



**Y A Y A S A N P E R G U R U A N C I K I N I**  
**I N S T I T U T S A I N S D A N T E K N O L O G I N A S I O N A L**

Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640 Telp. (021) 727 0090, 787 4645, 787 4647 Fax. (021) 786 6955, <http://WWW.istn.ac.id> E-mail:rektorat@istn.ac.id

**SURAT PENUGASAN TENAGA PENDIDIK**

Nomor : 151/03.1-H/III/2024

SEMESTER GENAP TAHUN AKADEMIK 2023/2024

**N a m a** : Desy Muliana Wenas, S.Si.,M.Si **Status** : Tetap.  
**Nik** : 01.161375 **Program Sarjana Prodi Farmasi**  
**Jabatan Akademik** : AA

Untuk melaksanakan tugas sebagai berikut:

Bidang	Perincian Kegiatan	Tempat	Jam/ Minggu	Kredit (SKS)	Keterangan
I PENDIDIKAN DAN PENGAJARAN	MENGAJAR DI KELAS (KULIAH/RESPONSI DAN LABORATORIUM)				
	Farmakognosi 2 (C)	Ruang HC-4		1	Rabu, 13:00-14:40
	Farmakognosi 2 (D)	Ruang HC-4		1	Rabu, 15:00-16:40
	Fitokimia 1 (A)	Ruang HC-4		1	Jumat, 10:00-11:40
	Parasitologi (A)	Ruang HC-7		1	Selasa, 08:00-09:40
	Parasitologi (B)	Ruang HC-9		1	Selasa, 10:00-11:40
	Praktikum Farmakognosi (C)	Laboratorium		1	Selasa, 10:00-13:40
	Bimbingan Skripsi		3 Jam/Minggu	1	
	Menguji Tugas Akhir/ Komprehensif		3 Jam/Minggu	1	
Penulisan Buku Ajar		6 Jam/Minggu	2		
II PENELITIAN	Penulisan Karya Ilmiah		6 Jam/Minggu	2	
III PENGABDIAN DAN MASYARAKAT	Pelatihan dan Penyuluhan		3 Jam/Minggu	1	
IV UNSUR UNSUR PENUNJANG	Pertemuan Imiah		3 Jam/Minggu	1	
Jumlah Total				14	

Kepada yang bersangkutan akan diberikan gaji/honorarium sesuai dengan peraturan penggajian yang berlaku di Institut Sains dan Teknologi Nasional  
 Penugasan ini berlaku dari tanggal 01 Maret 2024 sampai dengan tanggal 31 Agustus 2024

**Tembusan :**

- Wakil Rektor Bidang Akademik - ISTN
- Wakil Rektor Bidang Sumber Daya - ISTN
- Ka. Biro Sumber Daya Manusia - ISTN
- Kepala Program Studi Farmasi Fak. Farmasi
- Arsip

**FAKULTAS FARMASI**  
 Jakarta, 01 Maret 2024  
 Dekan  
  
 ( Dr. agt. Titi Rahmatiah, M.Si )

**Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Activities of Unripe and Ripe Fruit and Seed Extracts of *Eugenia uniflora***Desy M. Wenas<sup>1,2</sup>, Berna Elya<sup>2\*</sup>, Sutriyo<sup>3</sup> and Heri Setiawan<sup>4</sup><sup>1</sup>Department of Pharmaceutical Biology, Faculty of Pharmacy, Institut Sains dan Teknologi Nasional, South Jakarta, Indonesia<sup>2</sup>Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, West Java, Indonesia<sup>3</sup>Pharmaceutical Department, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia<sup>4</sup>Department of Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

## ARTICLE INFO

## ABSTRACT

## Article history:

Received : 01 June 2024

Revised : 04 June 2024

Accepted : 12 July 2024

Published online 01 August 2024

**Copyright:** © 2024 Elya *et al.*-In. This is an open-access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

*Eugenia uniflora* is widely distributed in Java island and used in traditional medicine for the treatment of many ailments. This study aims to compare the bioactivity of the seeds and pericarp of the unripe and ripe fruits of *E. uniflora*. The plant parts were extracted by maceration in ethanol. Qualitative and quantitative phytochemical analysis of the extracts was carried out according to standard methods. The antioxidant activity was performed using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays. The antiaging potential was assessed using the tyrosinase inhibitory assay. Phytochemical screening show the presence of alkaloids, flavonoids, and terpenoids in the seed and fruit extracts of *E. uniflora*. The seeds contain more total phenolic and flavonoid contents, as well as a higher antioxidant activity than the fruits. The unripe seeds had the highest antioxidant activity in the DPPH assay with IC<sub>50</sub> value of 4.70 µg/mL, which was comparable to that of quercetin (IC<sub>50</sub> = 4.76 µg/mL). In the FRAP assay, the ripe fruits exhibited the highest antioxidant activity with a FRAP value of 4245.32 µMFSE/100 g extract. The anti-tyrosinase activity assay showed that the unripe and ripe seeds of *E. uniflora* have weak tyrosinase inhibitory activity with IC<sub>50</sub> of 309.96 and 539.67 µg/mL, respectively compared to kojic acid with IC<sub>50</sub> of 27.54 µg/mL. In contrast, the unripe and ripe fruits showed no anti-tyrosinase activity. Therefore, *E. uniflora* seeds possesses higher potential as antioxidant and antiaging agent than *E. uniflora* fruits.

**Keywords:** Antioxidant, Anti-tyrosinase, *Eugenia uniflora*, Seed extract, Fruit extract

## Introduction

The skin is the most superficial layer of the human body. It is the largest organ that protects the body from harmful substances. However, the skin can experience complex biological phenomena involving persistent and unavoidable physiological changes that result in skin aging.<sup>1-3</sup> The skin tissue gradually loses its capacity to replenish or regenerate itself, retain its structure, and carry out its usual functions as it ages. Some people age with age, while others experience faster aging, referred to as early aging.<sup>4-7</sup> Skin aging is a result of intrinsic aging, which is subject to genetic factors associated with chronological age, and extrinsic aging, influenced by environmental factors such as UV exposure, smoking, chemicals, and gravity. One of the most essential factors in extrinsic aging is ultraviolet radiation (UV), which occurs in photoaging, where repeated exposure to sunlight can lead to reactive oxygen species (ROS) formation.<sup>8-10</sup>

Reactive oxygen species (ROS) contribute significantly to the dermal extracellular matrix changes brought about by intrinsic aging and photoaging from a molecular perspective.<sup>11</sup>

Biochemically, in the body, reactive oxygen species (ROS) can be generated through several mechanisms, encompassing the electron transport chain within mitochondria, proteins located in the endoplasmic reticulum, and enzymatic processes.<sup>12,13</sup> Under normal conditions without ligand, receptor tyrosine kinase (RTK) activity on the cellular membrane is suppressed by receptor protein tyrosine phosphatase (RPTP), which catalyzes the dephosphorylation of RTK. However, the cellular chromophore absorbs energy under UV radiation and becomes excited, generating oxidation products and ROS. In addition, the photoaging effect activates an increase in neutrophil elastase influx as a result of induction of the occurring angiogenesis so that the elastin network is degraded and triggers the appearance of wrinkles on the skin.<sup>14,15</sup> Another effect caused by photoaging is the activation of tyrosinase, which causes the formation of eumelanin and hyperpigmentation clinically associated with aging.<sup>16-18</sup>

Cosmetic products that contain antioxidants can reduce signs of skin aging. Recently, the back-to-nature trend has aroused consumer interest in products made from natural ingredients. Moreover, the antioxidants and other biological activities of natural ingredients can improve skin condition. The discovery and development of natural anti-aging ingredients, as well as efforts to find new active compounds that are efficacious, such as tyrosinase inhibitors and free radical scavengers, are good prospects. Therefore, there is the need to search for natural ingredients that could be developed into cosmetic products that would be of great benefits to the community.

\*Corresponding author. Email: [berna.elya@farmasi.ui.ac.id](mailto:berna.elya@farmasi.ui.ac.id),  
Tel: +6281314161497

**Citation:** Wenas, DM, Elya, B, Sutriyo and Setiawan, H. Antioxidant and Tyrosinase Inhibitory Activities of Unripe and Ripe Fruit and Seed Extracts of *Eugenia uniflora*. Trop J Nat Prod Res. 2024; 8(7): 7734-7739 <https://doi.org/10.26538/tjnpr/v8i7.16>

*Eugenia uniflora* is a medicinal plant that belongs to the Myrtaceae family. It originated from Brazil, but widely distributed in Indonesia, especially in the Java province. The multiple-branched shrub is known for its folkloric use in the treatment of stomach disorders, and inflammation.<sup>19</sup> The polyphenols and flavonoids found in *E. uniflora* have been shown to have antioxidant activity that prevents the breakdown of collagen due to free radicals. ROS, promoted by UV radiation, can damage DNA molecules and promote the production of tyrosine, making pigmentation faster than in normal aging.<sup>20</sup> Red colour fruits possess high antioxidant activity due to their abundance of secondary metabolites such as anthocyanins and carotenoids.<sup>21</sup> Anthocyanins have the potential to inhibit tyrosinase enzyme which plays important roles in melanin production and is usually responsible for skin pigmentation. Flavonoids also have potential skin-brightening activity as a tyrosinase inhibitor. The polyhydroxyphenolic structure of flavonoids enables them to function as metal chelators, specifically binding to copper ions in tyrosinase active site.<sup>14</sup> According to various researches, unripe fruits usually contained more phenolics and flavonoids than ripe fruits, and flavonoids in fruit seeds are more than the those in fruits.<sup>15,22,23</sup> Therefore, the fruits and seeds of *Eugenia uniflora* may be potential sources of skin-brightening agents that can be used in cosmetic products. The purpose of this study was to conduct a comparative analysis of the bioactivity of unripe fruit, ripe fruit, unripe seed, and ripe seed of *Eugenia uniflora* with respect to their antioxidant and tyrosinase inhibitory activities, and their total phenolics and flavonoids contents.

## Materials and Methods

### Chemicals and reagents

The reagents used were Trizma base (Sigma Aldrich No.T1503), L-DOPA (Sigma Aldrich SLBR 7591V), gallic acid, kojic acid, quercetin (Sigma Aldrich, India), Folin Ciocalteu Reagent (Merck, Germany), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), TPTZ (2,4,6-tris(2-pyridyl)-s-triazine), ethanol 96%, acetic acid, dimethyl sulfoxide, ferric chloride hexahydrate, hydrochloric acid, aluminum chloride, potassium dihydrogen phosphate, methanol, sodium acetate, sodium hydroxide, and sodium carbonate.

### Sample Preparation

The ripe and unripe fruits of *Eugenia uniflora* were harvested in September 2021, from Jarkata, West Java province, Indonesia (6° 21', 58.4903" S, 106° 51' 48.974" E). The plant samples were identified at the Herbarium Bogoriense, Botany Research Centre-BRIN Cibinong, with voucher number B-126/V/DI.05.07/9/2021. Green and yellow fruits were the unripe fruits, while orange and red fruits were the ripe fruits. The unripe and ripe fruit seeds were separated from the fruit pericarp. The seeds were air-dried at room temperature for 7 days. The fruits (peel and pulp) were freeze-dried and stored in a freezer. The plant materials (unripe fruit seed, ripe fruit seed, unripe fruit pericarp, and ripe fruit pericarp) were powdered, and 5-10 g each of the powdered sample were macerated separately with 70% ethanol at a sample to solvent ratio of 1:10 for 18 hours. The extracts were removed by decantation, and the pulp were remacerated twice. The extracts were concentrated using a rotary evaporator (Büchi Rotavapor R-205, Germany). The concentrated extracts were thereafter kept in the refrigerator at -4°C until ready for use.

### Phytochemical Screening

Qualitative phytochemical screening of the extracts were carried out to check for the presence or absence of secondary metabolites including alkaloids, flavonoids, saponins, tannins, and terpenoids according to standard methods. Terpenoids were identified by Liebermann Burchard's tests, alkaloids by Dragendorff's tests, tannins by the ferric chloride test, and flavonoids by aluminum chloride test.<sup>24</sup>

### Determination of Total Phenolic Content

The total phenolic contents in the extracts of *E. uniflora* fruits and seeds were quantified by colorimetric method using Folin-Ciocalteu

reagent, according to procedures previously described with slight modification.<sup>25</sup> In a 10 mL volumetric flask was mixed 1 mL of each extract solution, 5 mL of 7.5% Folin-Ciocalteu reagent. The mixture was incubated at room temperature for 8 min. A 4 mL volume of 1% sodium hydroxide solution was added to the mixture, and then incubated at room temperature for 1 h while protected from light. The absorbance of the resulting solution was measured at 730 nm using a UV-Vis Spectrometer (Model T80+, PG Instruments Ltd, UK). The experiment was done in triplicates. Gallic acid was used as the reference standard to produce gallic acid calibration curve. The total phenolic contents of the extracts was calculated from the linear regression equation of the gallic acid calibration curve. The total phenolic content for each extract was expressed as milligrams gallic acid equivalent per gram of dried extract (mg GAE/g extract).

### Determination of Total Flavonoid Content

The total flavonoid content of each extract was determined using the Aluminium chloride colorimetric method as previously described.<sup>26</sup> To 0.5 mL of each extract solution was added 2.8 mL distilled water, 1.5 mL ethanol, 0.1 mL AlCl<sub>3</sub> (10%), and 0.1 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1 M). The mixtures were vortexed, and then incubated at room temperature for 30 min while protected from light. The absorbance of the resulting solution was measured at 437 nm using a UV-Vis spectrophotometer (Model T80+, PG Instruments Ltd, UK). The experiment was conducted in triplicates. A standard calibration curve was constructed using quercetin at concentration range of 5-100 mg/L. The total flavonoid content was expressed as milligrams quercetin equivalent per gram of dried extract (mg QE/g extract).<sup>26</sup>

### Determination of Antioxidant Activity

#### 2,2-Diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) Radical Scavenging Assay

A methanol solution of DPPH (0.3 mM) was produced and combined with 5 mL of each extract. The mixtures were incubated at 25°C for 30 min in the dark. Following incubation, the absorbance of the solutions was measured at 517 nm. Gallic acid was used as the standard. The experiments was done in triplicates both for the sample and standard. The percentage inhibition of DPPH radical for each sample was computed using the equation (1), below.<sup>26</sup>

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{control absorbance} - \text{extract absorbance})}{\text{control absorbance}} \times 100 \quad [1]$$

The equation  $y = a + bx$  was derived from a linear regression curve with  $x$  denoting the extract concentration in  $\mu\text{g/mL}$  unit and  $y$  denoting the percentage inhibition (%). The IC<sub>50</sub> value, which corresponds to the concentration needed to cause 50% inhibition of DPPH radical, was obtained using the equation (2) below.

$$IC_{50} = \frac{(50 - a)}{b} \quad [2]$$

#### Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay

The sample solution was mixed with 1 mL of FRAP reagent, and the volume was made up to 5 mL with methanol. The reaction mixture was incubated at room temperature in the dark for 30 min. The absorbance of the resulting solution was measured at 596 nm using a UV-Vis spectrophotometer. Iron (II) sulphate heptahydrate solution (10, 15, 20, 25, and 30  $\mu\text{M}$ ) was used to prepare the calibration curve. Quercetin was used as the positive control. The FRAP value is the amount of Fe<sup>3+</sup> reduced to Fe<sup>2+</sup> by the sample in the presence of FeSO<sub>4</sub>. The FRAP value of the extracts and the positive control was determined using the equation (3) below.<sup>27,28</sup>

$$\text{FRAP value} \left( \mu\text{mol} \frac{\text{FeEAC}}{\text{g}} \right) = \frac{C \times V \times Fp}{m} \quad [3]$$

Where;

C = Sample concentration ( $\mu\text{M}$ )

V = Sample volume (mL)

Fp = Dilution factor

M = Sample Weight (mg)

The FRAP value was expressed as micromolar Ferrous sulphate equivalent per hundred grams of dried extract ( $\mu\text{M FSE}/100\text{ g extract}$ ).

#### Tyrosinase Inhibitory Assay

The antiaging properties of *E. uniflora* extracts were assessed by enzymatic colorimetric method by measuring Tyrosinase inhibitory activity. The extract solution was mixed with 40  $\mu\text{L}$  of tyrosinase (75 units/mL) in a 96-well plate containing 50 mM phosphate buffer pH 6.8 and 40  $\mu\text{L}$  of L-dihydroxyphenylalanine substrate (4 mM). The reaction mixture was incubated at 25°C for 30 min. After incubation, the absorbance of the solution was read at 515 nm using a microplate reader Biotek Epoch 2 (Model No EPOCH2NSC, Agilent, US). The experiment was done in triplicates, and kojic acid was used as standard. The tyrosinase inhibitory activity of the extract was determined using the formula shown in equations 4 below.<sup>29</sup>

$$\text{Tyrosinase Inhibition (\%)} = \frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \times 100 \quad [4]$$

Where;

A = Absorbance of control with enzyme

B = Absorbance of control without enzyme

C = Absorbance of sample with enzyme

D = Absorbance of sample without enzyme

IC<sub>50</sub> values were determined using the formula presented in equation 2.

#### Statistical analysis

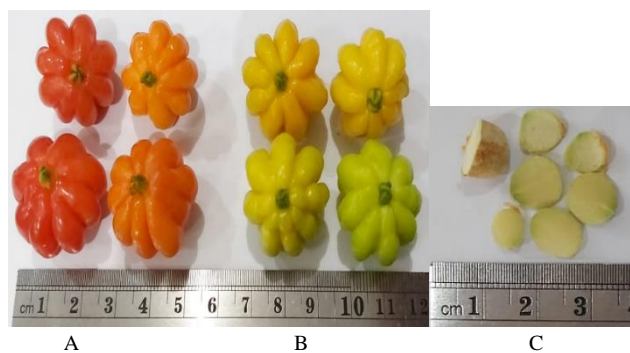
All the assays were done in triplicates, and data was expressed as mean  $\pm$  standard deviation (SD).

The data were analysed using Microsoft Excel 2018 software.

## Results and Discussion

#### Extract yield

The colour of the fruits differentiate between the ripe and unripe fruits. Green and yellow colour indicate unripe fruits, while orange and red colour indicate ripe fruits (Figure 1). The percentage yields of the ethanol extracts of the unripe fruits and ripe fruits were 40.93% (w/w) and 37.39% (w/w), respectively, while that of the seeds of unripe fruits and the seeds of ripe fruits, were 16.72% (w/w) and 15.14% (w/w), respectively.



**Figure 1:** Fruits and seeds of *Eugenia uniflora*. A: Ripe Fruit (red, orange). B: Unripe Fruit (yellow, green). C: Seeds.

#### Phytochemical constituents of *Eugenia uniflora* extracts

The qualitative phytochemical analysis of *Eugenia uniflora* seed and fruit extracts showed a variation in the phytochemicals present in the different plant parts. Alkaloids, flavonoids, and terpenoids were present in both seeds and fruits, whereas, saponins was detected in the fruit only (Table 1).

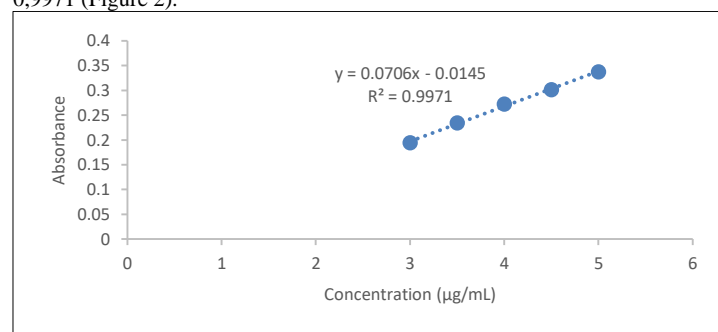
**Table 1:** Phytochemical constituents of *Eugenia uniflora* extracts

Extract	Alkaloids	Flavonoids	Terpenoids	Saponins
Unripe seed	+	+	+	-
Ripe seed	+	+	+	-
Unripe fruit	+	+	+	+
Ripe fruit	+	+	+	+

+ indicate presence of phytochemical; - indicate absence of phytochemical.

#### Total phenolic and flavonoid contents of *Eugenia uniflora* extracts

The seed and fruit pericarp extracts of *Eugenia uniflora* were assessed for their total phenolic content (TPC) using gallic acid as standard. The linear regression equation derived from the gallic acid calibration curve was given as  $y = 0.0706x - 0.0145$  with R-squared value of 0.9971 (Figure 2).



