tirosinase, menghambat melanin bermigrasi dari sel satu ke sel lain, dan aktivitas hormon (Prota dan Thomson 1976, Pawelek dan Korner, 1982). Penelitian ini difokuskan untuk mengurangi pembentukan melanin dengan jalur inhibitor tirosinase dan antioksidan.

Enzim tirosinase atau fenol oksidase merupakan enzim utama yang berperan dalam biosintesis melanin di dalam tubuh makhluk hidup (Likhitwitayawuid, 2008). Pigmen melanin dibiosintesis dari tirosina dengan oksidasi enzimatik oleh tirosinase. Melanin umumnya terdistribusi pada permukaan tubuh dan retina (Yamauchi *et al.*, 2011). Biosintesis melanin oleh enzim tirosinase dilakukan dengan mengatalisis 2 reaksi menggunakan molekul oksigen, yaitu reaksi ortohidroksilasi tirosina menjadi 3,4-dihidroksifenilalanina atau DOPA (monofenolase) dan oksidasi DOPA menjadi dopakuinon (difenolase). Enzim tirosinase pada mamalia berperan dalam reaksi



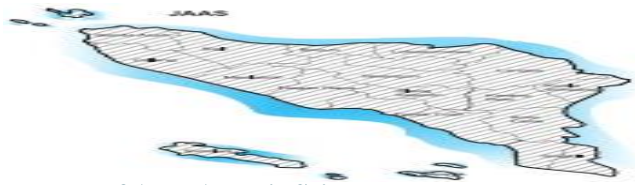
pigmentasi kulit, mata, dan rambut (Likhitwitayawuid, 2008). Hasil oksidasi mengalami polimerisasi membentuk pigmen coklat, merah, atau hitam dengan jalur penggandengan radikal bebas (Sanchez-Ferrer *et al.*, 1995). Spesies oksigen reaktif (SOR) suatu waktu akan terbentuk pada saat dihasilkannya melanin. Keberadaan SOR akan meningkatkan pembentukan melanin. Oleh karena itu, dibutuhkan penangkapan radikal bebas oleh antioksidan.

Inhibitor tirosinase merupakan senyawa yang dapat menghambat proses pembentukan melanin. Inhibitor tirosinase bekerja dengan menghambat pembentukan melanin berlebih di lapisan epidermis sehingga dapat digunakan pada produk kosmetik atau pemutih (Zheng *et al.*, 2007). Antioksidan berperan dalam menangkap radikal bebas yang terbentuk saat produksi melanin pada kulit. Oleh karena itu, inhibitor tirosinase dapat menghambat pembentukan melanin berlebih pada kulit sehingga kulit tetap terlihat cerah.

Dewasa ini, inhibitor tirosinase menarik banyak perhatian karena dapat mencegah hiperpigmentasi. Banyak inhibitor tirosinase digunakan sebagai agen kosmetik (Alena *et al.*, 1990) untuk memutihkan kulit seperti asam askorbat dan derivatifnya (Kojima *et al.*, 1995), asam azelaic (Schallreuter, 1990), asam retinoid (Gilcrest, 1998), hidrokuinon (Lin *et al.*, 2008), benzaldehida-*O*-alkil-oksima (Ley dan Bertram, 2001), kortikosteroid (Takiwaki *et al.* 1994), arbutin (Chakraborty *et al.*, 1998) dan asam kojat (Kahn *et al.*, 1997; Lim, 1999 ; Shiino *et al.*, 2003). Namun demikian, senyawa tersebut mempunyai efek samping berbahaya terkait karsinogenesis dan mutagenesis (Lin *et al.* 2008). Misalnya, asam kojat yang memiliki efek inhibisi dan kestabilan yang paling besar dalam mencegah hiperpigmentasi. Menurut Fujimoto *et al.*, (1998) bahwa asam kojat bersifat karsinogenik. Pemakaian asam kojat pada konsentrasi yang tinggi menyebabkan iritasi kulit dan dermatitis kontak alergi (Nakagawa *et al.*, 1995 ; Serra-Baldrich *et al.*, 1998). Oleh karena itu, penyelidikan dan penemuan inhibitor tirosinase yang aman, sumber bahan baku yang berlimpah dan aktivitas inhibisi yang tinggi sangat dituntut oleh industri kosmetik.