**Figure 2:** Gallic acid calibration curve for estimation of total phenolic content

Plant polyphenols reacts with Folin-Ciocalteu reagent to generate a complex with a blue colour the intensity of which is measured by UV-VIS spectrophotometer. The fundamental principle behind determining phenol content using the Folin Ciocalteu reagent involves the generation of a blue molybdenum compound by reducing phosphomolybdate phosphotungstate by phenolic compounds. The spectrophotometric measurement of the intensity of the blue colour allows for the quantification of the phenolic content. Phenolic content is usually expressed in terms of Gallic Acid Equivalent (GAE), which represents the amount of gallic acid in milligrams present in one gram of the test substance. The result of this study shows that the unripe seeds of *Eugenia uniflora* has the highest concentration of phenolic compounds ( $127.67 \pm 16.76\text{ mgGAE/g extract}$ ), followed by the ripe seed, unripe fruit, and ripe fruit (Table 2). The unripe fruit TPC was about two times that of the ripe fruit extract. This result is similar to that of Celli *et al.* (2011) which found that the green unripe fruit extract of *Eugenia uniflora* has more amount of total phenols than the mature fruit extract.<sup>22</sup>

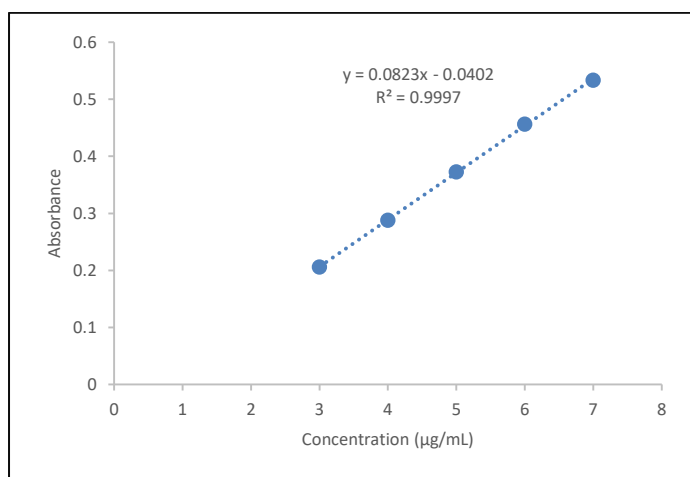
The seed and fruit extracts of *E. uniflora* were assessed for their total flavonoid content using aluminum chloride colorimetric test. The aluminum chloride solution may attach to the carbonyl group (or hydroxyl group) and form a stable complex. Furthermore, it is plausible that labile acid complexes may also be formed with hydroxyl groups located in the ortho position within the B ring of flavonoids.<sup>14</sup> A calibration curve of quercetin standard was used to estimate the total flavonoid content in *E. uniflora* extract. The resulting curve has a linear regression equation of  $y = 0.0082x - 0.0402$  with a coefficient of determination ( $R^2$ ) value of 0.9997 (Figure 3).

The result from this study shows that the highest concentration of flavonoids ( $3.21 \pm 0.09\text{ mg QE/g extract}$ ) was found in the unripe seed. This was followed by ripe seed, unripe fruit, and ripe fruit (Table 2). This happens because flavonoids accumulate in the seeds of most plants, including *Eugenia uniflora*. This finding is also supported by that of Celli *et al.* (2011), who found that the total phenolic content of the immature green fruit extract of *Eugenia uniflora* was higher than that of the ripe red fruit extract.<sup>22</sup>

**Table 2:** Total phenolic and total flavonoid contents of *Eugenia uniflora* extracts

Extract	Total phenols (mgGAE/g dry extract)	Total flavonoids (mgQE/g dry extract)
Unripe seed	127.67 ± 16.76	3.21 ± 0.09
Ripe seed	115.46 ± 11.73	2.72 ± 0.04
Unripe fruit	23.96 ± 7.99	0.70 ± 0.04
Ripe fruit	10.48 ± 0.04	0.44 ± 0.01

Values are mean ± standard deviation (SD) of triplicates determination

**Figure 3:** Quercetin calibration curve for estimation of total flavonoid content

#### Antioxidant Activity of *Eugenia uniflora* Extracts

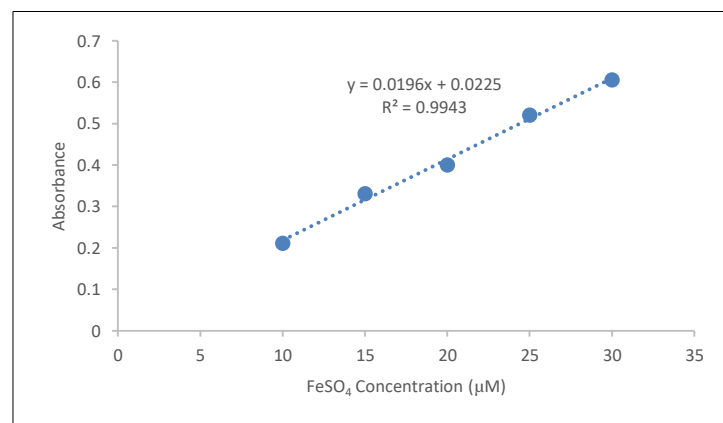
The antioxidant activity of *Eugenia uniflora* extracts was assessed using DPPH radical scavenging activity and the ferric reducing antioxidant power (FRAP). Antioxidant activity assessment using the DPPH radical scavenging activity is based on the concept that DPPH concentration decreases linearly with a corresponding decrease in the intensity of the purple DPPH colour in the presence of antioxidant compounds. DPPH will receive hydrogen from the test antioxidant substance, forming a yellow reduced DPPH-H.<sup>30</sup> This approach is also based on the capacity of antioxidants to transfer electrons and counteract the unpaired electrons on the DPPH free radical. This process results in a change in colour from deep violet to yellow, accompanied by a decrease in absorbance value. The antioxidant activity of the test sample, specifically the ability to scavenge DPPH free radical, improves as the absorbance decreases.<sup>31</sup> DPPH free radical is present as a monomer and can dissolve in ethanol or methanol, but it is insoluble in water. In this study, the DPPH radical scavenging assay employs various concentrations of the test sample to determine the percentage of DPPH scavenging activity of each sample concentration. The result of the DPPH radical scavenging activity shows that the unripe seed extract has the highest antioxidant activity compared to the other extracts. In addition, the seed extracts have higher antioxidant activity than the fruit extracts, based on the IC<sub>50</sub> values obtained. The IC<sub>50</sub> value is the concentration of a test substance required to inhibit 50% of the radical activity under the experimental conditions. Antioxidant capacity can be classified into five levels: very high, high, medium, low, and very low. Antioxidants possess high potency when their IC<sub>50</sub> value is below 50 µg/mL. Antioxidants are classified as strong if their IC<sub>50</sub> value ranges from 50-100 µg/mL, moderate if the IC<sub>50</sub> value falls within 100-150 µg/mL, and weak if the IC<sub>50</sub> value ranges from 150-200 µg/mL. An IC<sub>50</sub> value exceeding 200 µg/mL designates an antioxidant belonging to the category of extremely weak potency.<sup>32</sup>

For the FRAP assay, the antioxidant activity of *Eugenia uniflora* extracts was assessed using the FRAP value. The higher the FRAP value, the higher the antioxidant activity. The FRAP value was obtained from the equation of the calibration curve of ferrous sulfate

heptahydrate, which was  $y = 0.0196x + 0.0225$  with coefficient of determination ( $R^2$ ) value of 0.9943 (Figure 4). The FRAP values for *Eugenia uniflora* unripe seed, ripe seed, unripe fruit, ripe fruit, and quercetin were  $3207.91 \pm 33.75$ ,  $4245.32 \pm 19.48$ ,  $197.39 \pm 1.28$ ,  $106.19 \pm 3.98$ , and  $1177.99 \pm 39.11$  µMFE/100 g extract, respectively (Table 3).

Therefore, the unripe and ripe seed extracts of *Eugenia uniflora* have very strong antioxidant activity, while the unripe and ripe fruit extracts have moderate antioxidant activity. Phenolic compounds are known to be a major determinants of the free radical scavenging ability of plants. Polyphenolic compounds have predominantly polar groups, rendering them more soluble in organic solvents than aqueous solvents. Therefore, the selection of the extraction solvent holds significant importance in the antioxidant activity of the extract.<sup>33</sup>

Flavonoids and phenolic compounds in the ethanol extracts of *Eugenia uniflora* seeds and fruits could contribute significantly to their strong antioxidant activity. Plants with a high concentration of phenolic compounds are recognized for their inherent ability to act as natural antioxidants. The high phenolic content may be attributed to the existence of flavonoids, which are prominent components of biologically potent medicinal plants. These findings are consistent with the results of the qualitative phytochemical screening. Flavonoids have various pharmacological benefits, such as antioxidant, antidiabetic, neuroprotective, antibacterial, and anti-inflammatory activities.<sup>34</sup> This result is supported by the study of Girardelo *et al.* (2020)<sup>35</sup>, which proved that seed extract of *Eugenia involucrata* have stronger *in vitro* antioxidant capacity than the fruit extract. The seed extract of *Eugenia involucrata* was also found to have a higher phenolic content than the fruit extract.<sup>35</sup>

**Figure 4:** FeSO<sub>4</sub> calibration curve for FRAP antioxidant activity

#### Tyrosinase Inhibitory Activity of *Eugenia uniflora* Extracts

The tyrosinase inhibitory activity assay aims to evaluate the efficacy of *E. uniflora* extracts as antiaging agent. The potential of cosmetic antiaging agents can be assessed by evaluating their ability to inhibit tyrosinase during eumelanin synthesis. In tyrosinase inhibitory activity assay, mushroom tyrosinase is used as the enzyme, L-dihydroxyphenyl-alanine is used as the substrate, while kojic acid is used as a standard to determine tyrosinase inhibition.<sup>29</sup> Melanin synthesis involves the conversion of L-tyrosine to dopaquinone through hydroxylation and oxidation reactions facilitated by a tyrosinase enzyme that contains copper. This multifunctional tyrosinase enzyme is crucial in the process of melanin production. The enzyme plays significant role in the mechanism of melanin synthesis by facilitating two phases that determine the overall rate of the reaction. These steps include monophenolase activity which catalyzes the process of hydroxylation of L-tyrosine to generate L-dopa, followed by the subsequent oxidation of L-dopa to yield dopaquinone.<sup>36</sup>

The tyrosinase inhibitory activity assay results show that the IC<sub>50</sub> of *E. uniflora* unripe seed extract was  $309.96 \pm 1.94$  µg/mL, while that of the ripe seed extract was  $539.67 \pm 11.85$  µg/mL (Table 3). The IC<sub>50</sub> value is the concentration of an inhibitor required to inhibit 50% of the

enzyme activity under the experimental conditions. The tyrosinase inhibitory activity of the extract is considered significantly high when it exhibits an IC<sub>50</sub> value less than 100 µg/mL. The tyrosinase inhibitory activity is categorized as weak if the IC<sub>50</sub> value is 100 - 450 µg/mL, and 450 - 700 µg/mL is an extremely weak category of anti-tyrosinase activity.<sup>37</sup> Therefore, the unripe and ripe seed extracts of *Eugenia uniflora* are considered as weak tyrosinase inhibitor, while the unripe and ripe fruit extracts do not have tyrosinase inhibitory activity. The tyrosinase inhibitory activity of *E. uniflora* fruit and seed extracts has not been investigated in any previous study. However,

some other *Eugenia* genera are able to inhibit the activity of tyrosinase enzyme, for example, the clove bud oil of *Eugenia caryophyllata*, and the leaf extract of *Eugenia dysenterica* have tyrosinase inhibitory activity with IC<sub>50</sub> values of 8.2 µg/mL, and 11.88 µg/mL, respectively.<sup>38,39</sup>

**Table 3:** Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of *Eugenia uniflora* extracts

Sample	DPPH RSA (IC <sub>50</sub> in µg/mL)	FRAP (FSE/100g Extract)	Tyrosinase Inhibitory Activity (IC <sub>50</sub> in µg/mL)
Unripe seed	4.70 ± 0.16	3207.91 ± 33.75	309.96 ± 1.94
Ripe seed	5.23 ± 0.04	4245.32 ± 19.48	539.67 ± 11.85
Unripe fruit	78.58 ± 1.73	197.39 ± 1.28	> 1000
Ripe fruit	148.06 ± 2.33	106.19 ± 3.98	> 1000
Positive control	Q: 4.76 ± 0.03	Q: 1177.99 ± 39.11	KA : 27.54 ± 1.09

Values are mean ± standard deviation (SD) of triplicates determination. Q: Quercetin, KA: kojic acid

## Conclusion

The seed extracts of *Eugenia uniflora* have been shown to have higher total phenolic and flavonoid contents than the fruit extract. Similarly, the antioxidant activity was higher in the seeds compared to the fruits. The tyrosinase inhibitory activity assay showed that *Eugenia uniflora* unripe and ripe seed extracts have weak tyrosinase inhibitory activity. In contrast, the unripe and ripe fruit extracts showed no anti-tyrosinase activity. These findings suggest that the seed extract of *E. uniflora* have better capacity as antioxidant and antiaging agent than the fruit extract.

## Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

## Authors' Declaration

The authors hereby declare that the work presented in this article is original and that any liability for claims relating to the content of this article will be borne by them.

## Acknowledgments

The authors are grateful to Head of Pharmacognosy Laboratory in Pharmacy Faculty University Indonesia for research facilities

## References

- Zhang S and Duan E. Fighting against Skin Aging. *Cell Transplant*. 2018; 27(5):729–738.
- Yousef H, Alhadj M, Sharma S. Anatomy, Skin (Integument), Epidermis. *StatPearls Publ*. 2020.
- Nur S, Hanafi M, Setiawan H, Nursamsiar N, Elya B. *In silico* evaluation of the dermal antiaging activity of *Molineria*. *J Pharm Pharmacogn Res*. 2023; 11:325–345.
- Zhi-ying Y, Guo-xiong G, Wei-qin Z, Zhe-fu L. Elastolytic activity from *Flavobacterium odoratum*. Microbial screening and cultivation, enzyme production and purification. *Proc Biochem*. 1994; 29(6):427–436.
- Amaro-Ortiz A, Yan B, D'Orazio JA. Ultraviolet radiation, aging and the skin: Prevention of damage by topical cAMP manipulation. *Molecules*. 2014; 19(5):6202–6219.
- Anggraini NB, Elya B, Iskandarsyah. Anti-elastase, antioxidant, total phenolic and total flavonoid content of macassar kernels (*Rhus javanica* L) from pananjung pangandaran nature tourism park- Indonesia. *J Nat Rem*. 2020; 20:61–67.
- Lukitaningsih E, Nur S, Qonithah F, Zulbayu A, Kuswahyuning R, Rumiati R. *In vitro* anti-wrinkle and tyrosinase inhibitory activities of grapefruit peel and strawberry extracts. *Maj Obat Tradis*. 2020; 25:182–189.
- Nur S, Aswad M, Yulianty R, Burhan A, Khairi N, Sami FJ, Nursamsiar. The antioxidant and anti-ageing activity of lyophilisate kersen (*Muntingia calabura* L) fruit *in vitro*. *Food Res*. 2023; 7(2):749.
- Otang-Mbeng W and Sagbo II. Anti-melanogenesis, antioxidant and anti-tyrosinase activities of *Scabiosa columbaria* L. *Processes*. 2020; 8(2):236..
- Purohit T, He T, Qin Z, Li T, Fisher GJ, Yan Y, Voorhees JJ, TQuan T. Smad3-dependent regulation of type I collagen in human dermal fibroblasts: Impact on human skin connective tissue aging. *Journal of Dermatological Science* 2016; 83(1):80-83.
- Shin JW, Kwon SH, Choi JY, Na JI, Huh CH, Choi HR, Park KC. Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches. *Int J Mol Sci*. 2019; 20(9):2126.
- Snezhkina AV, Kudryavtseva AV, Kardymon OL, Savvateeva MV, Melnikova NV, Krasnov GS, Dmitriev AA. ROS generation and antioxidant defense systems in normal and malignant cells. *Oxid Med Cell Long*. 2019; 2019:6175804.
- Oh YS, Shin SY, Kim S, Lee KH, Shin JC, Park KM. Comparison of antiaging, anti-melanogenesis effects, and active components of Raspberry (*Rubus occidentalis* L.) extracts according to maturity. *J Food Biochem*. 2020; 44(11):e13464.
- Şöhretoğlu D, Sari S, Barut B, Özel A. Tyrosinase inhibition by some flavonoids: Inhibitory activity, mechanism by *in vitro* and *in silico* studies. *Bioorg Chem*. 2018; 81:168–174.
- Sriwatcharakul S. Evaluation of bioactivities of *Phyllanthus emblica* seed. *Energ Rep*. 2020; 6:442–447.
- Apak R, Capanoglu E, Shahidi F. Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications. *Measurement of Antioxidant Activity and Capacity: Recent Trends and Applications*. 2017.
- Apak R, Güçlü K, Özyürek M, Bektaşoğlu B, Bener M. Cupric ion reducing antioxidant capacity assay for antioxidants in human serum and for hydroxyl radical scavengers. *Methods Mol Biol*. 2010; 594:215-239.
- Solano F. Photoprotection and skin pigmentation: Melanin-related molecules and some other new agents obtained from natural sources. *Molecules*. 2020; 25:1537.

19. Melo RM, Corrêa VFS, Amorim ACL, Miranda ALP, Rezende CM. Identification of Impact Aroma Compounds in *Eugenia uniflora* L. (Brazilian Pitanga) Leaf Essential Oil. *J. Braz Chem Soc.* 2017; 18:179–183.
20. Fisher GJ, Sachs DL, Voorhees JJ. Ageing: Collagenase-mediated collagen fragmentation as a rejuvenation target. *Br J Dermatol.* 2014; 171:446–449.
21. Míguas I, Baenas N, Gironés-Vilaplana A, Cesio MV, Heinzen H, Moreno DA. Phenolic Profiling and Antioxidant Capacity of *Eugenia uniflora* L. (Pitanga) Samples Collected in Different Uruguayan Locations. *Foods* 2018; 7(5):67.
22. Celli GB, Pereira-Netto AB, Beta T. Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. *Food Res Int.* 2011; 44:2442–2451.
23. Xi W, Lu J, Qun J, Jiao B. Characterization of phenolic profile and antioxidant capacity of different fruit part from lemon (*Citrus limon* Burm.) cultivars. *J Food Sci Technol.* 2017; 54:1108–1118.
24. Wenas DM, Aliya LS, Anjani WM. Formula of Yellow Kepok Banana (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana*) Corm Extracts As Antiinflammation. *Bull Penelit Tanam Remp Ob.* 2020; 30:100.
25. Wiliantari S, Iswandana R, Elya B. Total Polyphenols, Total Flavonoids, Antioxidant Activity and Inhibition of Tyrosinase Enzymes from Extract and Fraction of *Passiflora ligularis* Juss. *Pharmacogn J.* 2022; 14:660–671.
26. Sulistyowati, Elya B, Iswandana R, Nur S. Phytochemicals and *in vitro* antiaging activity of ethanolic extract and fractions of *Rubus fraxinifolius* Poir. leaves. *J Pharm Pharmacogn Res.* 2023; 11:595–610.
27. Nur S, Mubarak F, Jannah C, Winarni DA, Rahman DA, Hamdayani LA, Sami FJ. Total phenolic and flavonoid compounds, antioxidant and toxicity profile of extract and fractions of paku atai tuber (*Angiopteris ferox* Copel). *Food Res.* 2019; 3:734–740.
28. Amalia A, Nugraha MFI, Sukenda S, Elya B. *In Vitro* Phytochemical, Antioxidant, and Antibacterial Evaluations of Various Extracts of *Eleocharis dulcis* (Burm.f.) Trin. ex Hensch. *Trop J Nat Prod Res.* 2023; 7:2911–2918.
29. Nur S, Rumiyyati R, Lukitaningsih E. Screening of Antioxidants, Anti-aging and Tyrosinase activities of ethanolic and ethyl acetate extracts of fruit flesh and fruit peel langsung (*Lansium domesticum* Corr) *in vitro*. *Maj Obat Tradis.* 2017; 22:63.
30. Kedare SB and Singh RP. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *J Food Sci Technol.* 2011; 48:412–422.
31. Rijai L, Herman, Rijai AJ, Rija'IHR, Arifian H, Febrina L, Supriatno, Rahmadani A. Exploration The Antioxidant and Cytotoxic Activities of Saponins from *Lepisanthes amoena* and *Fordia splendidissima* (Blume ex Miq.) Buijsen. *Trop J Nat Prod Res.* 2024; 8(2):6218–6223.
32. Yuniarti R, Nadia S, Alamanda A, Zubir M, Syahputra RA, Nizam M. Characterization, Phytochemical Screenings and Antioxidant Activity Test of Kratom Leaf Ethanol Extract (*Mitragyna speciosa* Korth) Using DPPH Method. *J Phys Conf Ser.* 2020; 1462:012026.
33. Kaczorová D, Karalija E, Dahija S, Bešta-Gajević R, Parić A, Čavar Zeljković S. Influence of Extraction Solvent on the Phenolic Profile and Bioactivity of Two *Achillea* Species. *Molecules.* 2021; 26(6):1601.
34. Akinwunmi OA, Popoola OK, Nwozo SO, Olanipekun AD, Faleye FJ. Total antioxidant and Anti-tyrosinase Activities of Methanol Extract of Ripe *Nauclea latifolia* Fruits and its Chromatographic Fractions. *Trop J Nat Prod Res.* 2022; 6, 806–810.
35. Girardelo JR, Munari EL, Dallorsoleta JCS, Cechinel G, Goetten ALF, Sales LR, Reginatto FH, Chaves VC, Smaniotto FA, Somacal S, Emanuelli T, Benech JC, Soldi C, Winter E, Conterato GMM. Bioactive compounds, antioxidant capacity and antitumoral activity of ethanolic extracts from fruits and seeds of *Eugenia involucrata* DC. *Food Res Int.* 2020; 137:109615.
36. Lee B, Lee H, Choi C, Lee J, Jin M, Lim J, Cho S, Kim W, Kim S, Kim I, Ko B, Lee Y, Kwon S, Kim E. Swertiajaponin inhibits skin pigmentation by dual mechanisms to suppress tyrosinase. *Oncotarget.* 2017;8:95530–95541.
37. Tahir M, Suhaenah A, Rahim Y. Antioxidant Activity Potency Ethanol Extract and n-Heksan Fraction Pamelofruit (*Citrus maxima* (Burm) Merr) from Pangkep District. *J. Fitofar Indones.* 2020; 7:18–22.

**Buku Ajar**



# **BOTANI** **FORMASI**

**Tim Penulis :**

**Desy Muliana Wenas, M.Si**

**Nurul Inayah Iskandar, S.Apt., M.M., M.K.M**

**Vilya Syafriana, M.Si**



# BUKU AJAR BOTANI FARMASI

## **Tim Penulis :**

Desy Muliana Wenas, M.Si  
Nurul Inayah Iskandar, S.Apt., M.M., M.K.M  
Vilya Syafriana, M.Si

**Penerbit**

**SONPEDIA.COM**  
PT. Sonpedia Publishing Indonesia

**BUKU AJAR  
BOTANI FARMASI**

**Tim Penulis :**

Desy Muliana Wenas, M.Si

Nurul Inayah Iskandar, S.Apt., M.M., M.K.M

Vilya Syafriana, M.Si

***ISBN : 978-623-514-022-3 (PDF)***

**Editor :**

Efitra

**Penyunting :**

Nur Safitri

**Desain sampul dan Tata Letak :**

Yayan Agusdi

**Penerbit :**

PT. Sonpedia Publishing Indonesia

**Redaksi :**

Jl. Kenali Jaya No 166 Kota Jambi 36129 Telp. +6282177858344

Email : [sonpediapublishing@gmail.com](mailto:sonpediapublishing@gmail.com)

Website : [www.buku.sonpedia.com](http://www.buku.sonpedia.com)

**Anggota IKAPI : 006/JBI/2023**

Cetakan Pertama, Juli 2024

Hak cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak karya tulis ini dalam bentuk dan dengan cara apapun tanpa ijin dari penerbit

## KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan buku ini dengan baik. Buku ini berjudul "**BUKU AJAR BOTANI FARMASI**". Tidak lupa kami ucapkan terima kasih bagi semua pihak yang telah membantu dalam penulisan dan penerbitan buku ini.

Buku Ajar ini disusun sebagai buku panduan komprehensif yang menjelajahi kompleksitas dan mendalamnya tentang ilmu botani formasi. Buku ini dapat digunakan oleh pendidik dalam melaksanakan kegiatan pembelajaran di bidang ilmu botani formasi dan diberbagai bidang Ilmu terkait lainnya. Buku ini juga dapat digunakan sebagai panduan dan referensi mengajar mata kuliah botani formasi dan menyesuaikan dengan rencana pembelajaran semester tingkat perguruan tinggi masing-masing.

Secara garis besar, buku ajar ini pembahasannya mulai dari pengantar dan ruang lingkup botani farmasi, terminologi karakter morfologi tumbuhan, struktur bagian dalam sel tumbuhan. Buku ini disusun secara sistematis dengan penjelasan yang jelas, contoh soal, dan latihan untuk memperkuat pemahaman. Buku ini merupakan pegangan yang ideal bagi mahasiswa dan pendidik untuk menguasai ilmu teori pembelajaran dengan baik.

Buku ini mungkin masih terdapat kekurangan dan kelemahan. Oleh karena itu, saran dan kritik para pemerhati sungguh penulis harapkan. Semoga buku ini memberikan manfaat dan menambah khasanah ilmu pengetahuan dalam pembelajaran.

Depok, Juni 2024

**Tim Penulis**

# DAFTAR ISI

<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>ii</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>iii</b>
<b>KEGIATAN BELAJAR 1 PENGANTAR DAN RUANG LINGKUP BOTANI FARMASI.....</b>	<b>1</b>
DESKRIPSI, KOMPETENSI DAN PETA KONSEP PEMBELAJARAN	
A. PENGERTIAN BOTANI FARMASI.....	3
B. SEL TUMBUHAN.....	4
C. JARINGAN .....	11
D. METABOLISME.....	11
E. FOTOSINTESIS.....	13
F. SENYAWA FITOKIMIA .....	19
G. RANGKUMAN .....	24
H. TES FORMATIF .....	26
I. LATIHAN.....	27
<b>KEGIATAN BELAJAR 2 TERMINOLOGI KARAKTER MORFOLOGI TUMBUHAN.....</b>	<b>28</b>
DESKRIPSI, KOMPETENSI DAN PETA KONSEP PEMBELAJARAN	
A. DEFINISI MORFOLOGI TUMBUHAN .....	29
B. RANGKUMAN .....	46
C. TES FORMATIF .....	47
D. LATIHAN.....	50
<b>KEGIATAN BELAJAR 3 STRUKTUR BAGIAN DALAM SEL TUMBUHAN.....</b>	<b>52</b>
DESKRIPSI, KOMPETENSI DAN PETA KONSEP PEMBELAJARAN	
A. PENDAHULUAN: SEJARAH PENEMUAN SEL.....	53
B. STRUKTUR SEL TUMBUHAN .....	54

C. PERBEDAAN SEL TUMBUHAN DENGAN ORGANISME LAIN .....	73
D. RANGKUMAN .....	75
E. TES FORMATIF .....	75
F. LATIHAN.....	77
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>78</b>
<b>TENTANG PENULIS .....</b>	<b>82</b>

# KEGIATAN BELAJAR 1

## PENGANTAR DAN RUANG LINGKUP BOTANI FARMASI

### DESKRIPSI PEMBELAJARAN

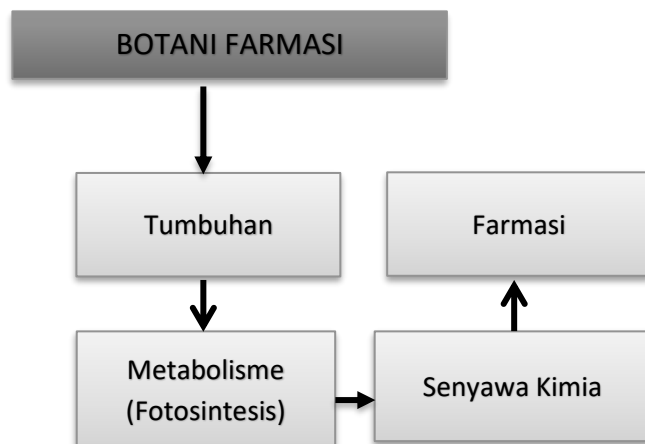
Pada bab ini mahasiswa mempelajari pengenalan dan konsep dasar teoritis botani farmasi. Diharapkan mahasiswa memiliki wawasan dan pemahaman untuk modal dasar mempelajari botani farmasi lebih lanjut.

### KOMPETENSI PEMBELAJARAN

Setelah mengikuti perkuliahan ini diharapkan mahasiswa dan mahasiswi memiliki pengetahuan dan kemampuan :

1. Mampu menguraikan definisi pemrograman dan bahasa pemrograman.
2. Mampu menjelaskan fungsi dan manfaat bahasa pemrograman
3. Mampu menjelaskan tingkatan, struktur, jenis-jenis bahasa pemrograman.

### PETA KONSEP PEMBELAJARAN



Pengobatan modern saat ini sebagian besar berasal dari tumbuhan. Pada awalnya manusia purbakala menggunakan sumber daya alam yang berada di sekitar mereka untuk membantu meringankan rasa sakit penyakit yang dideritanya. Setelah dirasakan adanya manfaat, manusia mulai mengingat khasiatnya. Manusia terus mempelajari tumbuhan lain serta mencoba cara lain dalam yang dapat memberikan pemulihan maupun manfaat kesehatan. dan memberitahu informasi khasiat empiris tersebut kepada keturunan-keturunannya.

Seekor orangutan jantan di Suaq Balimbing (Taman Nasional Leuser Aceh) diketahui memanfaatkan tumbuhan untuk mengobati luka di bawah mata kanannya pada Juni 2022. Luka yang didapatinya setelah berkelahi dengan pejantan lain. Rakus, nama orangutan, mengunyah daun akar kuning (*Fibraurea tinctoria*), lalu berulang kali mengambil cairan hasil kunyahan (sari daun) itu dari mulutnya dan mengoles di atas lukanya.

Rakus melakukannya berulang kali, selama tujuh menit. Sampai akhirnya, dia bahkan menaruh lebih banyak kunyahan daun di atas lukanya, menutup luka tersebut. Itu terlihat seperti plester luka berwarna hijau. Luka itu pun sembuh dengan sangat cepat. Dalam waktu empat hari, luka itu sudah tertutup. Itu terjadi tanpa ada tanda-tanda infeksi luka.

*Fibraurea tinctoria* atau akar kuning merupakan tumbuhan. Yang digunakan dalam pengobatan etnobotani dan penyembuh yang sangat manjur. Kegunaannya antara lain antiinflamasi, antibakteri, antivirus, antijamur, juga membantu melawan rasa sakit dan menurunkan demam. Jadi, semua itu mungkin telah membantu Rakus dalam proses penyembuhannya yang cepat. Pengamatan ini adalah yang pertama kalinya satwa liar diamati mengoleskan daun penyembuh di atas luka. Penemuan tersebut dilakukan oleh Dr. Isabelle Laumer dalam tim peneliti orangutan kerjasama riset jangka panjang antara Max Planck Institute of Animal Behaviour,

dengan Prodi Biologi Fakultas Biologi dan Pertanian Universitas Nasional. Untuk mendapatkan pengetahuan khasiat suatu tanaman, kita perlu memahami, membedakan serta mengidentifikasi suatu tumbuhan. Dengan demikian, kita perlu mempelajari botani farmasi.

## **A. PENGERTIAN BOTANI FARMASI**

Botani farmasi merupakan ilmu yang mempelajari tumbuhan yang terkait dengan ilmu farmasi. Tumbuhan diketahui memiliki banyak manfaat dalam pemeliharaan kesehatan. Agar dapat mengerti manfaat farmasi, perlu pelajari struktur dan fisiologis dari tumbuhan.

Secara umum, botani farmasi dikelompokkan menjadi 2 bagian utama, yaitu morfologi dan anatomi tumbuhan. Morfologi botani farmasi lebih menekankan bagian tumbuhan yang dapat diamati dari luar tumbuhan secara langsung, seperti daun, batang, akar, bunga, serta buah. Anatomi botani farmasi memfokuskan bagian-bagian tumbuhan yang diamati dengan bantuan mikroskop, seperti organel sel, sel serta jaringan tumbuhan.

Tumbuhan secara umum merupakan organisme autotrofik yang mampu memanfaatkan radiasi matahari untuk memecah molekul air ( $H_2O$ ) dan mereduksi senyawa karbon dioksida ( $CO_2$ ) yang akhirnya dapat disimpan sebagai polisakarida tidak larut (pati / *starch*) atau digunakan langsung dalam sintesis senyawa lain. Glukosa merupakan substrat utama untuk respirasi. Respirasi adalah proses pemecahan karbohidrat menjadi energi berbentuk ATP (energi tinggi ikatan fosfat) dengan oksigen ( $O_2$ ) sebagai akseptor elektron terakhir. Energi yang diperoleh dari proses respirasi digunakan dalam proses metabolisme terutama anabolisme.



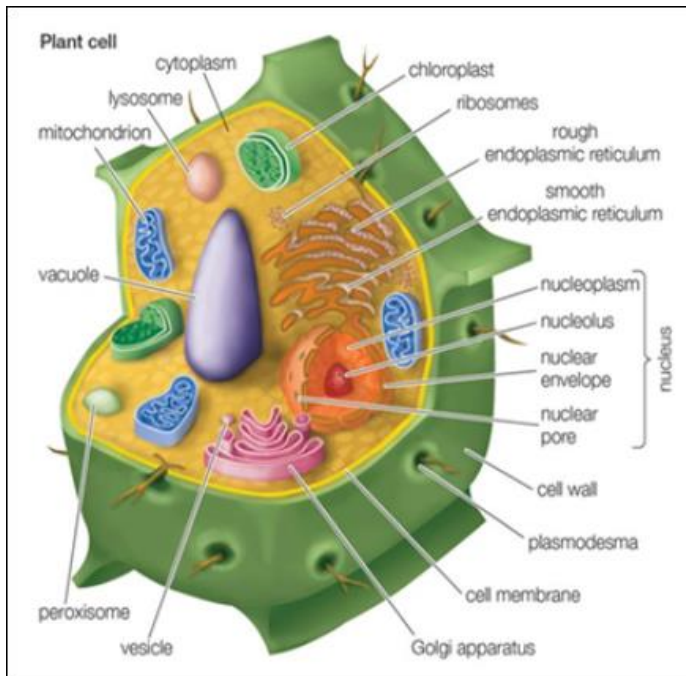
## **B. SEL TUMBUHAN**

Anatomi struktur sel tumbuhan dapat dipelajari dengan menggunakan mikroskop. Mikroskop dimanfaatkan untuk menganalisis materi tumbuhan terkait medis. Simplisia diiris cukup tipis dan kecil agar cahaya dapat melewatinya dan pengamatan di bawah mikroskop dapat dilakukan.

Dua jenis sel secara umum yaitu sel prokariotik dan sel eukariotik. Sel Tumbuhan termasuk sel eukariotik. Sel eukariotik mengandung inti sel yang dilengkapi membran inti dan sejumlah organel membran. Yang termasuk sel eukariotik lainnya, yaitu hewan, fungi dan protista.

Sel tumbuhan dilengkapi dengan organel membran seperti retikulum endoplasma, ribosom, mitokondria, badan golgi. Organel yang hanya ditemukan pada sel tumbuhan dan tidak pada hewan yaitu dinding sel, plastid dan vakuola. Perangkat-perangkat sel tersebut dapat mendukung tumbuhan dalam proses metabolisme serta fotosintesis.

Ciri unik lainnya dari sel tumbuhan adalah adanya totipoten, istilah yang berarti bahwa satu sel tumbuhan vegetatif mempunyai kapasitas untuk memunculkan seluruh tumbuhan. Komponen sistem tumbuhan seperti akar, batang, daun bunga dan buah muncul dari genom yang sama tetapi masing-masing dibedakan berdasarkan kekhasannya peran yang muncul dari ekspresi gen yang berbeda. Setiap bagian mempunyai fungsi yang unik berperan dalam perkembangan dan fungsi tumbuhan. Fungsi sebenarnya dari individu sel diatur untuk fungsi terkoordinasi dari seluruh tumbuhan.



Gambar 1.1 Struktur sel tumbuhan (Korniiievskiy *et al.*, 2021).

### Dinding Sel

Dinding sel tumbuhan terdiri dari selulosa sebagai komponen utamanya. Keberadaan dinding sel tumbuhan merupakan bagian yang membedakan tumbuhan dari hewan. Dinding sel memberikan kekuatan mekanik pada tubuh tanaman, memungkinkan pertumbuhan tegak dan pembentukan struktur, dan juga memainkan peran penting dalam proses seluler seperti ekspansi sel, diferensiasi jaringan, komunikasi antar sel, pergerakan air dan respon pertahanan terhadap hama atau patogen. Dinding sel bahkan mungkin terlibat dalam penginderaan sinyal selama pembentukan pola dalam perkembangan tanaman. Dinding sel tumbuhan adalah lapisan luar sel tumbuhan yang kuat, terletak di luar membran plasma. Dinding sel tebal, kompleks dan dinamis serta bertindak sebagai penghalang semipermeabel untuk membatasi dan melindungi sel secara fisik. Dindingnya

terdiri dari polisakarida, protein yang sangat terglisosilasi, dan lignin. Dinding sel tersebut akan terus menjalankan peran biologisnya selama bertahun-tahun. Hal ini terlihat jelas dari gabus (lapisan luar kulit kayu) yang menutupi dan melindungi batang pohon agar pohon dapat berumur panjang (Srivastava, McKee, & Bulone, 2017).

### Kloroplas

Kloroplas adalah plastida hijau yang memegang peranan penting dalam keberlangsungan proses fotosintesis. Fotosintesis adalah proses penting yang mengawali proses biokimia yang menentukan pembentukan senyawa bioaktif terkait farmasi.. Terdiri dari lamela pertumbuhan internal (tilakoid), mengandung klorofil a, b dan karotenoid. Tilakoid yang berkumpul dalam grup. Substansi utama stroma (matriks). Kloroplas mengandung matriks yang tidak berwarna, cair, dan mengandung enzim, stroma. Sebagian besar aktivitas kloroplas dikendalikan oleh gen di dalam nukleus, namun setiap kloroplas mengandung molekul DNA sirkular kecil yang mengkode beberapa dari banyak aktivitas fotosintesis dan aktivitas lain di dalam kloroplas itu sendiri. Grana (granum tunggal), yang merupakan tumpukan membran ganda berbentuk koin yang disebut tilakoid, tersuspensi di stroma. Membran tilakoid mengandung klorofil hijau dan pigmen lainnya. Dalam setiap kloroplas, biasanya terdapat sekitar 40 hingga 60 grana yang dihubungkan oleh lengan, dan masing-masing dapat berisi 5 dari 2 hingga lebih dari 100 tumpukan tilakoid. Biasanya terdapat 4 atau 5 butir pati di stroma, serta tetesan minyak dan enzim.

Jenis plastida kedua yang ditemukan di beberapa sel tumbuhan yang lebih kompleks adalah kromoplas. Kromoplas merupakan plastida yang berwarna kuning, jingga, atau merah karena adanya karotenoid -a, -b, -y. Meskipun ukuran kromoplas mirip dengan kloroplas, bentuknya sangat bervariasi, seringkali agak bersudut. Leukoplas adalah jenis plastida ketiga yang umum ditemukan

pada sel tumbuhan tingkat tinggi. Leukoplas pada dasarnya tidak berwarna dan termasuk amiloplas, yang diketahui mensintesis pati, dan elaioplast yang mensintesis minyak.

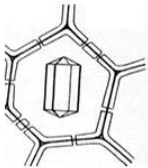




Plester perekat adalah plastida tidak berwarna tanpa pigmen pada stroma protein-lipid. Amiloplas mensintesis pati sekunder; proteoplas membentuk protein cadangan; oleoplas mengakumulasi minyak lemak. Kromatofor adalah ciri khas alga; mengandung klorofil a, b, c, d, karoten.

### Vakuola

Vakuola dipenuhi dengan cairan bersifat asam dan berperan dalam menjaga tekanan dalam sel. Kandungan senyawa dalam vakuola antara lain garam, asam organik dan protein. Seringkali mengandung antosianin, senyawa yang berperan penting dalam pewarnaan mahkota bunga yang berwarna merah, biru atau ungu serta warna merah pada daun. Kristal sebagai produk sampingan proses metabolisme, juga dapat ditemukan dalam vakuola.

Sel tumbuhan memiliki beragam yang tersimpan. Yang paling melimpah adalah pati dan protein yang banyak digunakan dalam industri farmasi. Karbohidrat, senyawa organik paling melimpah di alam, biasanya terdiri dari karbon, hidrogen, dan oksigen. Hal tersebut termasuk gula, pati, dan zat terkait. Senyawa tersebut dapat digunakan sebagai sumber energi untuk sel, seperti unit penyimpanan energi, atau sebagai komponen struktural, seperti membran dan organel.

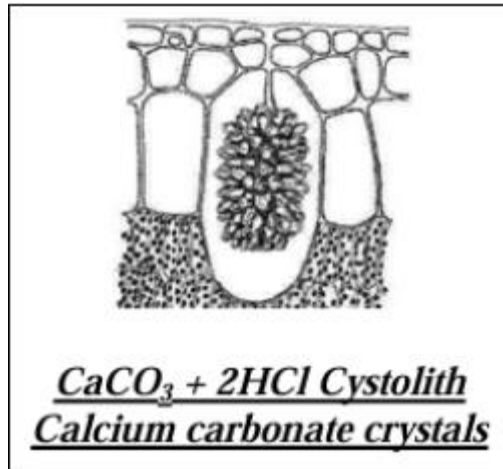
Protein adalah molekul struktural dan pengatur utama sel. Kristal besar produk limbah terbentuk di dalam getah sel setelah ion-ion tertentu terkonsentrasi di sana. Yang paling melimpah adalah kristal kalsium oksalat. Bentuknya mungkin berbeda: kristal mirip bintang, kristal raphide, kristal druse, dan pasir kristal. Bentuk kristal kalsium oksalat sangat penting dalam identifikasi tumbuhan.