Sejauh ini, sejumlah senyawa yang berasal dari sumber alami maupun sintetik sudah diuji dapat menghambat aktivitas tirosinase yang mengarah pada overproduksi melanin pada lapisan epidermis kulit (Cabanes *et al.*, 2001). Namun demikian, hanya sedikit dari senyawa tersebut diterapkan di dalam bahan kosmetik sebagai aditif karena aktivitas inhibisi tirosinase yang masih rendah, keterbatasan sumber bahan baku dan pertimbangan keamanan. Fokus penelitian ini adalah penyelidikan senyawa bioaktif potensial sebagai inhibitor tirosinase yang berasal dari sumber-sumber alami seperti rumput laut.

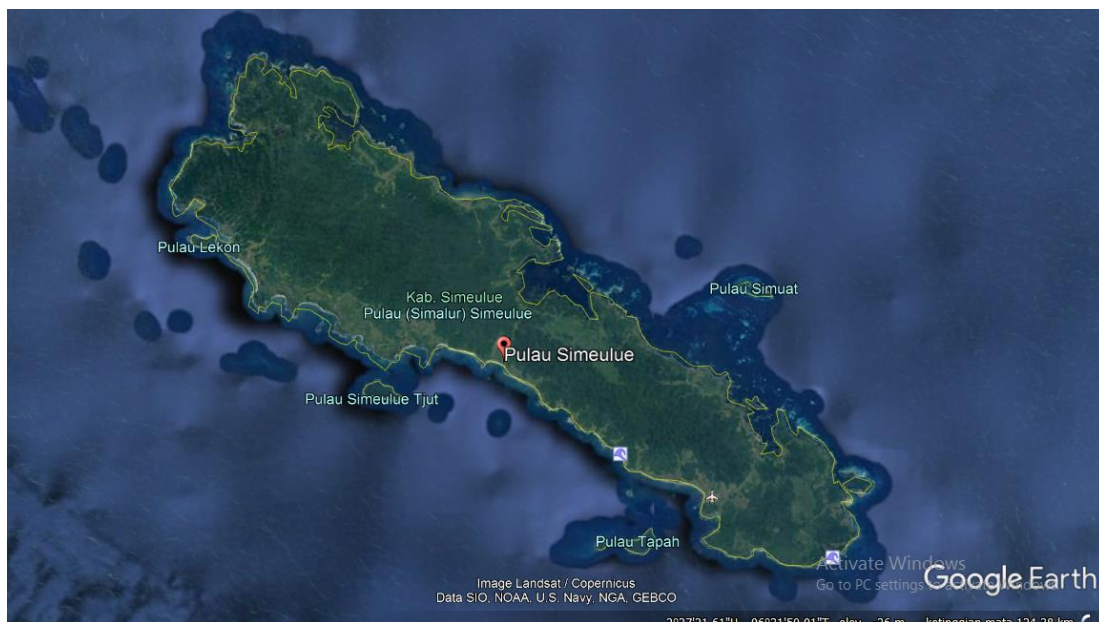
Berdasarkan uraian diatas maka perlu dilakukan kajian ekstrak alga coklat *P. australis* asal Kepulauan Simeulue. Informasi mengenai eksplorasi potensi inhibitor tirosinase alga coklat *P. australis* yang berasal dari Kepulauan Simeulue belum banyak dikaji, sehingga perlu dilakukan penelitian untuk menentukan aktivitas inhibitor tirosinase alga coklat *P. australis*. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis ekstrak *P. australis* sebagai inhibitor tirosinase.



II. Metode Penelitian

Waktu dan Tempat

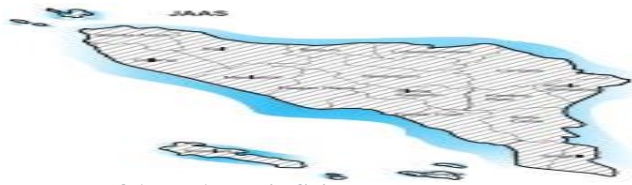
Penelitian ini dilakukan pada Juni sampai dengan September 2017. Pengambilan sampel alga cokelat *P. australis* dilakukan di Kepulauan Simeulue Propinsi Aceh (Gambar 1). Sampel *P. australis* dibersihkan dari kotoran dan substrat dari talus dengan menggunakan air yang mengalir. Selanjutnya sampel tersebut dibawa ke Pusat Studi Biofarmaka Institut Pertanian Bogor (Gambar 1).