<i>Monocotyledons</i>	<i>Dicotyledons</i>
<u>Single crystals</u> 	<u>Crystal sand</u> 
<u>Rafids</u> 	
<u>Styloids</u> 	<u>Druzes (dihydrates)</u> 

Gambar 1.2 Bentuk kristal yang ditemukan pada tumbuhan.

#### Kristal kalsium oksalat

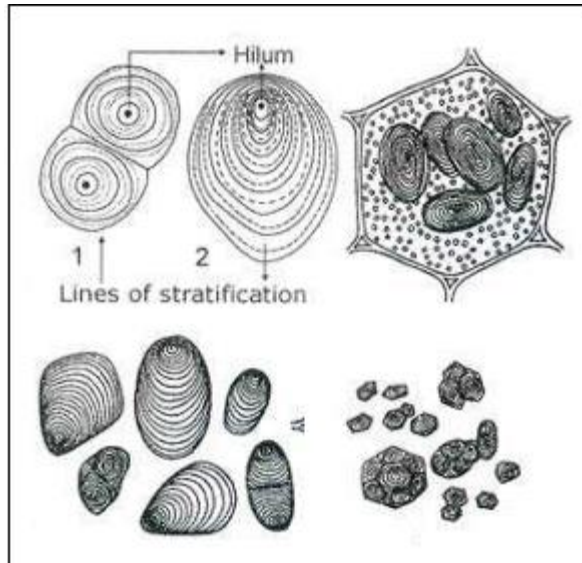
Kristal tunggal (monohidrat) berbentuk belah ketupat, oktahedral. Druze (dihidrat) adalah kristal piramidal yang menyatu dengan bintang. Rafid (dihidrat) adalah kristal jarum. Styloid (dihidrat) berbentuk kristal prismatic memanjang dengan ujung runcing. Pasir kristal berbentuk kristal-kristal kecil yang mengisi rongga idioblas. Kristal kalsium karbonat dan silika Sistolit adalah pertumbuhan internal membran sel litosis khusus.



Gambar 1.3 Bentuk Kristal kalsium karbonat.

Pati terbentuk dan disimpan di plastida. Di bawah pengaruh reagen yang mengandung yodium, butiran pati memperoleh warna ungu tua (Korniievskiy *et al.*, 2021).

Pati terbentuk dan disimpan di plastida. Di bawah pengaruh reagen yang mengandung yodium, butiran pati memperoleh warna ungu tua. Ada 2 jenis pati (*starch*): Pati primer (asimilasi) akan terbentuk selama fotosintesis di kloroplas. Pati sekunder disintesis dari produk hidrolisis pati primer. Akumulasi pelindung di penutup akar dan cadangan mendorong pertumbuhan dan tropisme organ. Terakumulasi pada amiloplas jaringan penyimpan rimpang, umbi-umbian, buah-buahan, biji-bijian dalam bentuk butiran pati. Ada butiran pati berikut: konsentris (pusatnya bertepatan), eksentrik (pusatnya tidak bertepatan); sederhana (dengan 1 pusat), kompleks (dengan beberapa pusat stratifikasi).



Gambar 1.4 Bentuk pati yang tersimpan dalam tumbuhan (Korniievskyi et al., 2021).

#### Inulin.

Inulin dapat dideteksi dengan larutan  $\alpha$ -naftol (warna ungu) atau alkohol 96% (pembentukan kristal sfer). Glikogen merupakan ciri khas sel alga dan jamur. Diwarnai dengan larutan Lugol berwarna coklat.

#### Protein

Biji-bijian Aleyron (protein) bisa berbentuk sederhana, yang terdiri dari cangkang protein dan protein amorf, kadang-kadang termasuk globoid; dan kompleks, selain protein amorf dan globoid mengandung kristaloid.

#### Minyak

Minyak terakumulasi dalam hialoplasma atau disintesis dalam oleoplas. Minyak disaponifikasi oleh alkali, dapat diwarnai oleh Sudan III dengan warna oranye.

### C. JARINGAN

Dalam pemrograman terdapat tingkatan bahasa pemrograman terdiri dari 3 yaitu :

1. Bahasa Tingkat Tinggi

Bahasa pemrograman ini masuk ke level sebagai bahasa dekat dengan bahasa manusia. Sebagai contoh, bahasa *Basic, Visual Basic, Pascal, Java, Python*, dan lainnya

2. Bahasa Tingkat Menengah

Disebut tingkat menengah karena dapat masuk ke dalam bahasa tingkat rendah tinggi dan. Misalnya dalam bahasa program C.

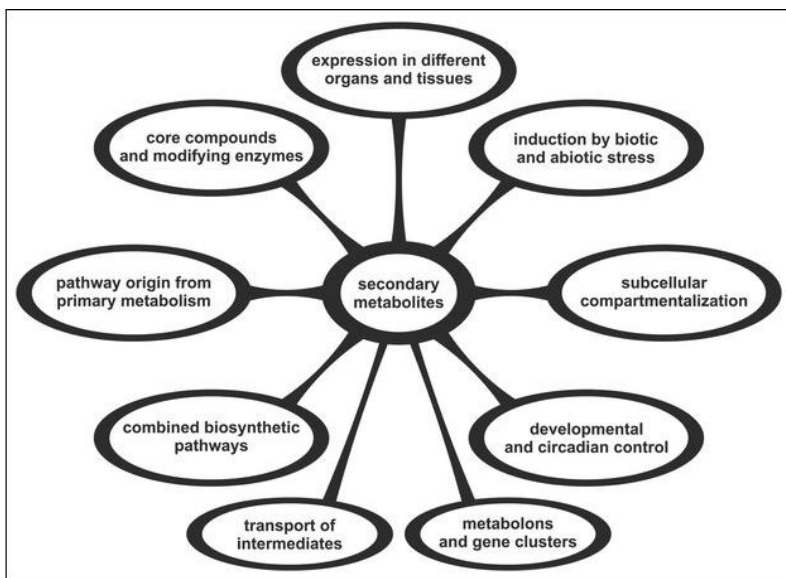
3. Bahasa Tingkat Rendah

Bahasa pemrograman masuk ke level ini karena bahasa masih jauh dari bahasa manusia. Contoh bahasa *Assembly*.

### D. METABOLISME

Tumbuhan menjalani proses metabolisme dalam kehidupan sehari-hari. Proses metabolisme melibatkan dua proses utama, yaitu proses metabolisme primer serta metabolisme sekunder. Metabolisme primer dikaitkan dengan proses pertumbuhan dan perkembangan yang vital dalam kelangsungan hidup. Metabolisme sekunder sehubungan dengan proses interaksi tumbuhan tersebut dengan lingkungan, baik dengan agen penyerbukan, serangga pemakan madu, mikroorganisme, termasuk hubungan simbiosis mutualisme maupun komensalisme. Oleh karena itu, proses metabolisme sekunder lalu dikaitkan dengan produksi senyawa metabolit sekunder.





Gambar 1.5 Senyawa metabolit sekunder tumbuhan dan faktor-faktor yang mempengaruhinya (Matsuura et al., 2018).

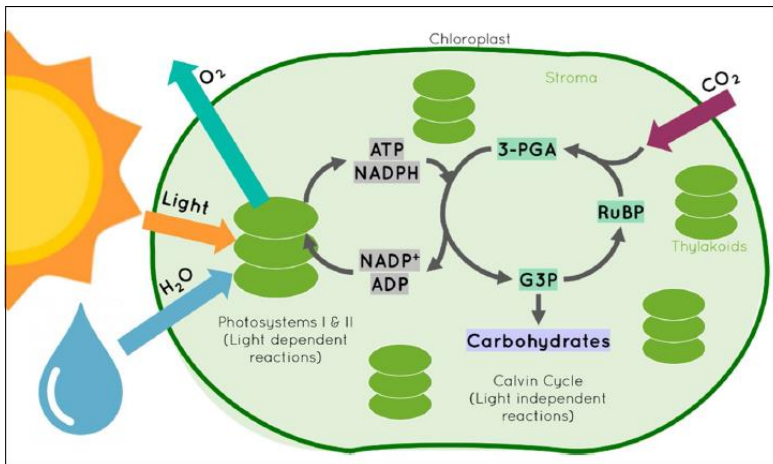
Metabolisme sekunder tumbuhan berevolusi dalam konteks sel dan jaringan yang sangat terorganisir dan terdiferensiasi, menampilkan kompleksitas kimia yang sangat besar yang beroperasi di bawah kendali lingkungan, perkembangan, dan genetik yang ketat.

Metabolit sekunder tanaman sering dimodulasi oleh sinyal biotik dan abiotik. Hal tersebut termasuk herbivora dan serangan patogen, serta paparan terhadap kekeringan, banjir, suhu ekstrim, radiasi berlebih, stres UV, salinitas, dan ketidakseimbangan mineral. Fitohormon dan molekul pemberi sinyal yang memediasi respons adaptif terhadap tantangan-tantangan tersebut juga mampu memicu akumulasi sekunder metabolisme. Yang terkenal di antaranya adalah asam jasmonic dan metil ester metil jasmonat, asam salisilat, etilen, asam absisat dan oksida nitrat. Akumulasi tanaman sekunder metabolit dapat diatur oleh perkembangan dan cahaya, serta jam sirkadian (Matsuura et al., 2018).

## E. FOTOSINTESIS

Fotosintesis merupakan proses biokimia yang memanfaatkan energi dari sumber cahaya untuk menghasilkan ATP dan NADPH, yang selanjutnya digunakan untuk mensintesis atom karbon menjadi molekul organik. Telah diakui bahwa suatu tanaman dengan adanya tantangan abiotik pada umumnya baik tingkat ringan ataupun berat, akan menyerap lebih banyak energi cahaya daripada yang dibutuhkan. Hal tersebut menyebabkan terciptanya spesies oksigen reaktif, termasuk radikal anion superoksida ( $O_2^-$ ), hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ), dan oksigen singlet  $^1O_2$ . Stres fotooksidatif muncul ketika pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) melebihi kapasitas sistem pertahanan antioksidan. Akibatnya, sebagai respons terhadap perubahan kondisi lingkungan, tanaman harus terlebih dahulu mengendalikan aliran elektron dalam fotosintesis untuk menghindari penumpukan produk samping oksigen yang berbahaya. Perubahan fotosintesis merupakan akibat dari proses yang sangat menyusahkan yang dipengaruhi oleh pemicu stres lingkungan, yang menyebabkan peningkatan tingkat stres pada tanaman.

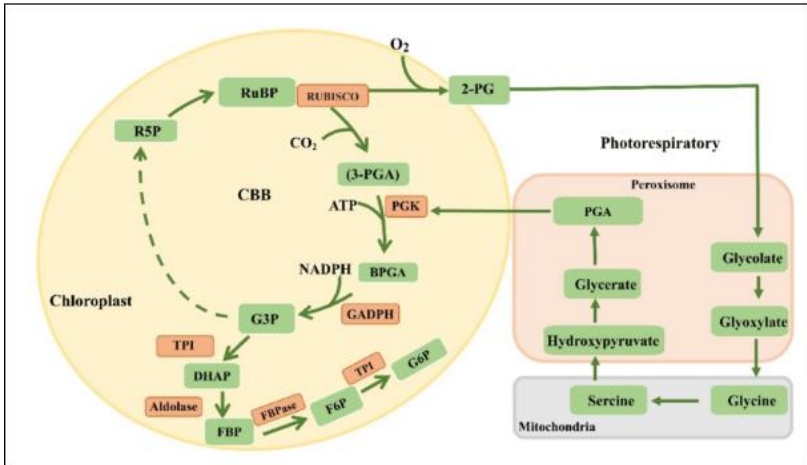
Aktivitas fotosintesis merupakan faktor yang sangat penting dalam farmasi botani, karena secara langsung berkontribusi terhadap pertumbuhan tanaman dan produktivitas senyawa metabolit (Terlets kaya, Seitimova, Kudrina, Meduntseva, & Ashimuly, 2022).



Gambar 1.6 Siklus Calvin dan Jalur Fotespirasi. 3-PGA: Asam 3-fosfogliserat. RuBP: Ribulosa 1,5-bifosfat. G3P: Gliseraldehida-3-fosfat (López-Pacheco et al., 2021)

Gambar 1 memperlihatkan Fotosistem I dan II terjadi pada membran tilakoid melalui reaksi terang (*Light dependent reaction*) menggunakan cahaya dan air. Siklus Calvin terjadi di stroma melalui reaksi gelap (*Light independent reaction*), menggunakan karbon dioksida dan menghasilkan karbohidrat.

Proses respirasi mengoksidasi karbohidrat melalui dua jalur utama: glikolisis dan siklus asam trikarboksilat (TCA). Produk dari kedua jalur ini adalah CO<sub>2</sub> dan senyawa tereduksi NAD(P)H<sub>2</sub> dan FADH<sub>2</sub>, yang selanjutnya digunakan untuk fosforilasi oksidatif (OXPHOS), mentransfer elektronnya ke terminal oksidase di mana O<sub>2</sub> bertindak sebagai akseptor elektron terakhir, menghasilkan energi tinggi ikatan fosfat (ATP). ATP mewakili cara paling efisien untuk memperoleh energi untuk sintesis biomolekul dan untuk mempertahankan struktur seluler, mengangkut fotoasimilasi, penyerapan ion, mengasimilasi N dan S, mengatur pergantian protein dan mempertahankan gradien potensial elektrokimia melintasi membran dalam sel.



Gambar 1.7 Diagram siklus metabolisme karbon: Siklus Calvin-Benson-Bassham (CBB) dan jalur fotorespirasi (Li, He, Chen, Zheng, & Zhuang, 2023).

Diagram siklus Calvin memperlihatkan (Gambar 1). Rubisco, ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase; 3-PGA, 3-phosphoglycerate; PGK, phosphoglycerate kinase; BPGA, glycerate 1,3-bisphosphate; GAPDH, glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase; G3P, glyceraldehyde 3-phosphate; TPI, triose phosphate isomerase; DHAP, dihydroxyacetone phosphate; FBPase, fructose 1,6-bisphosphatase; F6-P, fructose 6-phosphate; GPI, glucose phosphate isomerase; Ru5P, ribulose 5-phosphate; 2PG, 2-phosphoglycerate; PGA, phosphoglycerate.

Selama reaksi terang, fotosintesis pada autotrof dibatasi oleh jangkauan penangkapan cahaya dan efisiensi transpor elektron. Selama reaksi gelap, efisiensi serangkaian aktivitas enzim rendah, dengan keterbatasan stomata dan mesofil, dan efisiensi mengubah energi cahaya yang diserap menjadi zat energi sangat rendah dibandingkan dengan nilai teoritis. Meningkatkan efisiensi fotosintesis melibatkan peningkatan kapasitas penangkapan dan konversi cahaya pada tahap reaksi cahaya, mengoptimalkan

rantai transpor elektron, meningkatkan aktivitas Rubisco karboksilase, dan mengurangi fotorespirasi (Li et al., 2023).

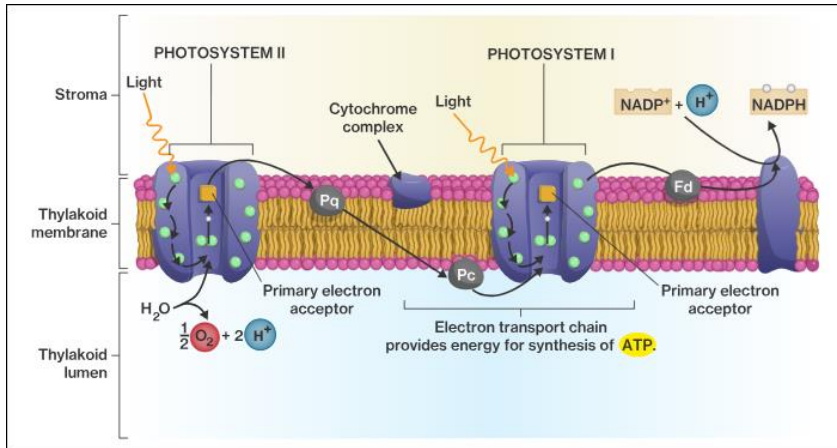
Fotorespirasi mengacu pada proses di mana RuBP mengikat  $O_2$  di bawah katalisis enzim Rubisco untuk menghasilkan 2-fosfoglisarat (2-PG) dan kemudian menghasilkan PGA (Gambar 1). Karena fotorespirasi menyebabkan hilangnya karbon dalam jumlah besar (Gambar 1), reformasi jalur fotorespirasi juga merupakan metode penting untuk meningkatkan fotosintesis.

Fotosistem adalah kompleks protein dan pigmen yang bekerja sama untuk menyerap energi dari cahaya dan mentransfernya ke akseptor elektron, yaitu molekul yang menerima elektron dan mentransfernya ke molekul lain. Setiap fotosistem terdiri dari kompleks penangkap cahaya, yaitu sekelompok molekul yang menyerap cahaya, mengelilingi kompleks pusat reaksi, dimana cahaya diubah menjadi energi kimia. Banyak pigmen (termasuk beberapa jenis klorofil, serta lainnya seperti karotenoid) didistribusikan ke seluruh kompleks pemanenan cahaya. Mereka menyerap energi dari cahaya saat memasuki kompleks dan meneruskan energi tersebut ke kompleks pusat reaksi. Ketika cahaya mengenai klorofil, ia mengeksitasi elektron ke tingkat energi yang lebih tinggi. Elektron tersebut kemudian turun kembali ke keadaan dasarnya, yang melepaskan energi, menarik elektron di klorofil berikutnya. Proses ini disebut transfer energi resonansi. Dengan demikian, rangkaian pigmen menciptakan jalur bagi elektron menuju kompleks pusat reaksi.

Dalam kompleks pusat reaksi fotosistem II, sepasang molekul klorofil yang dikenal sebagai P680 menyumbangkan elektron ke akseptor elektron primer. Hal ini membuat molekul P680 bermuatan positif (dilambangkan P680<sup>+</sup>). Penamaan P680 dikarenakan molekul tersebut paling baik menyerap cahaya pada panjang gelombang 680 nanometer. Enzim mengkatalisis pemecahan air menjadi 2 elektron, 2 ion hidrogen ( $H^+$ ), dan sebuah atom oksigen. Elektron dari reaksi tersebut dipinahkan ke

P680, mereduksi P680 kembali ke kondisi semula. Atom oksigen bergabung dengan atom oksigen lain untuk menghasilkan O<sub>2</sub>, yang pada akhirnya dapat dilepaskan ke atmosfer. Ion hidrogen dilepaskan ke dalam lumen tilakoid, di mana mereka menciptakan gradien proton yang akan digunakan untuk membentuk ATP. Dalam proses kemiosmosis ini, pergerakan ion hidrogen yang berfungsi sebagai sumber energi bagi enzim ATP sintase. Elektron dari akseptor elektron primer dilewatkan dalam serangkaian reaksi redoks dari fotosistem II ke fotosistem I melalui plastoquinone (Pq), suatu kompleks sitokrom—enzim dalam membran tilakoid yang membentuk bagian dari rantai transpor elektron yang memindahkan elektron dari fotosistem II hingga fotosistem I—dan protein yang disebut plastocyanin (Pc).

Proses fotosistem I serupa dengan proses pada fotosistem II menangkap energi cahaya dan mentransfernya ke akseptor elektron primer melalui P700 (yang paling baik menyerap cahaya pada 700 nm). Akibat transfer ini, tercipta muatan positif, membuat ion yang dihasilkan (P700<sup>+</sup>) mampu menerima elektron dari fotosistem II. Elektron tereksitasi dari akseptor elektron primer fotosistem I kemudian diteruskan dalam serangkaian reaksi redoks melalui protein ferredoxin (Fd). Reaksi oksidasi-reduksi, atau reaksi redoks, adalah reaksi di mana zat memperoleh atau kehilangan elektron. Enzim NADP reduktase mengkatalisis transfer elektron ini ke NADP<sup>+</sup>. Ia juga mentransfer ion hidrogen (H<sup>+</sup>) dari stroma ke NADP<sup>+</sup>. Proses tersebut menghasilkan molekul NADPH.



Gambar 1.8 Reaksi Terang.

### Reaksi Gelap

Asimilasi karbon adalah tahap reaksi karbon dalam fotosintesis, yang intinya adalah awalnya merupakan proses fiksasi karbon anorganik dan konversi menjadi karbon organik. Ada berbagai cara untuk mencapai fiksasi karbon, dan sebagian besar autotrof menggunakan siklus Calvin. Siklus Calvin, juga dikenal sebagai jalur C<sub>3</sub>, terjadi di stroma kloroplas. Prosesnya dapat dibagi menjadi fiksasi CO<sub>2</sub>, reduksi produk karboksilasi, dan regenerasi ribulosa 1,5-bifosfonat (RuBP). Pertama, CO<sub>2</sub> bergabung dengan RuBP melalui katalisis ribulosa 1,5-difosfat karboksilase/oksigenase (Rubisco) karboksilase untuk membentuk senyawa enam karbon yang sangat tidak stabil, yang secara acak terpecah membentuk dua molekul 3-fosfoglisarat (PGA). Kemudian, 3PGA menerima molekul asam fosfat dari ATP dalam reaksi di bawah katalisis fosfoglisarat kinase (PGK) untuk menghasilkan 1,3-difosfoglisarida (BPGK); gliseraldehida 3-fosfat dehidrogenase (GADPH) menghasilkan gliseraldehida 3-fosfat (G3P) dari 1,3-difosfoglisarida dan NADPH. Tanaman C<sub>3</sub> menghasilkan dua molekul G3P untuk setiap satu molekul CO<sub>2</sub> yang difiksasi. Namun, hanya untuk setiap enam molekul G3P yang dihasilkan, satu molekul G3P dapat memasuki fiksasi karbon

berikutnya, dan lima molekul G3P sisanya digunakan untuk regenerasi RuBP. G3P diisomerisasi menjadi dihidroksiaseton fosfat (DHAP) oleh triose fosfat isomerase; DHAP menghasilkan fruktosa 1,6-difosfat (FBP) di bawah kondensasi aldolase; FBP kehilangan satu molekul Pi melalui katalisis fruktosa difosfatase untuk menghasilkan fruktosa 6-P (F6P); F6P diubah secara alosterik menjadi glukosa 6-fosfat (G6P) melalui katalisis glukosa isomerase; G6P digunakan untuk membentuk pati melalui serangkaian transformasi. Siklus Calvin menghasilkan molekul glukosa melalui fiksasi enam molekul CO<sub>2</sub>, mengubah energi kimia ATP dan NADPH yang dihasilkan dalam reaksi terang menjadi bahan organik stabil dan menggunakan pasokan energi untuk proses fisiologis dan biokimia selanjutnya.

## **F. SENYAWA FITOKIMIA**

Tumbuhan menghasilkan senyawa organik yang sangat beragam dan beragam, sebagian besar senyawa tersebut tidak berperan secara langsung dalam proses pertumbuhan dan perkembangan. Studi terhadap produk alami mendorong perkembangan pemisahan tersebut teknik, pendekatan spektroskopi untuk penjelasan struktur, dan metodologi sintetik yang sekarang menjadi dasar kimia organik kontemporer. Ketertarikan pada produk alami adalah tidak semata-mata bersifat akademis melainkan didorong oleh kegunaannya yang besar seperti pewarna, polimer, serat, lem, minyak, lilin, bahan penyedap, pewangi, dan obat-obatan. Kandungan bioaktif senyawa metabolit sekunder tersebut telah mendorong penelitian yang cukup pesat seperti pencarian obat baru, antibiotik, insektisida, dan herbisida (Croteau, Kutchan, & Lewis, 2000).

Apresiasi yang semakin meningkat terhadap keanekaragaman hayati yang sangat tinggi dampak yang dihasilkan oleh produk alami telah mendorong evaluasi ulang tentang kemungkinan



peran senyawa ini pada tanaman, khususnya dalam konteks interaksi ekologis.

Berdasarkan asal biosintesisnya, senyawa metabolit sekunder dapat dikelompokkan menjadi 3 grup, yaitu Terpenoid, Poliketida dan Fenipropanoid. Alkaloid adalah kelas tambahan metabolit sekunder, yang merupakan molekul organik bernitrogen yang dibiosintesis terutama dari asam amino, misalnya triptofan, tirosin, fenilalanin, lisin, dan arginin menggunakan banyak enzim unik.

Semua terpenoid, termasuk baik metabolit primer dan lebih dari 25.000 senyawa sekunder diturunkan dari isopentenil prekursor lima karbon difosfat (IPP). 12.000 atau lebih yang diketahui alkaloid, yang mengandung satu atau lebih nitrogen atom, pada dasarnya dibiosintesis dari asam amino. Lebih dari 8000 senyawa fenolik dibentuk melalui salah satu cara tersebut jalur asam shikimat atau jalur malonat/jalur asetat.

Metabolit primer dan sekunder tidak bisa mudah dibedakan berdasarkan molekul prekursor, struktur kimia, atau asal usul biosintetik. Misalnya, keduanya primer dan metabolit sekunder ditemukan di antara diterpen ( $C_{20}$ ) dan triterpen ( $C_{30}$ ). Dalam seri diterpen, keduanya kaurenolik asam dan asam abietic dibentuk oleh sangat urutan serupa dari reaksi enzimatik terkait.

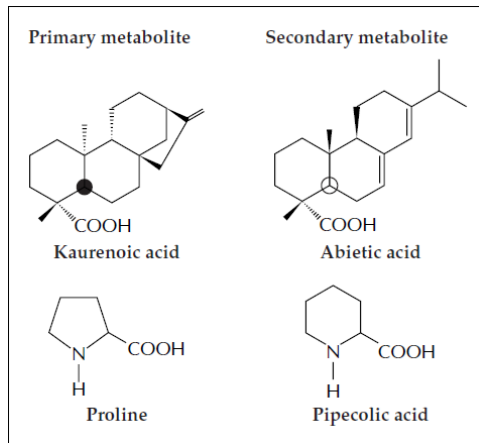
Demikian pula yang penting asam amino prolin diklasifikasikan sebagai metabolit primer, sedangkan analog  $C_6$  asam pipekolat dianggap sebagai alkaloid dan sehingga merupakan produk alami. Bahkan lignin, polimer struktural penting dari kayu dan nomor dua setelah selulosa sebagai zat organik yang paling melimpah pada tumbuhan, dianggap sebagai produk alami daripada suatu metabolit primer.

Dengan tidak adanya perbedaan yang sah berdasarkan struktur atau biokimia, kembali ke definisi fungsional, dengan primer produk berpartisipasi dalam nutrisi dan penting proses

metabolisme di dalam tumbuhan, dan produk alami (sekunder) yang mempengaruhi interaksi ekologis antar tanaman dan lingkungannya.

Produk primer tanaman mengacu pada senyawa asam nukleat, protein, karbohidrat, lemak dan lipid dan terkait dengan struktur, fisiologi dan genetika, yang menyiratkan peran penting mereka dalam perkembangan tanaman. Sebaliknya, metabolit sekunder biasanya berbentuk senyawa minor dengan konsentrasi rendah. Metabolisme primer mengacu pada proses menghasilkan asam karboksilat dari siklus Krebs. Metabolit sekunder, sebaliknya, tidak penting bagi kehidupan tetapi berkontribusi terhadap kebugaran spesies untuk bertahan hidup. Faktanya, unsur spesifik dalam spesies tertentu telah digunakan untuk membantu penentuan sistematis, kelompok metabolit sekunder digunakan sebagai penanda klasifikasi botani (kemotaksonomi). Metabolit sekunder tumbuhan dapat dibagi menjadi tiga kelompok yang berbeda secara kimia yaitu: Terpen, Fenolik, senyawa yang mengandung N (Nitrogen) dan S (belerang).

Banyak dari agen terapeutik yang paling penting adalah alkaloid. Tempat biosintesis terkotak-kotak pada tingkat sel atau subsel. Namun metabolit sekunder dapat diangkut dalam jarak jauh dan terakumulasi dari lokasi sintesisnya.



Gambar 1.8 Contoh senyawa metabolit primer dan metabolit sekunder (Croteau *et al.*, 2000).

Asam kaurenoat dan prolin adalah metabolit primer, sedangkan senyawa yang berkerabat dekat bersifat abietik asam dan asam pipekolat dianggap metabolit sekunder.

### Senyawa Fenolik

Tumbuhan menghasilkan berbagai macam produk sekunder yang mengandung gugus fenol, gugus fungsi hidroksil pada cincin aromatik yang disebut fenol. Gugus fenol merupakan gugus kimia heterogen, penting dari sistem pertahanan tanaman terhadap hama dan penyakit termasuk nematoda parasit pada akar tumbuhan.

Fenolik adalah metabolit sekunder yang banyak ditemukan pada tanaman dan diketahui memiliki efek bermanfaat bagi kesehatan termasuk aktivitas antioksidan dan anti-inflamasi. Fenolik memainkan peran penting dalam tanaman dengan mengatur pertumbuhan sebagai pengatur fisiologis internal atau pembawa pesan kimia. Flavonol seperti quercetin, apigenin, dan kaempferol telah dilaporkan mampu mengatur arsitektur dan pertumbuhan tanaman dengan mengganggu pengangkutan senyawa auksin polar dengan mengikat reseptor membran plasma. Selain itu,

fenolik dapat melindungi jaringan tanaman terhadap cedera mekanis, infeksi patogen, dan radiasi UV. Namun, senyawa fenolik telah menjadi subyek sejumlah besar penelitian terutama karena potensi keterlibatannya dalam pemeliharaan kesehatan manusia dan pencegahan penyakit, khususnya dalam menurunkan risiko penyakit kronis seperti penyakit kardiovaskular dan kanker tertentu. Senyawa fenolik dalam makanan telah terbukti memiliki kemampuan untuk memperbaiki kerusakan endotel, reaktivitas trombosit, dan kerusakan oksidatif, serta proses-proses lain yang relevan dalam perkembangan penyakit kronis.

### Flavonoid

Flavonoid berperan dalam penentuan pigmen dan pertahanan. Dua kelompok besar flavonoid lain yang terdapat pada bunga adalah flavanon dan flavanol berfungsi melindungi sel dari radiasi UV-B karena terakumulasi di lapisan epidermis daun dan batang serta menyerap cahaya dengan kuat di wilayah UV-B sekaligus membiarkan panjang gelombang tampak ke seluruh bagian. Selain itu, paparan tanaman terhadap peningkatan sinar UV-B telah terbukti meningkatkan sintesis flavanon dan flavanol. Hal ini menunjukkan bahwa flavonoid dapat memberikan perlindungan dengan menyaring radiasi UV-B yang berbahaya.

Flavonoid merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat pada tumbuhan, buah-buahan, dan biji dan bertanggung jawab atas warna, aroma, dan rasa. Flavonoid memiliki beberapa peran dalam tanaman, termasuk mengendalikan perkembangan sel, menarik penyerbuk dan serangga, dan bertahan melawan stres biotik dan abiotik. Bahan kimia ini telah dikaitkan dengan berbagai manfaat kesehatan pada manusia, termasuk efek anti-inflamasi, antikanker, anti-penuaan, kardioprotektif, neuroprotektif, imunomodulator, antidiabetik, antibakteri, antiparasit, dan antivirus. Flavonoid memiliki kerangka flavon C6–C3–C6 dengan dua cincin benzena (A dan B) yang dihubungkan oleh cincin piran

tiga karbon (C). Lokasi cincin B katekol pada cincin C piran, serta kuantitas dan posisi gugus hidroksi pada gugus katekol pada cincin B, mempengaruhi aktivitas antioksidan flavonoi. Gugus hidroksi fungsional Flavonoid dapat menyumbangkan elektron melalui resonansi untuk menstabilkan radikal bebas dan memediasi perlindungan antioksidan [83]. Flavonoid dikategorikan menjadi enam jenis utama berdasarkan strukturnya: Flavan-3-ols, Flavon, Flavonol, Flavanon, Isoflavon, dan Antosianin. Karena kualitas antioksidannya yang luar biasa, Flavonoid digunakan dalam industri makanan, kosmetik, dan farmasi (Zandavar & Babazad, 2023).

#### Tanin

Tanin termasuk dalam kategori kedua polimer fenolik tumbuhan dengan sifat pertahanan. Tanin adalah racun umum yang secara signifikan mengurangi pertumbuhan dan kelangsungan hidup banyak herbivora, dan juga bertindak sebagai pengusir nyamuk bagi beragam hewan.

### **G. RANGKUMAN**

Tumbuhan menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai bahan yang penting dalam bidang farmasi. Kandungan bioaktif tidak lepas dari proses fotosintesis dan metabolisme yang terjadi dalam sel dan jaringan tumbuhan. Faktor luar seperti lamanya paparan sinar matahari, kandungan air dalam tanah, hewan pembantu penyerbukan, gigitan serangga pemakan kayu, mikroorganisme dalam tanah memberikan pengaruh terhadap produksi senyawa kimia maupun perubahan fisiologis dalam tumbuhan terhadap interaksi tersebut (Pagare *et al.*, 2015).

## Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang mengandung nitrogen. Alkaloid dikategorikan ke dalam banyak kelompok berdasarkan sistem cincin heterosiklik dan prekursor biosintetiknya, seperti indole, purin, quinoline, isoquinoline, tropane, dan imidazole.

Alkaloid, selain karbon, nitrogen, atau hidrogen, mungkin termasuk belerang dan, dalam kasus yang jarang terjadi, brom, fosfor, atau klor. Istilah “alkaloid” diciptakan pada tahun 1819 oleh ilmuwan Jerman Carl F. W. Meissner, yang berasal dari nama Arab al-Qali, yang berkaitan dengan tanaman asal mula soda diekstraksi.

Alkaloid adalah senyawa dengan berat molekul rendah yang menyumbang sekitar 20% metabolit sekunder nabati. Sejauh ini, lebih dari 12.000 alkaloid telah diisolasi dari beragam spesies tumbuhan. Alkaloid pada dasarnya adalah padatan yang ditemukan pada tumbuhan tingkat tinggi. Mereka ditemukan dalam keluarga botani berikut: Apocynaceae, Annonaceae, Amaryllidaceae, Berberidaceae, Boraginaceae, Gnetaceae, Liliaceae, Leguminosaceae, Lauraceae, Loganiaceae, Magnoliaceae, Menispermaceae, Papaveraceae, Piperaceae, Rutaceae, Rubiaceae, dan Ranunculaceae (Zandavar & Babazad, 2023).

Tiga kategori alkaloid, yaitu alkaloid sejati, protoalkaloid, dan pseudoalkaloid adalah tiga jenis utama alkaloid. Alkaloid dan protoalkaloid sejati dihasilkan dari asam amino, namun pseudoalkaloid tidak berasal dari asam amino.

Alkaloid sejati berasal dari asam amino dan berbagi cincin heterosiklik mengandung nitrogen. Mereka aktif secara biologis dan sangat reaktif. Mereka menghasilkan garam yang larut dalam air, dan banyak di antaranya berbentuk kristal, membentuk garam

## DAFTAR PUSTAKA

- Aminuddin, N. (2018). *Farmakognosi dan Fitokimia: Pengantar* (2nd ed.). Penerbit Universitas Indonesia (UI Press).
- Arifah, M. (2016). *Tumbuhan Obat dan Fitofarmaka*. Gadjah Mada University Press.
- Astuti, I. (2020). *Tanaman Obat untuk Kesehatan*. Penebar Swadaya.
- Bahri, S., & Nurhasanah. (2017). *Farmakognosi: Buku Ajar* (1st ed.). Penerbit Andi.
- Croteau, R., Kutchan, T. M., & Lewis, N. G. (2000). Natural Products: Secondary Metabolites. In *Biochemistry & Molecular Biology of Plants* (pp. 1250–1318). [https://doi.org/10.1007/978-981-13-2023-1\\_33](https://doi.org/10.1007/978-981-13-2023-1_33)
- Dalimartha, S. (2008). *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* (Vols. 1-7). Puspa Swara.
- Darmono, S. (2001). *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. PT Gramedia Pustaka Utama.
- Dominguez, Eva, et al. 2011. The Biophysical Design of Plant Cuticles: An Overview. *New Phytologist*. 189: 938-949.
- Evert, Ray F. 2006. *Esau's Plant Anatomy: Meristems, Cells, and Tissues of the Plant Body*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Gembong Tjitrosoepomo. 2007. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.

- Hardjosuwarno, S & Wiryohardjo, S. 1979. Petunjuk Praktikum Morfologi Tumbuhan. Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta.
- Hartman, H. T. & D. E. Kester. 1983. Plant Propagation: Principle and Practices. New Jersey: 4th edition. Prantice-Hall Inc. Engle Wood Cliffs.
- Korniievskiy, Y. I., Korniievskaya, V. H., Kulichenko, A. K., Panchenko, S. V., & Mazulin, H. V. (2021). Pharmaceutical Botany. In Pharmaceutical botany /. Zaporizhzhia: Zaporizhzhia State Medical University. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.137024>
- Lawrence, G. H. M. 1959. Taxonomy of Vascular Plants. The Macmillan Company, New York.
- Levetin, Estelle & McMahon, Karen. 2008. Plants & Society, 5th Edition. The McGraw-Hill Companies.
- Li, R., He, Y., Chen, J., Zheng, S., & Zhuang, C. (2023). Research Progress in Improving Photosynthetic Efficiency. International Journal of Molecular Sciences, 24(11), 1–13. <https://doi.org/10.3390/ijms24119286>
- López-Pacheco, I. Y., Rodas-Zuluaga, L. I., Fuentes-Tristan, S., Castillo-Zacarías, C., Sosa-Hernández, J. E., Barceló, D., ... Parra-Saldívar, R. (2021). Phycocapture of CO<sub>2</sub> as an option to reduce greenhouse gases in cities: Carbon sinks in urban spaces. Journal of CO<sub>2</sub> Utilization, 53(November). <https://doi.org/10.1016/j.jcou.2021.101704>
- Mardisiswojo, S. (2002). Tanaman Obat untuk Fitofarmaka\*. Kanisius.



- Matsuura, H. N., Malik, S., de Costa, F., Yousefzadi, M., Mirjalili, M. H., Arroo, R., ... Fett-Neto, A. G. (2018). Specialized Plant Metabolism Characteristics and Impact on Target Molecule Biotechnological Production. *Molecular Biotechnology*, 60(2), 169–183. <https://doi.org/10.1007/s12033-017-0056-1>
- Moelyono, S. (2015). *Farmakologi dan Toksikologi Tumbuhan Obat*. Penerbit Universitas Brawijaya.
- Pagare, S., Bhatia, M., Tripathi, N., Pagare, S., & Bansal, Y. K. (2015). Secondary metabolites of plants and their role: Overview. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(3), 293–304.
- Postlethwait, John H & Hopson, Janet L. 2006. *Modern Biology*. Orlando: A Harcourt Education Company.
- Purves, William K, et al. 2003. *Life: The Science of Biology 7th Edition*. Sinauer Associates and W. H. Freeman.
- Purwaningsih, Ayu. 2024. Tatkala Orangutan Sumatra menjadi Dokter bagi diri sendiri. *Deutsche Welle*. 15 Mei 2024. <https://www.dw.com/id/tatkala-orang-utan-sumatra-jadi-dokter-buat-diri-sendiri/a-69077180>.
- Raven, Peter H & Johnson, George B. 2001. *Biology 6th Edition*. McGraw-Hill Science.
- Raven, Peter H, et al. 2005. *Biology of Plants*. W.H. Freeman.
- Reece, Jane B, et al. 2011. *Campbell Biology 10th Edition*. Boston: Pearson.

- Rudall, Paula J. 2007. *Anatomy of Flowering Plants: An Introduction to Structure and Development*. New York: Cambridge University Press.
- Sadikin, M. (2009). *Farmakognosi: Bahan Alam untuk Sediaan Farmasi* (1st ed.). Penerbit ITB.
- Serra, Olga & Geldner, Niko. 2022. The Making of Suberin. *New Phytologist*. 235: 848-866.
- Srivastava, V., McKee, L. S., & Bulone, V. (2017). Plant Cell Walls. *ELS*, (July), 1–17. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001682.pub3>
- Srivastava, Vaibhav, et al. 2017. *Plant Cell Walls*. Chichester: eLS. John Wiley & Sons, Ltd.
- Terletskaya, N. V., Seitimova, G. A., Kudrina, N. O., Meduntseva, N. D., & Ashimuly, K. (2022). The Reactions of Photosynthetic Capacity and Plant Metabolites of *Sedum hybridum* L. in Response to Mild and Moderate Abiotic Stresses. *Plants*, 11(6). <https://doi.org/10.3390/plants11060828>
- Thorpe, Trevor. 2012. History of Plant Tissue Culture. *Methods Mol Biol*. 877: 9-27.
- What is Protoplasm?. 203. Website: <https://www.geeksforgeeks.org/protoplasm/>
- Zandavar, H., & Babazad, M. A. (2023). Secondary Metabolites: Alkaloids and Flavonoids in Medicinal Plants. In *Herbs and Spices - New Advances* (pp. 1–28). <https://doi.org/10.5772/intechopen.108030>

## TENTANG PENULIS



### **Desy Muliana Wenas, S.Si., M.Si.**

Ia adalah dosen tetap Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional. Saat ini sedang menjalani Program Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia dengan topik disertasi yakni tentang Antiaging dari bahan alam. Sebelumnya mengikuti Pendidikan Program S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Magister Herbal Estetik Fakultas Farmasi di Universitas Indonesia. Lahir pada tahun 1983 di Jakarta. Penulis adalah anak ke-dua dari lima bersaudara dari pasangan bapak Muliono dan (alm.) Ibu Sri.

Mengampu mata kuliah Botani Farmasi, Farmakognosi, Fitokimia, Mikrobiologi dan Parasitologi. Selama ini terlibat aktif sebagai dosen pembimbing mahasiswa dalam penelitian bidang dengan luaran publikasi jurnal Nasional Bereputasi dan jurnal Internasional berindeks Scopus. Telah menulis 4 Buku yakni Ilmu Gizi dan Diet, Farmakologi Sosial dan Pengelolaan Obat, Bakteriologi serta Senyawa Fitokimia : Uji Antiaging Kulit secara In Vitro.