Gambar 1. Peta Lokasi Koleksi Sampel
Sumber : (Google Earth, 2018)

Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan adalah *P. australis* yang diperoleh dari Kepulauan Simeulue Propinsi Aceh. Bahan kimia, yaitu metanol, etanol, etil asetat, kloroform, dietil eter, aseton, n-heksana, diklorometana (Merck), DMSO (dimetil sulfoksida), akuades, buffer fosfat pH 6,5, larutan L-tirosin, L-DOPA, enzim tirosinase (Sigma 333 unit/ml dalam buffer fosfat). Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer FTIR (Brucker), multiple well plate reader (ELISA), multiwell plates, oven, tanur, eksikator, neraca analitik (Sartorius), rotavapor, kolom kromatografi, pelat kromatografi lapis tipis (KLT), pelat kromatografi lapis tipis (KLTP), sudip, vortex, glass wool, tabung reaksi, gelas piala, pipet mohr (1 ml, 5 ml dan 10 ml), pipet volumetrik, pipet mikro, cawan petri, cawan porselin, labu takar (5 ml dan 250 ml), dan pelat silika gel.



Pengambilan, Preparasi dan Ekstraksi

Pengambilan sampel *P. australis* dilakukan pada bulan Juni 2017, di Kepulauan Simeulue Propinsi Aceh yang kemudian dikeringkan. Lokasi ini dipilih karena kondisi perairan laut yang relatif lebih bersih, sehingga *P. australis* tumbuh melimpah. Pengambilan sampel ini dilakukan dengan langsung *P. australis* dari substratnya secara mekanik menggunakan tangan. *P. australis* diisi ke dalam wadah berisi air laut yang kemudian ditransportasikan ke tempat penelitian untuk selanjutnya dikeringkan dengan sinar matahari selama tiga hari dan diekstraksi. Sebelum diekstraksi, sampel kering terlebih dahulu dibersihkan dari komponen-komponen pengotor seperti pasir, garam, kayu, ranting, dan rumput laut jenis lain. Tahap selanjutnya adalah ekstraksi bahan aktif. Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode ekstraksi tunggal yang mengacu pada (Quinn, 1988 dalam Darusman *et al.*, 1995). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini yaitu pelarut polar (metanol), semi polar (etil asetat) dan non polar (n-heksana). Sampel yang telah dihancurkan ditimbang sebanyak 50 gram dan dimaserasi dengan pelarut polar (metanol), semi-polar (etil asetat) dan nonpolar (n-heksana) sebanyak 250 mL selama 24 jam. Hasil maserasi yang berupa larutan kemudian disaring dengan kertas saring sehingga didapat filtrat dan residu. Filtrat yang diperoleh dievaporasi hingga pelarut memisah dengan ekstrak menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu kurang dari 50 °C.

Uji Fitokimia

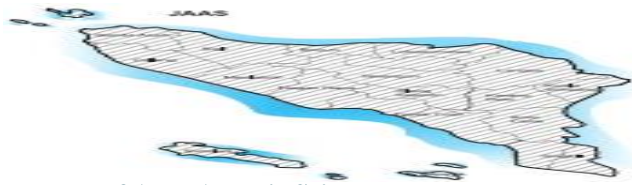
Uji fitokimia merupakan uji pendahuluan untuk mengetahui kandungan senyawa spesifik seperti alkaloid, triterpenoid, steroid, saponin, flavonoid, kuinon, tanin dan fenol secara kualitatif (Harborne, 1987).

Uji Alkaloid

Ekstrak *P. australis* dengan bobot tertentu dilarutkan dengan ml kloroform dan beberapa tetes NH₄OH kemudian disaring ke dalam tabung reaksi bertutup. Ekstrak kloroform dalam tabung reaksi dikocok dengan 10 tetes H₂SO₄ 2 M dan lapisan asamnya dipisahkan ke dalam tabung reaksi lain. Lapisan asam ini diteteskan pada lempeng tetes dan ditambahkan pereaksi Mayer, Wagner dan dragendorff yang akan menimbulkan endapan dengan warna berturut-turut putih, coklat, dan merah jingga.

Uji Saponin dan Flavonoid

Ekstrak *P. australis* dengan bobot tertentu, dimasukkan ke dalam gelas kimia besar kemudian ditambahkan 100 ml air panas dan dididihkan selama 5 menit, setelah



itu disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Uji saponin dilakukan dengan pengocokan 10 ml filtrat dalam tabung reaksi tertutup selama 10 detik kemudian dibiarkan selama 10 menit, adanya saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih stabil. Sebanyak 10 ml filtrat yang lain ditambahkan 0,5 g serbuk magnesium, 2 ml alkohol klorhidrat (campuran HCl 37 % dan etanol 95 % dengan volume yang sama) dan 20 ml amil alkohol kemudian dikocok kuat-kuat, terbentuknya warna merah, kuning dan jingga pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid.

Uji Terpenoid dan Steroid

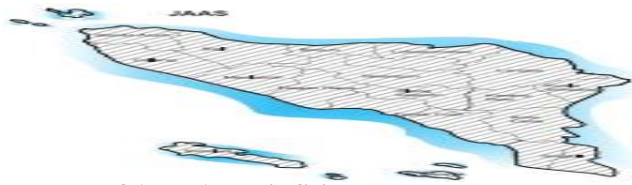
Ekstrak *P. australis* dilarutkan dengan 25 ml etanol panas (50°C) kemudian disaring dalam cawan porselin dan diuapkan sampai kering. Residu ditambahkan eter dan ekstrak eter dipindahkan ke dalam lempeng, lalu ditambahkan 3 tetes anhidrida asam asetat dan 1 tetes H₂SO₄ pekat (uji Lieberman-Burchard). Warna merah atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid dan warna hijau atau biru menunjukkan adanya steroid.

Uji Tanin

Ekstrak *P. australis* ditambah 100 ml air panas dididihkan selama 5 menit dan disaring. Lalu ke dalam sebagian filtrat ditambahkan larutan FeCl₃, bila terjadi warna hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin.

Uji Aktivitas Inhibitor Tirosinase

Uji coba ditunjukkan dengan menggunakan metode-metode seperti yang dijelaskan dahulu (Curto *et al.*, 1999; Nerya *et al.*, 2003). Ekstrak dilarutkan di dalam DMSO (dimetil sulfida) pada konsentrasi akhir 20 mg/ml. Larutan air ekstrak ini kemudian didilusi pada 600 µg/ml didalam 50 mM buffer potasium fosfat (pH 6.5). Ekstrak tersebut diuji pada tingkat konsentrasi dari 7.8125 menjadi 2000 µg/ml. Asam kojat, dimana digunakan sebagai kontrol positif yang juga diuji pada konsentrasi 7.8125 menjadi 500 µg/ml. Di dalam pelat tetes 96 sumur. Sebanyak 70 µl dari masing-masing ekstrak pengenceran ini ditambahkan dengan 30 µl enzim tirosinase (Sigma 333 unit/ml dalam buffer fosfat), setelah itu dilakukan inkubasi pada suhu kamar selama 5 menit. Kemudian ditambahkan 110 µl substrat (2 mM L-tirosin atau 12 mM L-dopa) ke dalam tiap lubang multi-well plate, campuran diinkubasi selama 30 menit pada suhu kamar. Campuran diukur dengan menggunakan multi-well plate reader pada panjang gelombang 492 nm, hal ini bertujuan untuk menentukan persen inhibisi dan nilai konsentrasi hambat 50% (IC₅₀). Persentase inhibisi dihitung dengan cara membandingkan serapan sampel tanpa penambahan ekstrak dan sampel dengan penambahan ekstrak. Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan kurva regresi linier antara % inhibisi (sebagai sumbu y) dan konsentrasi ekstrak (sebagai sumbu x).