### **Nurul Inayah Islandar, S.Si., Apt., M.M., M.K.M**



**Vilya Syafriana, S.Si., M.Si.**

Seorang dosen tetap Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN), Jakarta. Penulis lahir di Jakarta pada 4 Januari 1982. Penulis merupakan seorang ibu dari dua anak dan merupakan anak pertama dari tiga bersaudara. Penulis menempuh Pendidikan Sarjana (S1) dan Magister (S2) di Prodi Biologi Fakultas Ilmu Pengetahuan dan Matematika (FMIPA) Universitas Indonesia (UI). Saat ini penulis juga sedang menyelesaikan Program Doktor Biologi, FMIPA UI. Buku yang telah ditulis dan terbit berjudul di antaranya: Bakteriologi dan Fisiologi Reproduksi. Telah menulis sebanyak lebih dari 50 artikel baik di Jurnal Nasional maupun Internasional.

**Penerbit :**

PT. Sonpedia Publishing Indonesia

Buku Gudang Ilmu, Membaca Solusi  
Kebodohan, Menulis Cara Terbaik  
Mengikat Ilmu. Everyday New Books

**SONPEDIA.COM**  
**PT. Sonpedia Publishing Indonesia**

**Redaksi :**

Jl. Kenali Jaya No 166

Kota Jambi 36129

Tel +6282177858344

Email: [sonpediapublishing@gmail.com](mailto:sonpediapublishing@gmail.com)

Website: [www.buku.sonpedia.com](http://www.buku.sonpedia.com)



# SENYAWA FITOKIMIA

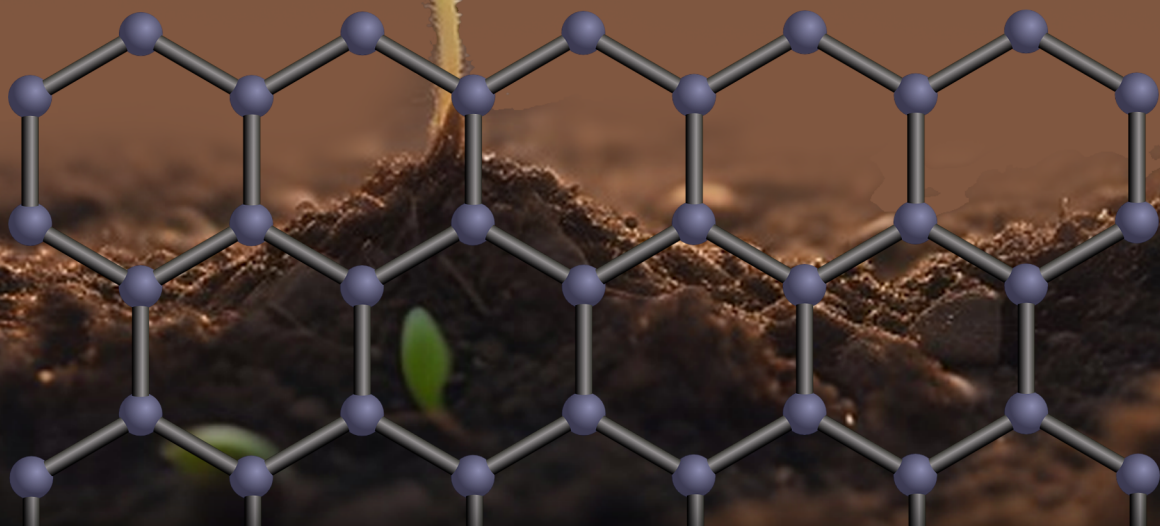
UJI ANTIAGING  
KULIT SECARA  
IN VITRO



Desy Muliana **Wenas**, Siti **Khoiriyah**, Riri **Fauziyya**  
Dwi Endah **Kusumawati**, Abdul Wahid **Suleman**  
Chandra **Pranata**, Windi **Susmayanti**, Rissa Laila **Vifta**  
Winni Nur **Auli**, Anjar Hermadi **Saputro**

# SENYAWA FITOKIMIA

UJI ANTIAGING  
KULIT SECARA  
IN VITRO



## UU 28 tahun 2014 tentang Hak Cipta

### Fungsi dan sifat hak cipta Pasal 4

Hak Cipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 3 huruf a merupakan hak eksklusif yang terdiri atas hak moral dan hak ekonomi.

### Pembatasan Perlindungan Pasal 26

Ketentuan sebagaimana dimaksud dalam Pasal 23, Pasal 24, dan Pasal 25 tidak berlaku terhadap:

- a. penggunaan kutipan singkat Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait untuk pelaporan peristiwa aktual yang ditujukan hanya untuk keperluan penyediaan informasi aktual;
- b. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk kepentingan penelitian ilmu pengetahuan;
- c. Penggandaan Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait hanya untuk keperluan pengajaran, kecuali pertunjukan dan Fonogram yang telah dilakukan Pengumuman sebagai bahan ajar; dan
- d. penggunaan untuk kepentingan pendidikan dan pengembangan ilmu pengetahuan yang memungkinkan suatu Ciptaan dan/atau produk Hak Terkait dapat digunakan tanpa izin Pelaku Pertunjukan, Produser Fonogram, atau Lembaga Penyiaran.

### Sanksi Pelanggaran Pasal 113

1. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
2. Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).



# **Senyawa Fitokimia: Uji Antiaging Kulit secara In Vitro**

Desy Muliana Wenas, Siti Khoiriyah, Riri Fauziyya  
Dwi Endah Kusumawati, Abdul Wahid Suleman  
Chandra Pranata, Windi Susmayanti, Rissa Laila Vifta  
Winni Nur Auli, Anjar Hermadi Saputro



Penerbit Yayasan Kita Menulis

# Senyawa Fitokimia: Uji Antiaging Kulit secara In Vitro

Copyright © Yayasan Kita Menulis, 2024

Penulis:

Desy Muliana Wenas, Siti Khoiriyah, Riri Fauziyya  
Dwi Endah Kusumawati, Abdul Wahid Suleman  
Chandra Pranata, Windi Susmayanti, Rissa Laila Vifta  
Winni Nur Auli, Anjar Hermadi Saputro

Editor: Matias Julyus Fika Sirait

Desain Sampul: Devy Dian Pratama, S.Kom.

Penerbit

Yayasan Kita Menulis

Web: [kitamenulis.id](http://kitamenulis.id)

e-mail: [press@kitamenulis.id](mailto:press@kitamenulis.id)

WA: 0821-6453-7176

IKAPI: 044/SUT/2021

Desy Muliana Wenas., dkk.

Senyawa Fitokimia: Uji Antiaging Kulit secara In Vitro

Yayasan Kita Menulis, 2024

xiv; 130 hlm; 16 x 23 cm

ISBN: 978-623-113-320-5

Cetakan 1, Mei 2024

I. Senyawa Fitokimia: Uji Antiaging Kulit secara In Vitro

II. Yayasan Kita Menulis

## Katalog Dalam Terbitan

Hak cipta dilindungi undang-undang

Dilarang memperbanyak maupun mengedarkan buku tanpa

izin tertulis dari penerbit maupun penulis

# Kata Pengantar

Syukur kami haturkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, atas berkat dan karunia yang dicurahkan kepada kita semua, buku "Senyawa Fitokimia : Uji Antiaging Kulit secara In Vitro" dapat dirampungkan dan diterbitkan. Terima kasih kepada tim penulis yang sudah menyediakan waktu serta kerja samanya dalam pembuatan buku ini.

Penuaan kulit merupakan hal yang dikhawatirkan oleh banyak orang terutama wanita. Kerutan, noda hitam, kulit kering, tekstur kasar, elastisitas maupun kekenyalan kulit menurun adalah gejala penuaan kulit. Penuaan kulit akan muncul dan secara bertahap akan tampak jelas. Tanda-tanda penuaan biasanya terlihat di kulit, dari yang paling umum seperti kerutan sampai kulit yang kendur dan turun akibat kehilangan elastisitasnya.

Penuaan kulit berpengaruh pada fungsi perlindungan kulit, terganggunya luka yang masih dalam proses recovery, perubahan pigmen, atau bahkan dapat mengakibatkan terjadinya kanker kulit. Proses penuaan tidak dapat dipungkiri. Seiring dengan waktu, setiap manusia akan mengalami penuaan. Metode untuk menghambat proses penuaan sudah banyak dikembangkan. Senyawa kimia yang berasal dari bahan alam atau disebut senyawa fitokimia, sangatlah berpotensi dalam pengembangan penelitian antiaging kulit. Pengujian in vitro melibatkan pengujian enzimatik atau melibatkan reaksi kimia yang tidak memerlukan sumber uji dengan kuantitas yang banyak dan bersifat efisien dan efektif. Oleh karena itu pentingnya penelitian antiaging kulit yang diawali dengan pengujian in vitro.

Depok, 16 April 2024

Penulis

# Daftar Isi

Kata Pengantar .....	v
Daftar Isi .....	vii
Daftar Gambar .....	xi
Daftar Tabel.....	xiii

## **Bab 1 Pendahuluan: Senyawa Fitokimia terkait Antiaging Kulit**

1.1 Pendahuluan.....	1
1.2 Kulit .....	2
1.2.1 Matriks Ekstraselular (ECM).....	4
1.2.2 Aging Kulit.....	5
1.3 Senyawa Fitokimia Antiaging .....	9
1.3.1 Resveratrol .....	9
1.3.2 Kurkumin .....	10
1.3.3 Ekstrak Centella asiatica .....	11
1.3.4 Asam hialuronat atau Hyaluronic Acid (HA).....	12
1.3.5 Arbutin.....	13
1.3.6 Senyawa Fitokimia lainnya.....	13

## **Bab 2 Persiapan Simplisia dan Metode Pengeringan**

2.1 Persiapan Simplisia .....	15
2.1.1 Pengumpulan Bahan Baku (Pemanenan) .....	16
2.1.2 Sortasi Basah .....	16
2.1.3 Perajangan.....	17
2.1.4 Pencucian .....	17
2.1.5 Penirisan dan Pengeringan .....	18
2.1.6 Sortasi Kering .....	19
2.1.7 Pengecilan Ukuran Simplisia dan Pengayakan .....	19
2.1.8 Pengemasan dan Penyimpanan.....	19
2.1.9 Pemeriksaan Mutu .....	20
2.2 Metode Pengeringan.....	21

**Bab 3 Metode Ekstraksi**

3.1 Ekstraksi .....	25
3.2 Faktor yang Berpengaruh terhadap Rendemen Ekstrak .....	27
3.3 Jenis-Jenis Ekstraksi .....	28
3.3.1 Maserasi .....	29
3.3.2 Perkolasi .....	29
3.3.3 Soxletasi .....	30
3.3.4 Refluks .....	31
3.3.5 Infundasi dan Dekoksi .....	32
3.3.6 Destilasi .....	33
3.3.7 Ultrasound Assisted Extraction (UAE) .....	33
3.3.8 Microwave Assisted Extraction (MAE) .....	34
3.4 Standardisasi Ekstrak .....	35

**Bab 4 Skrining Fitokimia secara Kualitatif**

4.1 Pendahuluan .....	37
4.2 Identifikasi Senyawa Fitokimia secara Kualitatif .....	38
4.2.1 Flavonoid .....	38
4.2.2 Tanin .....	40
4.2.3 Saponin .....	41
4.2.4 Steroid dan Triterpenoid .....	43
4.2.5 Fenolik .....	44
4.2.6 Alkaloid .....	45

**Bab 5 Penentuan Senyawa Fitokimia Secara Kuantitatif**

5.1 Analisis Kuantitatif Fitokimia .....	49
5.2 Analisis Kuantitatif Senyawa Metabolit Sekunder .....	52
5.2.1 Analisis Kadar Total Flavanoid .....	52
5.2.2 Analisis Kadar Saponin .....	53
5.2.3 Analisis Kadar Alkaloid .....	54
5.2.4 Analisis Kadar Tanin .....	55
5.2.5 Analisis Kadar Fenolik dengan Spektrofotometri UV-Vis .....	56
5.2.6 Analisis Kadar Triterpenoid secara Spektrofotometri UV-Vis .....	56
5.2.7 Analisis Kadar STEROID secara Spektrofotometri UV-Vis .....	56

**Bab 6 Fraksinasi dan Isolasi**

6.1 Definisi dan Manfaat Fraksinasi .....	57
6.2 Pemilihan Pelarut untuk Fraksinasi .....	57
6.3 Kromatografi .....	58

6.3.1 Kromatografi Kolom .....	59
6.4 Isolasi .....	62
6.4.1 metode Ekstraksi .....	62
6.4.2 DEFINISI Ekstraksi .....	63
6.4.3 Metode Ekstraksi .....	63
6.4.4 Pemilihan Metode Ekstraksi.....	65

## **Bab 7 Metode Kromatografi**

7.1 Pendahuluan .....	67
7.2 Prinsip Kerja Kromatografi .....	68
7.3 Klasifikasi kromatografi .....	69
7.3.1 Kromatografi Lapis Tipis .....	69
7.3.2 Kromatografi Kertas .....	72
7.3.3 Kromatografi Kolom .....	74
7.3.4. Kromatografi Cair – Vakum .....	77
7.3.5. Kromatografi Preparatif.....	78
7.3.6. Kromatografi Gas.....	79

## **Bab 8 Uji Metode Antioksidan secara DPPH, FRAP, ABTS**

8.1 Antioksidan dan Mekanismenya .....	84
8.2 Metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) .....	86
8.2.1 Prinsip dan Mekanisme Reaksi .....	86
8.2.2 Pengujian Metode DPPH.....	87
8.3 Metode FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power).....	88
8.3.1 Prinsip dan Mekanisme Reaksi .....	88
8.3.2 Pengujian Metode FRAP .....	89
8.4 Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin)-6-asam sulfonat).....	90
8.4.1 Prinsip dan Mekanisme Reaksi .....	90
8.4.2 Pengujian Metode ABTS.....	92

## **Bab 9 Pengujian Penghambatan Enzim Tirosinase Secara In Vitro**

9.1 Enzim Tirosinase .....	93
9.1.1 Struktur Enzim Tirosinase .....	94
9.1.2 Mekanisme Kerja Enzim Tirosinase.....	95
9.2 Inhibitor Enzim Tirosinase sebagai Antiaging .....	96
9.3 Senyawa Fitokimia dengan Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase .....	98
9.4 Prosedur Pengujian Inhibitor Enzim Tirosinase secara In Vitro.....	99
9.4.1 Penentuan IC50 .....	99
9.4.2 Analisis Kinetika Inhibitor Tirosinase .....	100

**Bab 10 Uji Anti-Elastase secara in Vitro**

10.1 Penuaan Dini dan Enzim Elastase.....	103
10.2 Struktur Enzim Elastase.....	106
10.3 Pengujian Anti-Elastase Secara In Vitro Menggunakan Senyawa Bahan Alam .....	107
Daftar Pustaka .....	109
Biodata Penulis .....	125

# Daftar Gambar

Gambar 1.1:	Struktur kulit epidermis dan dermis .....	3
Gambar 1.2:	Skin Aging.....	6
Gambar 1.3:	Skema proses aging kulit bagian dermal yang memperlihatkan perubahan fibroblas, serat kolagen maupun elastin .....	7
Gambar 1.4:	Penuaan yang disebabkan oleh paparan radiasi matahari....	8
Gambar 1.5:	Aktivitas Resveratrol terhadap kulit .....	10
Gambar 3.1:	Mekanisme ekstraksi dalam sel tanaman oleh pelarut.....	26
Gambar 3.2:	Faktor-faktor yang berpengaruh terhadap rendemen ekstrak.....	28
Gambar 3.3:	Perkolasi .....	30
Gambar 3.4:	Soxlet .....	31
Gambar 3.5:	Refluks .....	32
Gambar 3.6:	Ultrasound Assisted Extraction .....	34
Gambar 3.7:	Microwave Assisted Extraction .....	35
Gambar 4.1:	Hasil Uji Kualitatif Flavonoid.....	39
Gambar 4.2:	Reaksi pembentukan garam flavilium pada uji flavonoid...39	
Gambar 4.3:	Mekanisme kerja tanin sebagai anti-tirosinase .....	40
Gambar 4.4:	Hasil Uji Kualitatif Tanin.....	41
Gambar 4.5:	Reaksi uji tanin.....	41
Gambar 4.6:	Hasil Uji Kualitatif Saponin.....	42
Gambar 4.7:	Reaksi uji saponin.....	42
Gambar 4.8:	Hasil uji steroid dan terpenoid .....	43
Gambar 4.9:	Reaksi pada uji Liebermann-Burchard .....	44
Gambar 4.10:	Hasil Uji Fenolik.....	44
Gambar 4.11:	Reaksi uji fenolik .....	45
Gambar 4.12:	Hasil uji alkaloid .....	46
Gambar 4.13:	Reaksi pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorf.....	46
Gambar 4.14:	Reaksi pada uji alkaloid dengan pereaksi Mayer .....	47
Gambar 7.1:	Plat KLT di dalam chamber.....	70
Gambar 7.2:	Pemisahan Menggunakan KLT .....	71



---

Gambar 7.3:	Proses Kromatografi Kertas.....	74
Gambar 7.4:	Gambar kromatografi kolom .....	76
Gambar 7.5:	Kromatografi Volum .....	78
Gambar 8.1:	Struktur kimia antioksidan sintesis .....	84
Gambar 8.2:	Struktur kimia radikal DPPH.....	86
Gambar 8.3:	Pembentukan radikal DPPH (DPPH•).....	87
Gambar 8.4:	Mekanisme Reaksi DPPH dan antioksidan .....	87
Gambar 8.5:	Pembentukan radikal ABTS .....	90
Gambar 8.6:	Reaksi Oksidasi ABTS oleh kalium persulfat untuk menghasilkan kation radikal ABTS <sup>+</sup> dan reaksinya dengan antioksidan .....	91
Gambar 8.7:	Proses oksidasi satu elektron ABTS sehingga menghasilkan ABTS <sup>+</sup> .....	91
Gambar 9.1:	Visualisasi situs katalitik Jamur tirosinase ( <i>Agaricus bisporus</i> ), dengan ion tembaga yang dikoordinasikan oleh residu asam amino His61, His85, His94, His259, His263 dan His296.....	94
Gambar 9.2:	(a) Struktur kristal enzim tirosinase dari tumbuhan (1,8 Å) (PDB ID: 5CE9, daun kenari, <i>Juglans regia</i> ) (b) Situs aktif enzim mengandung dua ion tembaga A dan B yang dikoordinasikan oleh enam residu histidin His87, His108, His117 untuk rantai A dan His239, His243, His273 untuk rantai B	94
Gambar 9.3:	Keterlibatan enzim tirosinase dalam jalur melanogenesis (produksi eumelanin dan pheomelanin).....	95
Gambar 9.4:	Plot Lineweaver-Burk untuk inhibitor kompetitif, inhibitor nonkompetitif (alosterik), dan inhibitor nonkompetitif .....	101
Gambar 10.1:	Struktur 3D enzim elastase .....	106
Gambar 10.2:	Struktur 3D enzim elastase .....	106
Gambar 10.3:	Struktur 3D enzim elastase.....	107

# Daftar Tabel

Tabel 1.1: Komponen utama matriks ekstraselular kulit .....	5
Tabel 3.1: Senyawa penanda pada beberapa tanaman.....	36
Tabel 8.1: Tingkatan Kekuatan Antioksidan.....	85
Tabel 9.1: Interpretasi Nilai IC50 .....	100



# Bab 1

## Pendahuluan: Senyawa Fitokimia terkait Antiaging Kulit

### 1.1 Pendahuluan

Setiap sel tubuh memiliki batas usia tertentu. Sel seiring dengan waktu akan akan meregenerasi secara alami. Misalnya sel darah merah akan melakukan regenerasi selama 120 hari. Kulit pada orang dewasa usia produktif akan mengalami regenerasi setelah 28 hari, sedangkan orang usia 50 tahun mengalami periode waktu yang lebih lama untuk regenerasi yaitu 37 hari. Sebagian besar manusia terutama wanita memperhatikan penampilannya. Penampilan fisik terutama wajah pastinya ingin terlihat lebih muda. Namun, penuaan pasti terjadi secara alamiah bagi semua orang. Penuaan adalah penurunan fungsi fisiologis secara progresif yang diikuti kerentanan dan mortalitas dengan usia. Penuaan sel membatasi pembelahan sel secara normal pada sel somatik dan dapat berperan dalam penyakit yang berhubungan dengan usia. Berbagai cara dilakukan untuk mencegah terjadinya penuaan lebih awal, terutama penuaan kulit. Salah satu cara menghambat penuaan kulit yang dapat dilakukan oleh masyarakat umum, yaitu menggunakan sediaan

kosmetik. Selain kosmetik make up, sediaan kosmetik berupa perawatan kulit (skin care) sangat digandrungi untuk menjaga kesehatan serta meningkatkan penampilan kulit.