$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A-B}{A} \times 100$$

A adalah absorbansi pada 492 nm tanpa ekstrak dan B adalah absorbansi pada 492 nm dengan penambahan ekstrak.

III. Hasil dan Pembahasan

Hasil Uji Fitokimia

Uji fitokimia dilakukan untuk menentukan golongan metabolit sekunder yang terkandung pada sampel ekstrak *P. australis*. Pada analisis fitokimia ekstrak *P. australis* sudah dilaporkan oleh Gazali (2018). Komponen yang diuji adalah alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, triterpenoid, dan steroid. Hasil uji ditunjukkan pada Tabel 1

Tabel 1. Sifat Fitokimia Ekstrak *P. australis* (Gazali, 2018)

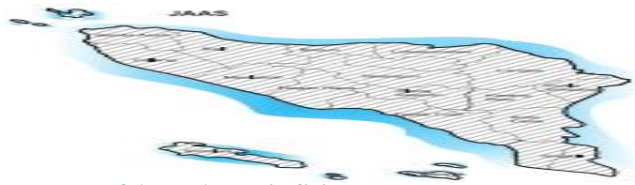
| Solvents | Flavonoid | Tanin | Saponin |
|------------------|-----------|-------|---------|
| <i>n</i> -heksan | - | - | - |
| etil asetat | - | - | - |
| Metanol | + | + | + |

Keterangan : + = ada ; - = tidak ada

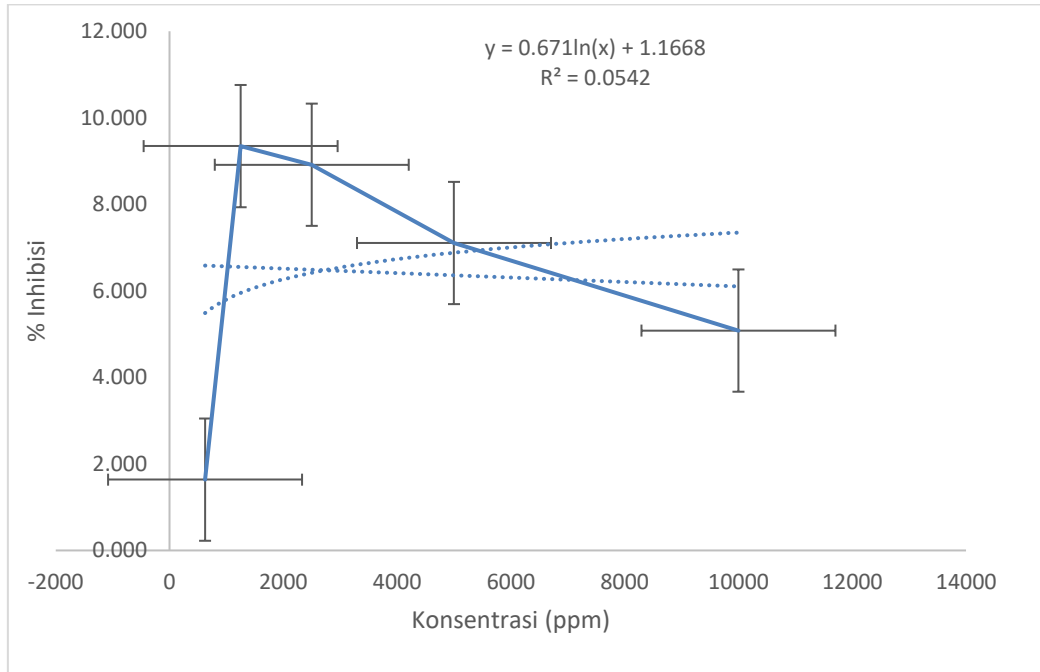
Ekstrak kasar metanol mengandung komponen flavonoid, tanin dan saponin. ekstrak etil asetat dan *n*-heksane tidak mengandung komponen fitokimia. Intensitas endapan uji alkaloid ekstrak metanol lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak lain karena komponen-komponen polar dari sampel banyak terlarut dalam metanol. Senyawa flavonoid pada sampel mengindikasikan aktivitas sampel sebagai inhibitor tirosinase dan antioksidan. Menurut Chang (2009), flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa yang aktif sebagai inhibitor tirosinase.

Aktivitas Inhibitor Tirosinase

Aktivitas inhibisi tirosinase dilakukan untuk mengetahui keberadaan dan ketidakberadaan aktivitas inhibisi tirosinase pada ekstrak metanol, kloroform dan *n*-heksan. Aktivitas inhibisi tirosinase menunjukkan bahwa dengan nilai IC_{50} yaitu konsentrasi yang bisa menghambat 50% enzim tirosinase. Berdasarkan hasil bahwa ekstrak *P. australis* tidak memiliki potensi sebagai inhibitor tirosinase (Gambar 2).

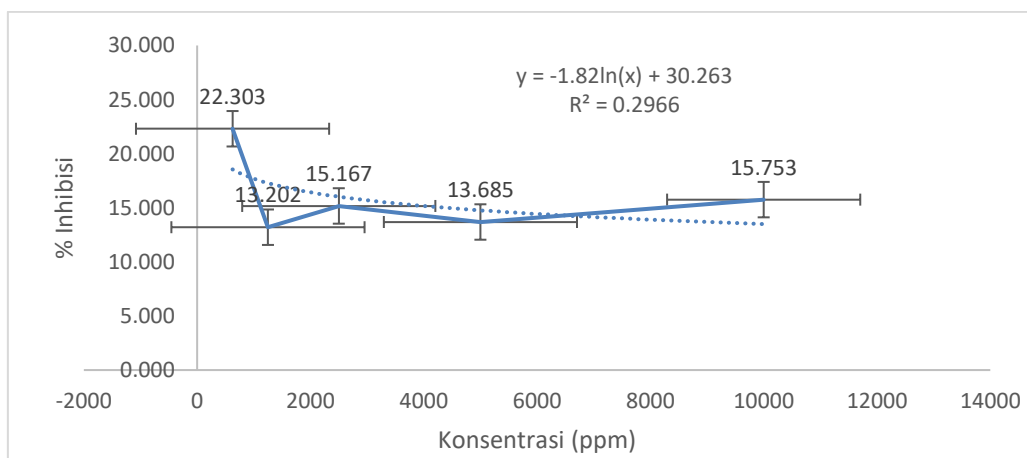


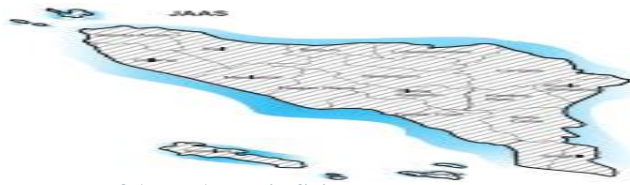
Gambar 2. Perbandingan Persentase inhibisi (%) dan (ppm) pada jalur monofenolase



Pada Gambar 1 di atas menunjukkan jika konsentrasi (ppm) tinggi maka persentase inhibisi juga meningkat dengan nilai koefisien determinasi yaitu $y = y = 0,671\ln(x) + 1,1668$ dan R-squared ($R^2 = 0,0542$). Ini menunjukkan bahwa variabel persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) secara signifikan mempengaruhi sebanyak 5% pada jalur monofenolase. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak *P. australis* tidak memiliki atau sangat lemah terkait aktivitas inhibitor tirosinase.

Gambar 3. Perbandingan persentase inhibisi (%) dan konsentrasi (ppm) pada jalur difenolase





Perbandingan antara persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) pada jalur difenolase menunjukkan bahwa nilai koefisien determinasi yaitu $y = -1,82\ln(x) + 30,263$ dan $R^2 = 0,2966$. Hal ini menunjukkan bahwa variabel persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) secara signifikan mempengaruhi sebesar 20% pada jalur difenolase. Jadi, kita menyimpulkan bahwa persentase inhibisi dan konsentrasi (ppm) sangat berpengaruh positif dengan tingkat signifikan 95%.