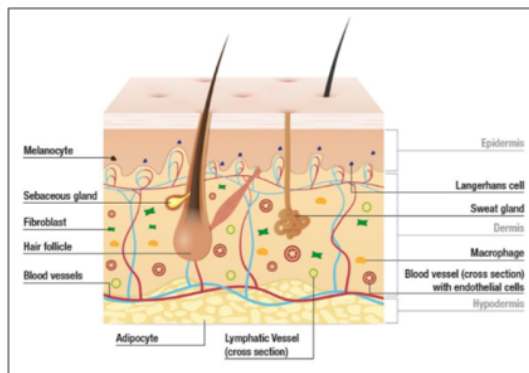
## 1.2 Kulit

Kulit merupakan organ terbesar di tubuh manusia. Kulit bekerja sebagai penahan yang melindungi tubuh dari lingkungan yang menciderai. Struktur tersebut terdiri dari berbagai jaringan yang bekerja dalam menjaga kondisi tubuh internal (homeostatis) dan pertahanan terhadap lingkungan luar tubuh. Organ tersebut secara dinamis berubah sesuai dengan proses biologis seperti pengaturan suhu tubuh, keseimbangan cairan, resepsi sensori, pembentukan vitamin serta hormon (Hofmann, Schwarz, Fink, Kamolz, & Kotzbeck, 2023). Kulit terdiri dari 2 lapisan utama, yaitu epidermis dan dermis. Epidermis terdiri dari sebuah lapisan sel epitel yang disebut keratinosit. Sel tersebutlah yang membentuk protein serat yang disebut keratin. Protein keratin memiliki sifat tahan air, dan memberikan kekuatan serta ketahanan pada kulit, kuku, maupun rambut (Fussell & Kelly, 2020)

Lapisan dermis sebagian besar terdiri dari fibroblas yang membentuk matriks ekstraseluler antara serat kolagen dan elastin. Di mana struktur tersebut yang memberikan kekuatan, ketahanan serta menjaga kulit tetap terhidrasi. Pembuluh darah dan limfe, syaraf, folikel rambut, kelenjar keringat maupun minyak terdapat pada lapisan dermis. Kulit senantiasa membentuk lapisan kulit yang baru secara berkala. Saat keratinosit bermigrasi ke arah permukaan kulit, sel tersebut berdiferensiasi menjadi sel epitel tanpa inti sel yang disebut korneosit yang dilengkapi dengan lemak termasuk skualen, trigliserit, seramid, asam lemak bebas, monoester wax dan kolesterol (Fussell & Kelly, 2020).

Lapisan dasar epidermis, stratum basal, menghubungkan dermis dan juga mengandung melanosit. Dendrit melanosit membantu mentransfer melanin ke keratinosit. Melanin melindungi terhadap kerusakan akibat sinar ultraviolet (UV) dan sintesisnya bertanggung jawab atas penggelapan mata, rambut, dan kulit. Mekanisme sintesis melanin dilakukan melalui oksidasi *tyrosinase* atau *L-3,4-dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) melalui aktivitas *tyrosinase* dan *tyrosinase-related protein 1* (TRP-1). Kulit memainkan peran penting dalam mengidentifikasi penuaan. Faktor terpenting yang dikaitkan dengan penuaan kulit adalah radikal bebas dan ROS yang menginduksi stres oksidatif pada sel

kulit yang menyebabkan kerusakan signifikan pada DNA dan biomembran (Ahmed et al., 2022).



**Gambar 1.1:** Struktur kulit epidermis dan dermis (Hofmann et al., 2023).

Dua jenis UV utama yang merusak adalah UV-A dan UV-B dengan spektrum masing-masing berkisar antara 320–400 nm dan 290–320 nm. Sinar UVA terutama diserap oleh berbagai kromofor seluler seperti bilirubin, heme, melanin, riboflavin, porfirin, pterin, dan asam urokanat saat menembus kulit. Meskipun sinar UV-A dan UV-B secara langsung membahayakan kulit, radiasi UV-A sendiri memberikan lebih dari 80% sinar UV harian dan merusak kolagen dan jaringan elastis dengan menembus lebih dalam ke persimpangan dermalepidermal serta dermis. Kulit kendur dan keriput, karena melemahnya kekuatan dan elastisitas kulit, merupakan ketidaksempurnaan yang sering terlihat pada matriks dermal yang diperbaiki sebagai akibat dari paparan radiasi matahari berulang-ulang serta efek dari beberapa endopeptidase, MMP yang menurunkan komponen matriks ekstraselular (Ahmed et al., 2022).

Di sisi lain, penuaan intrinsik/tergantung usia terutama disebabkan oleh kondisi seperti perubahan hormonal, pemendekan telomer, serta ketidakseimbangan antara radikal bebas dan antioksidan. Sebagian besar kondisi ini menyebabkan penurunan dramatis tingkat kolagen, elastin, dan asam hialuronat (HA). Kolagen sendiri menyumbang 80% dari berat kulit kering dan bertanggung jawab atas kekuatan tarik dan pemeliharaan fleksibilitas kulit. Elastin diperlukan untuk elastisitas kulit sementara HA juga membantu mempertahankan kadar air, elastisitas, dan struktur kulit, serta proliferasi jaringan yang cepat, regenerasi dan perbaikan jaringan. Oleh karena

itu, bahan anti penuaan yang potensial harus mampu menghambat *kolagenase*, *elastase*, dan *hialuronidase* (yang masing-masing mendegradasi kolagen, elastin, dan HA) selain memiliki aktivitas antioksidan dan anti inflamasi (Ahmed et al., 2022).

### 1.2.1 Matriks Ekstraselular (ECM)

Matriks ekstraselular mengisi ruang antar sel dan terdapat di semua jaringan ikat. Dermis dan adiposa, otot, tulang, tulang rawan, dan parenkim organ di sekitarnya, semuanya merupakan jaringan ikat, yang menonjol relevansi ECM dalam menjaga homeostatis jaringan. Di dalam ruang antar sel, fenomena seperti polarisasi dan migrasi sel, regulasi faktor pertumbuhan, aktivasi molekul pemberi sinyal, dan proses menerjemahkan rangsangan mekanis menjadi sinyal kimia melalui keterlibatan saluran mekanosensitif semuanya penting untuk pemeliharaan elastisitas ECM dan jaringan fisiologis kekakuan (Sparavigna, 2020). Perubahan kadar Matriks Metalloproteinase (MMP) dapat menyebabkan disregulasi homeostasis kulit. Kadar protease pada orang tua yang bergantung pada senyawa meningkat, menyebabkan degradasi protein ECM komponen. Secara fisiologis, MMP memastikan pergantian protein dengan merangsang pembaruan elastis dan serat kolagen. Tingkat MMP diatur oleh inhibitor jaringan, yang ekspresinya dapat terganggu oleh sinar UV, asap dan ROS. Sebaliknya, MMP yang mendegradasi protein membuat jaringan ikat menjadi kurang elastis (Sparavigna, 2020).

Hal penting lainnya yang perlu diperhatikan adalah glikasi protein, yaitu reaksi glukosa dan gula lainnya seperti fruktosa. Modifikasi protein pasca translasi ini dikaitkan dengan peningkatan kadar glukosa, memengaruhi struktur dan fungsi protein melalui peningkatan ikatan silang, dan menghasilkan pembentukan “Amadori” dan produk akhir glikasi tingkat lanjut. Protein terglykasi meningkatkan pembentukan radikal bebas dan melepaskan produk beracun dan komponen pro-inflamasi yang menyebabkan kerusakan protein, yang pada akhirnya adalah penyebab mendasar penuaan. Menopause pada wanita dikaitkan dengan penurunan aktivitas endokrin ovarium yang menyebabkan peningkatan hormon perangsang folikel dan penurunan estrogen dan progesteron, dengan gangguan metabolisme hilir. Perubahan dimulai dari organ reproduksi dan melibatkan seluruh jaringan ditargetkan oleh estrogen, dalam kerangka multisistem yang memengaruhi semua jaringan ikat. Atrofi kolagen adalah faktor utama yang terkait dengan penuaan kulit terkait menopause, yang berkontribusi terhadap berkurangnya elastisitas kulit.

Ketebalan kulit dan kandungan kolagen pada masa menopause, awalnya berkurang sebesar 1,13% dan 2,1% per tahun masing-masing; kolagen tipe I dan III menurun sebesar 30%. Kulit tidak hanya menjadi target hormon seks saja juga memproduksi dan melepaskan estrogen dari konversi enzimatik prekursor estrogen. Estrogen bekerja sejumlah fungsi pada jaringan ikat seperti menangkai degradasi kolagen oleh MMP diinduksi oleh sinar UV dan ROS melalui aktivasi jalur TGF- $\beta$ 1 (Sparavigna, 2020).

**Tabel 1.1:** Komponen utama matriks ekstraselular kulit.

Structural proteins	Adhesion proteins	Glycosaminoglycans	Proteoglycans
Collagen	Fibronectin	laluronan	Biglican
Elastin	Fibrillin	Heparan-sulphate	Agregacan
	Laminin	Condroitn-sulphate	Versican
	Tenascine		Neurocan
	Vitronectine		
	Osteonectine		

Metalloproteinase merupakan endopeptidase yang mendegradasi protein matriks ekstraselular. Lima kategori MMP antara lain:

1. kolagenase (MMP1, MMP8, MMP13)
2. gelatinases (MMP-2 and MMP-9)
3. stromelisin (MMP-3, MMP-10, and MMP-11)
4. matrilisin (MMP-7 and MMP-26)
5. MMP tipe membran (MMP-14, MMP-15, dan MMP-16).

MMP-1 merupakan enzim protease utama dalam melakukan inisiasi fragmentasi serat kolagen, yaitu kolagen tipe I dan III pada kulit manusia. Setelah didegradasi oleh MMP1, kolagen didegradasi kembali oleh MMP 3 dan MMP 9. Sumber utama MMP ialah keratinosit epidermal dan fibroblas dermal. MMP juga dapat dihasilkan oleh sel imunitas dan sel endotel. MMP diatur secara fisiologis oleh metalloproteinase inhibitor jaringan endogen (TIMP), yang terdiri dari 4 inhibitor protease: TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3, and TIMP-4.

## 1.2.2 Aging Kulit

Penuaan kulit merupakan proses yang tidak dapat dielakkan. Penuaan kulit ekstrinsik didefinisikan sebagai peningkatan proses degradasi integritas struktural kulit dan fungsionalitas sebagai konsekuensinya terus menerus dan secara bersamaan diekspos ke banyak orang. Seiring dengan waktu penuaan



pasti terjadi. Ciri klinis dari penuaan kulit kronologis adalah penipisan epidermis dan dermal lapisan, menyebabkan hilangnya elastisitas dan munculnya kerutan halus. Sering ditandai dengan kerutan kasar, bintik berpigmen (lentigines) dan warna kulit tidak merata, secara fenotip berbeda dari penuaan intrinsik. Faktor-faktor yang dapat menimbulkan penuaan kulit antara lain radiasi sinar ultraviolet, polusi, asap rokok, gizi buruk, makan berlebihan, kekurangan tidur, dan faktor stres.

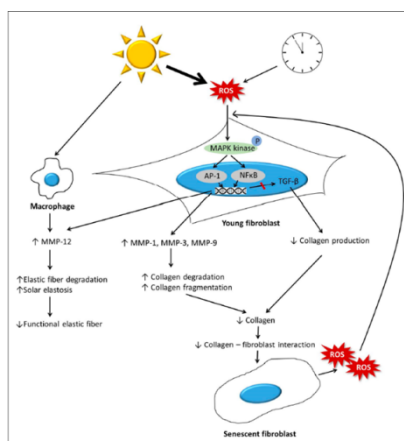
Penuaan kulit dinilai dengan menggunakan skor penilaian penuaan kulit intrinsik dan ekstrinsik SCINEXA. Penilaian mencakup gejala penuaan kulit berupa ekstrinsik dan intrinsik. Distribusi nilai skor bintik pigmen dan seboroikeratosis terdistribusi secara log-normal dan oleh karena itu diberikan rata-rata geometrik. Rata-rata nilai skor bintik pigmentasi adalah sekitar 3,0 pada dahi hingga lebih dari 20,0 pada lengan. Nilai rata-rata nilai skor seboroikeratosis pada bagian atas tubuh adalah 3.2. Distribusi tingkat kerutan, tingkat telangiectasis serta tingkat kekencangan terdistribusi secara normal, dan dalam kasus ini AM diberikan. AM untuk semua kerutan pada lokasi berbeda pada wajah adalah sekitar 3,0. Nilai rata-rata telangiectasis hampir 2,0 dan nilai rata-rata kelemahan pada wajah hampir 4,0. Solarelastosis di pipi terjadi pada sekitar 37% wanita.



**Gambar 1.2:** Skin Aging (Fussell & Kelly, 2020)

Suatu penelitian tentang SALIA (Studi tentang pengaruh polusi udara terhadap fungsi paru-paru, peradangan dan penuaan) melibatkan 400 wanita Kaukasia rentang usia 70-80 tahun. Penelitian tersebut menguji hubungan antara polusi udara terkait lalu lintas (TRAP) dan tanda-tanda klinis penuaan kulit, termasuk

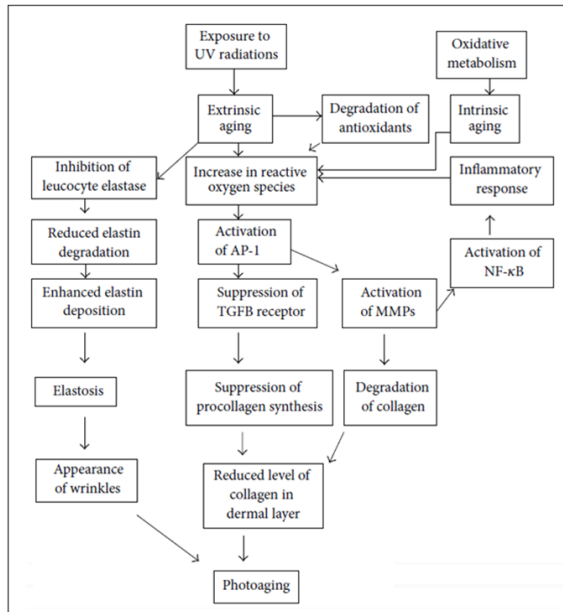
bintik-bintik penuaan, kerutan kasar, elastosis surya dan telangiectasis. Variabel perancu yang dikontrol seperti usia, indeks massa tubuh, penggunaan hormon terapi penggantian, riwayat merokok, tipe warna kulit skala *Fitzpatrick*, riwayat sengatan matahari, dan kebiasaan berjemur. Hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa paparan polusi udara tersebut berkorelasi secara signifikan dengan tanda-tanda penuaan kulit ekstrinsik, gejala paling kuat yaitu bintik-bintik penuaan dan gejala kurang menonjol untuk kerutan (Vierkötter et al., 2010).



**Gambar 1.3:** Skema proses aging kulit bagian dermal yang memperlihatkan perubahan fibroblas, serat kolagen maupun elastin (Shin et al., 2019).

Senyawa radikal bebas (ROS) dapat terbentuk dalam proses penuaan yang diaktivasi oleh MAPK (mitogen-activated protein kinase) dan menginduksi faktor transkripsi gen, termasuk AP 1 (protein activator 1) dan nuclear factor- $\kappa$  (NF- $\kappa$ ). Aktivasi tersebut meningkatkan ekspresi gen matrix metalloproteinase (MMP) dan menghambat pemberian sinyal transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ), yang mengarah terjadinya fragmentasi kolagen dan penurunan pembentukan kolagen secara alami. Hal tersebut menghambat interaksi antara fibroblas dan matriks ekstraseluler (ECM), di mana nantinya mengurangi ukuran fibroblas dermal. Fibroblas yang sudah lama menghasilkan sejumlah besar ROS yang akan lebih lanjut meningkatkan ekspresi MMP dan menghambat pemberian sinyal TGF. Hal tersebut akan mempercepat penuaan dermal. MMP-12 disekresi dari fibroblas dan makrofag berperan penting dalam pembentukan elastosis solar dan mengurangi fungsi serat elastis (Fussell & Kelly, 2020).

Telah terbukti sampai saat ini bahwa ada korelasi paparan polusi udara seperti PM, NO<sub>2</sub>, Ozon (O<sub>3</sub>) dengan pembentukan pigmentasi dan kerutan pada orang Kaukasia dan Asia Timur. Saat ini terdapat bukti epidemiologis bahwa paparan terhadap lalu lintas berhubungan dengan hal tersebut polusi udara termasuk PM, NO<sub>2</sub> dan O<sub>3</sub> di permukaan tanah dikaitkan dengan bintik pigmen dan pembentukan kerutan pada orang Kaukasia dan orang-orang Asia Timur. Bukti juga menunjukkan bahwa polusi udara dalam ruangan dari memasak dengan bahan bakar padat dapat mempercepat penuaan kulit di Cina wanita. Untuk PM dan NO<sub>2</sub>, korelasinya paling kuat dengan ekstrinsik penuaan kulit ditandai dengan bintik-bintik penuaan dan kurang terlihat pada kerutan. Di dalam hubungan kontras antara kelebihan O<sub>3</sub> dan kerutan wajah yang kasar ditemukan, tetapi tidak untuk bintik pigmen. Perbedaan ini mungkin, misalnya dibahas sebelumnya, berhubungan dengan potensi oksidatif yang lebih tinggi dan umur molekul Ozon (O<sub>3</sub>) yang lebih pendek, dan mencerminkan perbedaan patofisiologis jalur untuk berbagai polutan udara.



**Gambar 1.4:** Penuaan yang disebabkan oleh paparan radiasi matahari (Jadoon et al., 2015).

Penemuan epidemiologi tersebut menjelaskan hubungan konteks yang masuk akal antara paparan polutan lingkungan dan memperburuk tampilan percepatan

penuaan kulit. Contohnya paparan O<sub>2</sub> jangka panjang terhadap kesehatan kulit pada hewan uji. Penelitian *in vitro* tersebut menggambarkan interaksi dengan lipid tak jenuh di lapisan atas kulit menghasilkan ROS, menguras pertahanan antioksidan dan akhirnya, menginduksi serangkaian reaksi stres seluler di lapisan yang lebih dalam dari kulit (Fussell & Kelly, 2020).

## 1.3 Senyawa Fitokimia Antiaging

Bahan aktif antiaging mengandung senyawa yang dapat memberikan antioksidan bagi kulit, menstimulasi proses regenerasi sel kulit dan menjaga kelembaban.

### 1.3.1 Resveratrol

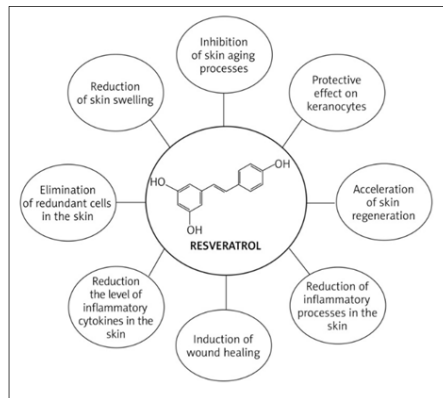
Resveratrol merupakan senyawa fenolik alami dan telah ditemukan pada kacang tanah, blueberry, dan buah anggur merah. Resveratrol telah menunjukkan aktivitas antioksidan, antiinflamasi, imunomodulator, hipotensi, dan hipolipidemik, serta efektivitas pada pencegahan dan pengelolaan kanker, penyakit kardiovaskular, penyakit neurodegeneratif, dan obesitas. Resveratrol juga digunakan terkait pengobatan penuaan melalui penekanan stres oksidatif, penghambatan respon inflamasi, peningkatan fungsi mitokondria, dan modulasi apoptosis (Zhou et al., 2021).

Senyawa tersebut dapat menurunkan risiko terjadinya gangguan kardiovaskular dengan cara mengurangi tingkat lemak dan menghambat agregasi trombosit. Diketahui orang-orang di negara Perancis memiliki kebiasaan makan yang mengandung tinggi lemak hewani, namun dengan kebiasaan mengonsumsi minuman anggur, mereka dipercayai memiliki tingkat kematian akibat penyakit kardiovaskular yang rendah. Hal tersebut dikenal dengan French Paradox (Leis et al., 2022).

Resveratrol digunakan dalam penelitian penyembuhan luka. Para peneliti telah menemukan bahwa metformin dan polifenol resveratrol memengaruhi epidermis dan folikel rambut, sedangkan rapamycin hanya memiliki efek regeneratif yang kecil. Resveratrol juga membantu sintesis kolagen di area kulit yang rusak, terlibat dalam proses angiogenesis di area luka karena aktivasi jalur AMPK. AMPK diinduksi oleh peningkatan konsentrasi p-asetil-KoA karboksilase. Resveratrol yang menyebabkan peningkatan aktivitas jalur

yang terkait dengan Sirt 1, yang meningkatkan tingkat koaktivator reseptor- $\gamma$  yang diaktifkan proliferasi peroksisom 1 $\alpha$  (PGC-1 $\alpha$ ) (Zhao et al., 2017).