Berdasarkan hasil analisis bahwa dengan pelarut yang berbeda meliputi ekstrak n-heksan, kloroform, dan metanol. Kami melakukan skrining aktivitas inhibitor tirosinase (jalur monofenolase dan difenolase). Hasil analisis menunjukkan bahwa aktivitas inhibitor tirosinase ekstrak metanol *P. australis* ternyata memiliki masih sangat lemah baik pada jalur monofenolase maupun pada jalur difenolase dengan asam kojat sebagai control positif. Hal ini diindikasikan pada nilai koefisien yang masih dibawah 50%. Pada ekstrak kloroform dan ekstrak n-heksan juga tidak memiliki aktivitas inhibitor tirosinase.

IV. Kesimpulan

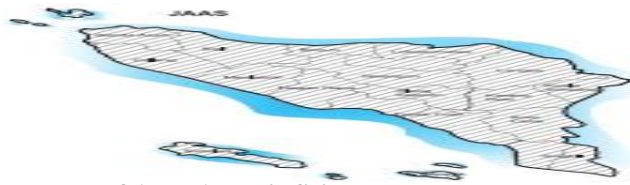
Berdasarkan hasil penelitian bahwa *P. australis* yang dikoleksi dari Kepulauan Simeulue ternyata tidak memiliki potensi secara signifikan sebagai sumber inhibitor tirosinase. Hal ini dapat menjadi informasi awal untuk melakukan kajian lebih lanjut dalam menentukan aktivitas inhibitor tirosinase yang menyebabkan tidak memiliki pengaruh signifikan dari ekstrak yang didapatkan di Kepulauan Simeulue.

Ucapan Terima Kasih

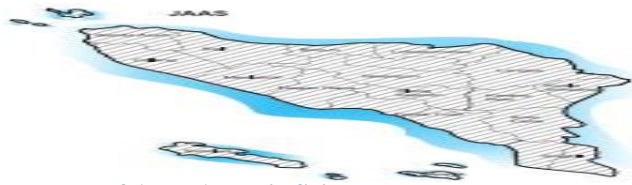
Penulis berterima kasih kepada mahasiswa FPIK yang membantu dalam mengumpulkan sampel rumput laut. Penulis juga mengucapkan terima kasih kepada laboran pusat studi biofarmaka LPPM-IPB yang sudah menganalisis aktivitas inhibitor tirosinase. Penelitian ini didanai oleh Kemristek-DIKTI melalui hibah kompetitif nasional.

Daftar Pustaka

- Alena F, Jimbow K, Ito S. 1990. Amine compounds in mice *in vivo* melanocytotoxicity and antimelanoma effects of phenolic. *Cancer Res.* 50: 3743-3747.
- Curto EV, Kwong C, Hermersdorfer H, Glatt H, Santis C *et al.* 1999. Inhibitors of mammalian melanocyte tyrosinase : In vitro comparisons of alkyl esters of gentisic acid with other putative inhibitors. *Biochem. Pharmacol.* 57: 663-672.
- Chang TS. 2009. An updated review of tyrosinase inhibitor. *Intl J Mol Sci.* 10: 2440-2475.
- Cabanes JS, Chazarra, Carmona FG. 1994. Kojic acid, a cosmetic skin whitening agent is a slow-binding inhibitor of catecholase activity of tyrosinase. *J. Pharm. Pharmacol.* 46 : 928 - 985.
- Chakraborty AK, Funasaka Y, Komoto M, Ichihashi M. 1998. Effect of arbutin on melanogenic proteins in human melanocytes. *Pig. Cell. Res.* 11 : 206-212.



- Dahuri, R. 1998. Coastal Zone Management in Indonesia: Issues and Approaches. *Journal of Coastal Development* 1, No. 2. 97-112.
- Darusman KL, Batubara I, Lopolisa C. 2011. Screening marker components of tyrosinase inhibitor from *Xylocarpus granatum* Stem. *Valensi* 2 (3) : 409-413.
- Harborne JB. 1987. Metode fitokimia. penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. terjemahan Kosasih P dan Iwang SJ. Bandung(ID): ITB.
- Fujimoto N, Watanabe H, Nakatani T, Roy G, Ito A. 1998. Induction of thyroid tumours in (C57BL/6N x C3H/N)F₁ mice by oral administration of kojic acid . *Food and Chem Toxicol.* 36 : 679 – 703.
- Gilchrist. 1998. Turning back the clock: retinoic acid modifies intrinsic aging changes. *J. Clin. Invest.* 94 : 1711-1712.
- Kahn V Ben-Shalom N, Zakin V. 1997. Effect of Kojic Acid on the Oxidation of N-Acetyldopamine by mushroom. *J. Agric. Food. Chem.* 45 ; 4460-4465.
- Kojima S, Yamaguchi H, Morita K, Ueno Y. 1995. Inhibitory effect of sodium 5,6-Benzylidene Ascorbate (SBA) on the elevation of melanin biosynthesis induced by ultraviolet-A (UV-A) light in cultured B-16 melanoma cell. *Biol. Pharm. Bull.* 18 (8) : 1076 – 1080.
- Ley JP, Bertram HJ. 2001. Hydroxy-or methoxy-substituted benzaldoximes and benzaldehyde-O-alkyloximes as tyrosinase inhibitors. *Bio & Med Chem.* 9:1879–1885.
- Lin JW, Chiang HM, Lin YC, Wen KC. 2008. Natural products with skin-whitening effects. *J. Food and Drugs Analysis.* (16). 2: 1-10.
- Lim JTE. 1999. Treatment of melasma using kojic acid in a gel containing hydroquinone and glycolic acid. *Dermatol Surg.* 25:282–284.
- Likhitwitayawuid K. 2008. Stilbenes with tyrosinase inhibitor activity. *Cur Sci.* 94: 44-52.
- Nakagawa M, Kawai K, Kawai K. 1995. Contact allergy to kojic acid in skin care products. *Contact dermatitis.* 32 : 9-13.
- Nerya O, Vaya J, Musa R, Izrael S, Ben-Arie R, Tamir S. 2003. Glabrene and isoliquiritigenin as tyrosinase inhibitors from liquorice roots. *J. Agric. Food Chem.* 51: 1201-1207.
- Pawelek JM, Korner AM. 1982. The biosynthesis of mammalian melanin. *J. M. Sci.* 70:136-145.
- Prota G, Thompson RH. 1976. Melanin pigmentation in mammals. *Endeavor* 35: 32-38.
- Serra-Baldrich E, Tribo MJ, Camarasa JG. 1998. Allergic contact dermatitis from kojic acid. *Contact Dermatitis* : 39: 86.
- Schallreuter KU, Wood JW. 1990. A possible mechanism of action for azelaic acid in the human epidermis. *Arch Dermatol Res.* 282:168-171.
- Shiino M, Watanabe Y, Umezawa K. 2003. Synthesis and tyrosinase inhibitory activity of novel N-hydroxybenzyl-N-nitrosohydroxylamines. *Bioor Chem* 31 : 129–135.
- Takiwaki H, Shirai S, Kohno H, Soh H, Arase S. 1994. The degrees of UVB-induced erythema and pigmentation correlate linearly and are reduced in a parallel manner by tropical anti-inflammatory agents. *J. Invest. Dermatol.* 103. 642-646.



-
- Surono, A. 2004. Profil Rumput Laut Indonesia. Direktorat Jenderal Perikanan Budidaya. Departemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta.
- Sanchez-Ferrer A, Rodrygez-Lopez JN, Garcya-Carmona F. 1995. Tyrosinase: A comprehensive review of its mechanism. *Biochim Biophys Acta*. 1247:1-11.
- Susanto, A.B dan A. Mucktiany. 2002. Strategi Pengembangan Rumput Laut Pada SMK dan Community College. Pros. Seminar Riptek Kelautan Nasional.
- Wawa, J. E. 2005. Pemerintah Provinsi Harus Segera Menyiapkan Lahan Pembibitan. Kompas, 27 Juli 2005. www.kompas.com. (10 Januari 2009).
- Yunizal. 1999. Teknologi Ekstraksi Alginat dari Rumput Laut Coklat (Phaeophyceae). Instalasi Penelitian Perikanan Laut Slipi, Balai Penelitian Perikanan Laut, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perikanan. Jakarta.
- Zheng ZP, Cheng KW, Chao J, Wu J, Wang M. 2008. Tyrosinase inhibitors from paper mulberry (*Broussonetia papyrifera*). *J Food Chem* 106: 529-535.