Resveratrol diketahui mampu mengaktifasi enzim superoksida dismutase dan glutatión peroksida, yang dapat menghambat efek berbahaya dari radiasi ultraviolet pada kulit. Resveratrol mengurangi aktivitas lipid peroksida, siklooksigenase, dan ornitin dekarboksilase sehingga dapat melindungi kulit. Resveratrol menghambat jalur metabolisme terkait penuaan kulit dalam pengaturan konsentrasi seperti elastin, prokolagen serta menurunkan faktor pendukung proses peradangan, melemahkan kerja enzim metalloproteinase. Mengurangi pigmentasi kulit serta menurunkan penampakan pori-pori (Leis et al., 2022).



**Gambar 1.5:** Aktivitas Resveratrol terhadap kulit (Leis et al., 2022)

### 1.3.2 Kurkumin

Kurkumin, senyawa polifenol kuning yang diekstraksi dari spesies *Curcuma longa*, banyak digunakan dalam pengobatan Ayurveda tradisional untuk mencegah dan membedakan banyak penyakit, mengingat kandungan antioksidan, imunomodulator, antiinflamasi, antimikroba, pelindung jantung, pelindung nefron, hepatoprotektif, antineoplastik, dan antirematik (Benameur et al., 2021).

Efek ekstrak *C. longa* diketahui menyebabkan perubahan potensial pada ketebalan kulit, peningkatan elastisitas, penurunan pigmentasi dan kerutan yang disebabkan oleh penyinaran UV-B dosis rendah jangka panjang pada melanin memiliki tikus tidak berbulu. Ini mencegah pembentukan kerutan dan

melanin serta peningkatan diameter dan panjang pembuluh darah kulit dan penurunan ekspresi matriks metalloproteinase-2 (MMP-2). Oleh karena itu, kerutan kulit dapat diminimalisir dengan kurkumin (Mukherjee, Maity, Nema, & Sarkar, 2011).

*Curcuma xanthorrhiza* Roxb. (Famili: Zingiberaceae) Xanthorrhizol yang diisolasi dari *C. xanthorrhiza* diselidiki terhadap ekspresi MMP-1 dan prokolagen tipe-I pada fibroblas kulit manusia yang diiradiasi UV (Oh dkk. 2009). Ekstrak Xanthorrhizol dan *C. xanthorrhiza* (0,01-0,5 g/ml) menginduksi penurunan ekspresi protein MMP-1 yang signifikan dan bergantung pada dosis dan meningkatkan ekspresi prokolagen tipe-1 (Mukherjee et al., 2011).

### 1.3.3 Ekstrak *Centella asiatica*

*Centella asiatica* atau pegagan mengandung beberapa triterpenoid aktif, saponin, termasuk madecassoside, asiaticoside, centelloside, dan asam asiatic, yang telah dilaporkan meningkatkan hiperplasia seluler, produksi kolagen, tingkat jaringan granulasi DNA, protein, total kolagen, heksosamin, pematangan yang cepat dan ikatan silang kolagen. Madecassoside diisolasi dari *C. asiatica*, diketahui menginduksi ekspresi kolagen dan memodulasi mediator inflamasi. Untuk membenarkan pernyataan ini Haftek dkk. (2008) telah melakukan uji klinis acak tersamar ganda dan menemukan peningkatan signifikan pada skor klinis untuk kerutan, kekenyalan, kekencangan, kekasaran, dan hidrasi kulit. Asiaticoside adalah saponin aktif lainnya, yang menginduksi sintesis kolagen tipe I pada sel fibroblas dermal manusia. Mekanisme molekuler di balik ini sebagian diasumsikan sebagai SB431542, suatu penghambat reseptor TGF I kinase, yang dikenal sebagai penggerak jalur Smad (Lee et al. 2006). Formulasi topikal ekstrak air *C. asiatica* menunjukkan peningkatan proliferasi sel dan sintesis kolagen pada luka kulit tikus, yang merupakan bukti peningkatan kandungan kolagen dan kekuatan tarik. Luka yang dirawat mengalami epitelisasi lebih cepat dan tingkat kontraksi luka lebih tinggi. Triterpin termasuk asam asiatic, asam madecassic dan asiaticoside yang diekstraksi dari *C. asiatica* disaring pada kultur monolayer fibroblas manusia dan mengamati bahwa sintesis kolagen meningkat dalam cara yang bergantung pada dosis sedangkan aktivitas spesifik kolagen yang disintesis menurun (Mukherjee et al., 2011).

Ekstrak *Centella asiatica* banyak digunakan dalam kosmetik, yang memiliki efek melembapkan dan mempercepat penyembuhan luka pada kulit. Komponen pelembabnya adalah saponin triterpenoid pentacyclic, seperti

madecassoside. Saat ini, sudah banyak digunakan dalam tisu, produk perawatan kulit, dan salep, yang merupakan obat yang efektif untuk pengobatan penyakit kulit seperti luka dan bekas luka (Xie, Jiang, Lin, & Wei, 2024).

### 1.3.4 Asam hialuronat atau Hyaluronic Acid (HA)

Penuaan kulit juga dikaitkan dengan hilangnya kelembapan kulit. Molekul kunci yang terlibat dalam kelembapan kulit adalah hyaluronan atau asam hyaluronic (HA), suatu glikosaminoglikan (GAG) dengan kapasitas unik untuk mengikat dan menahan molekul air. HA termasuk dalam molekul matriks ekstraseluler (ECM). Selama beberapa dekade terakhir, komponen kulit telah dikarakterisasi dengan baik. Pada awalnya, sebagian besar penelitian berfokus pada sel-sel yang menyusun lapisan kulit, seperti epidermis, dermis, dan subkutis di bawahnya. Baru-baru ini, diketahui bahwa molekul ECM yang terletak di antara sel, selain menyediakan kerangka konstruktif, juga memberikan efek besar pada fungsi seluler. Molekul ECM ini, meskipun tampak amorf dengan mikroskop cahaya, mereka membentuk struktur yang sangat terorganisir, terutama terdiri dari GAG, proteoglikan, faktor pertumbuhan dan protein struktural seperti kolagen. Namun, komponen utama ECM kulit adalah HA. Tinjauan terbaru menggambarkan keterlibatan HA sehubungan dengan perannya dalam angiogenesis, spesies oksigen reaktif, kondrosit, kanker, cedera paru-paru, regulasi ketebalan tubuh dan kulit. Ulasan ini menyajikan secara singkat pengetahuan terkini dalam biologi dan fungsi HA dan berfokus pada keterlibatannya dalam penuaan kulit. Asam Hyaluronic Sifat kimia dan fisikokimia. HA adalah GAG non-sulfat dan terdiri dari disakarida polimer berulang dari asam D-glukuronat dan N-asetil-D-glukosamin yang dihubungkan oleh ikatan glukuronidat  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 3). Dalam larutan HA membentuk struktur tersier spesifik yang stabil. Meskipun komposisinya sederhana, tanpa variasi komposisi gula atau tanpa titik percabangan, HA memiliki sifat fisikokimia yang beragam. Tidak seperti GAG lainnya, HA tidak terikat secara kovalen pada inti protein, namun dapat membentuk agregat dengan proteoglikan. HA mencakup sejumlah besar air yang memberikan larutan dengan viskositas tinggi, bahkan pada konsentrasi rendah (Papakonstantinou et al., 2012).

Fungsi HA berfungsi dalam hidrasi, pelumasan sendi, kapasitas pengisian ruang, dan kerangka tempat sel bermigrasi. Sintesis HA meningkat selama cedera jaringan dan penyembuhan luka dan HA mengatur beberapa hal. aspek

perbaikan jaringan, termasuk aktivasi sel inflamasi untuk meningkatkan respons imun dan respons terhadap cedera fibroblas dan sel epitel. HA juga menyediakan kerangka kerja untuk pembentukan pembuluh darah dan migrasi fibroblas yang mungkin terlibat dalam perkembangan tumor. Korelasi tingkat HA pada permukaan sel sel kanker dengan agresivitas tumor juga telah dilaporkan. Ukuran HA tampaknya sangat penting untuk berbagai fungsinya yang dijelaskan di atas. HA dengan ukuran molekul tinggi, biasanya lebih dari 1.000 kDa, terdapat dalam jaringan utuh dan bersifat antiangiogenik serta immunosupresif, sedangkan polimer HA yang lebih kecil merupakan sinyal marabahaya dan penginduksi kuat peradangan dan angiogenesis (Papakonstantinou et al., 2012).

### 1.3.5 Arbutin

Arbutin adalah oksiglikosida yang diekstrak dari daun gandum dan tanaman azalea. Ini adalah produk kondensasi hidrokuinon dan glukosa. Strukturnya mirip dengan hidrokuinon dan tirosin, yang tidak hanya dapat menyerap sinar UV dengan baik, tetapi juga secara kompetitif mengikat situs aktif tirosinase, sehingga menghambat pembentukan melanin. Secara umum, arbutin alami biasanya mengandung tiga jenis struktur:  $\alpha$ -arbutin,  $\beta$ -arbutin dan deoxyarbutin. Di antaranya, deoksiarbutin memiliki efek penghambatan terbaik pada aktivitas tirosinase dan efek pemutihannya sekitar 150 kali lipat dari asam kojat. Namun Komisi Keamanan Konsumen Uni Eropa mengumumkan bahwa deoxyarbutin dilarang digunakan dalam kosmetik mulai 26 Juli 2021. Efek memutihkan  $\alpha$ -arbutin lebih tinggi dibandingkan  $\beta$ -arbutin. Namun karena tingginya biaya produksi  $\alpha$ -arbutin, umumnya mengacu pada  $\beta$ -arbutin dalam bahan kosmetik yang ditambahkan arbutin. Arbutin ester asam undecylenic adalah prodrug yang berasal dari esterifikasi enzimatis arbutin dan asam undecylenic. Senyawa ini dirancang untuk menjaga kestabilan sifat fisik dan kimia arbutin (Xie et al., 2024).

### 1.3.6 Senyawa Fitokimia lainnya

#### 1. Asam retinoid

Aplikasi asam retinoid dengan konsentrasi 0,05% selama 6 bulan dapat memperbaiki garis kerutan halus dan kasar, kekasaran dan kekenyalan kulit. Mekanisme Kerja asam retinoid terletak pada



peningkatan kolagen tipe I, III dan VII, menurunkan Kerja enzim MMP, mengatur ulang serat elastin.

2. Asam Askorbat

Asam askorbat dapat mengurangi ROS, bekerja sebagai kofaktor pada pembentukan prokolagen dan elastin, menginduksi pembentukan kolagen pada fibroblas kulit manusia serta meningkatkan ketebalan dermis. Penggunaan asam askorbat konsentrasi 5% lama 6 bulan dapat meningkatkan penampilan kulit yang mengalami kerusakan akibat radiasi cahaya.

3. Asam Glikolat

Asam glikolat dapat menstimulasi produksi GAG dan kolagen pada dermis. Meningkatkan kualitas histologi dan serat elastin. Konsentrasi yang digunakan yaitu 35% selama 6 bulan untuk meningkatkan ketebalan kulit.

4. Peptida

Peptida dapat mengatur fibroblast dan mengendalikan produksi matriks ekstraselular. Aplikasi peptide selama 3 bulan dapat mengurangi kerutan dan membuat kulit lebih mulus.

# Daftar Pustaka

- A. N. Panche, A. D. Diwan, and S. R. Chandra, (2016). Flavonoids: An overview. *J. Nutr. Sci*, Volume 5, pp. 1-15.
- Agoes, Goeswin. (2009). *Teknologi Bahan Alam (Serial Farmasi Industri-2) edisi revisi*, Penerbit ITB, Bandung
- Ahmed, I. A., Mikail, M. A., Zamakshshari, N. H., Mustafa, M. R., Hashim, N. M., & Othman, R. (2022). Trends and challenges in phytotherapy and phytocosmetics for skin aging. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(8), 103363. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2022.103363>
- Ahsan, I. (2022) 'Kromatografi Lapis Tipis Prinsip dan Cara Kerja', <https://Farmasiindustri.Com>, (November), p. 1. Available at: <https://farmasiindustri.com/qc/kromatografi-lapis-tipis.html>.
- Ambarwati, N. S. S., Armandari, M. O., Widayat, W., Desmiaty, Y., Elya, B., Arifianti, A. E., & Ahmad, I. (2022). In vitro studies on the cytotoxicity, elastase, and tyrosinase inhibitory activities of tomato (*Solanum lycopersicum* Mill.) extract. *Journal of advanced pharmaceutical technology & research*, 13(3), 182–186. [https://doi.org/10.4103/japtr.japtr\\_49\\_22](https://doi.org/10.4103/japtr.japtr_49_22)
- Andayani, R., & Febriyenti, N. (2020). In vitro antioxidant and anti-tyrosinase activity assay of garlic (*Allium sativum* L.) ethanol extract cream for anti aging. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 9(9), 2085–2098. <https://doi.org/10.20959/wjpps20209-17140>
- Anwar, K. and Triyasmono, L. (2016) 'Kandungan Total Fenolik , Total Flavonoid , dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu ( *Morinda citrifolia* L . )', Kandungan Total Fenolik , Total Flavonoid , dan

- Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu ( *Morinda citrifolia* L.), 3(1), pp. 83–92.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2012). Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak Volume 01 (1 ed.). Badan POM RI.
- Badan Pengawas Obat dan Makanan. (2023). Pedoman Penyiapan Bahan Baku Obat Bahan Alam Berbasis Ekstrak/Fraksi. Badan POM RI.
- Bang, E. J., Noh, S. G., Ha, S., Jung, H. J., Kim, D. H., Lee, A. K., Hyun, M. K., Kang, D., Lee, S., Park, C., Moon, H. R., & Chung, H. Y. (2018). Evaluation of the novel synthetic tyrosinase inhibitor (z)-3-(3-bromo-4-hydroxybenzylidene) thiochroman-4-one (MHY1498) In vitro and in silico. *Molecules*, 23(12), 1–11. <https://doi.org/10.3390/molecules23123307>
- Baskoro, B.D. (2018) ‘Metode Dasar Pemisahan Kimia’, Baskoro D B, 21(3), pp. 1–101. Coskun, O. (2016) ‘Separation Techniques: CHROMATOGRAPHY’, Northern Clinics of Istanbul, 3(2), pp. 156–160. Available at: <https://doi.org/10.14744/nci.2016.32757>.
- Batubara, I., Darusman, L. K., Mitsunaga, T., Rahminiwati, M., & Djauhari, E. (2010). Potency of Indonesian medicinal plants as tyrosinase inhibitor and antioxidant agent. In *Journal of Biological Sciences* 10(2), 138–144. <https://doi.org/10.3923/jbs.2010.138.144>
- Benameur, T., Soleti, R., Panaro, M. A., La Torre, M. E., Monda, V., Messina, G., & Porro, C. (2021). Curcumin as prospective anti-aging natural compound: Focus on brain. *Molecules*, 26(16), 1–17. <https://doi.org/10.3390/molecules26164794>
- Bijelic, A., Pretzler, M., Molitor, C., Zekiri, F., & Rompel, A. (2015). The structure of a plant tyrosinase from Walnut leaves reveals the importance of “substrate-guiding residues” for enzymatic specificity. *Angewandte Chemie - International Edition*, 54(49), 14677–14680. <https://doi.org/10.1002/anie.201506994>
- Blume-Peytavi, U., Kottner, J., Sterry, W., Hodin, M. W., Griffiths, T. W., Watson, R. E., Hay, R. J., & Griffiths, C. E. (2016). Age-Associated Skin Conditions and Diseases: Current Perspectives and Future Options. *The Gerontologist*, 56 Suppl 2, S230–S242. <https://doi.org/10.1093/geront/gnw003>

- BPOM, (2000). Parameter Standar Umum. Jakarta: Depkes RI.
- BPPT, (2017). Outlook Teknologi Kesehatan : Teknologi untuk Industri Bahan Baku dan Obat Herbal Proyeksi 2035. Jakarta Pusat: BPPT Press.
- Calixto, J., (2000). Efficacy, Safety, Quality Control, Marketing and Regulatory Guidelines for Herbal Medicines (Phytotherapeutic Agents). *Braz J Med Biol Res*, Volume 33, pp. 179-189.
- Casanola-Martin, G., Le-Thi-Thu, H., Marrero-Ponce, Y., Castillo-Garit, J., Torrens, F., Rescigno, A., Abad, C., & Khan, M. (2014). Tyrosinase Enzyme: 1. An Overview on a Pharmacological Target. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14(12), 1494–1501. <https://doi.org/10.2174/1568026614666140523121427>
- Chang, T. S. (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6), 2440–2475. <https://doi.org/10.3390/ijms10062440>
- Chang, T. S. (2012). Natural melanogenesis inhibitors acting through the down-regulation of tyrosinase activity. *Materials*, 5(9), 1661–1685. <https://doi.org/10.3390/ma5091661>
- Chanwitheesuk, A., Teerawutgulrag, A. and Rakariyatham, N. (2005) ‘Screening of antioxidant activity and antioxidant compounds of some edible plants of Thailand’, *Food Chemistry*, 92(3), pp. 491–497. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.07.035>.
- D. Stauffer, A. Aharony, (2003). Percolation. In: R. A. Meyers, ed. *Encyclopedia of Physical Science and Technology*. California: Academic Press, pp. 655-669.
- Departemen Kesehatan RI, 2000, Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama, 3-11, 17-19, Dikjen POM, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia IV*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dewi, N.P. (2020) ‘Uji Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Daun Awar-Awar (*Ficus septica* Burm.f) dengan Metode Spektrofotometer UV-VIS’, *Acta Holistica Pharmacia*, 2(1), pp. 16–24.

- Dhurhanian, C.E. and Novianto, A. (2019) 'Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*)', *JURNAL FARMASI DAN ILMU KEFARMASIAN INDONESIA*, 5(2), pp. 62–67. Available at: <https://doi.org/10.20473/jfiki.v5i22018.62-68>.
- Di Petrillo, A., González-Paramás, A. M., Era, B., Medda, R., Pintus, F., Santos-Buelga, C., & Fais, A. (2016). Tyrosinase inhibition and antioxidant properties of *Asphodelus microcarpus* extracts. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(453), 1–9. <https://doi.org/10.1186/s12906-016-1442-0>
- Ditjen POM. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Endarini, L. H., (2016). Farmakognosi dan Fitokimia. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Fadhila, D. and Etika, S.B. (2023) 'SKRINING FITOKIMIA EKSTRAK METANOL DAUN CEMARA SUMATERA (*Taxus sumatrana*)', *Jurnal Pendidikan Kimia Universitas Riau*, 8(1), pp. 66–73.
- Fahmi, N., Herdiana, I., Rubiyanti. (2019). Pengaruh Metode Pengeringan terhadap Mutu Simplisia Daun Pulutan. *Media Informasi*, 15(2), 165–169.
- Fais, A., Corda, M., Era, B., Fadda, M. B., Matos, M. J., Quezada, E., Santana, L., Picciau, C., Podda, G., & Delogu, G. (2009). Tyrosinase Inhibitor Activity of Coumarin-Resveratrol Hybrids. *Molecules*, 14(7), 2514–2520. <https://doi.org/10.3390/molecules14072514>
- Farage, M. A., Miller, K. W., Elsner, P., & Maibach, H. I. (2008). Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. *International journal of cosmetic science*, 30(2), 87–95. <https://doi.org/10.1111/j.1468-2494.2007.00415.x>
- Fuadi, (2012). Ultrasonik Sebagai Alat Bantu Ekstraksi Oleoresin Jahe. *Jurnal Teknologi*, 12(1), pp. 14-21.
- Fussell, J. C., & Kelly, F. J. (2020). Oxidative contribution of air pollution to extrinsic skin ageing. *Free Radical Biology and Medicine*, 151(February), 111–122. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2019.11.038>

- G Bhargavi, P Nageswara Rao, S Renganathan, (2018). Review on the Extraction Methods of Crude oil from all Generation Biofuels in last few Decades. IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering.
- G. Ningsih, S. R. Utami, and R. A. Nugrahani, (2015). Pengaruh Lamanya Waktu Ekstraksi Remaserasi Kulit Buah Durian Terhadap Rendemen Saponin Dan Aplikasinya Sebagai Zat Aktif Anti Jamur. *Konversi*, 4(1), pp. 8-16.
- Gulcin, İ. (2020). Antioxidants and antioxidant methods: An updated overview. *Archives of toxicology*, 94(3), 651-715.
- Gulcin, İ., & Alwasel, S. H. (2023). DPPH radical scavenging assay. *Processes*, 11(8), 2248.
- Hanani, E. (2014) 'Analisis Fitokimia.pdf'. Jakarta: Buku Kedokteran ECG.
- Handayani, T.W., Yusuf, Y. and Tandi, J. (2020) 'Analisis Kualitatif dan Kuantitatif Metabolit Sekunder Ekstrak Biji Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis', *KOVALEN: Jurnal Riset Kimia*, 6(3), pp. 230–238. Available at: <https://doi.org/10.22487/kovalen.2020.v6.i3.15324>.
- Harahap, S. (2023) 'Alkaloid and Flavonoid Phytochemical Screening on Balakka Leaves (*Phyllanthus Emblica* L.)', *Formosa Journal of Science and Technology*, 2(8), pp. 2069–2082. Available at: <https://doi.org/10.55927/fjst.v2i8.5691>.
- Harborne. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi I. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: Penerbit ITB.
- Helfrich, Y. R., Sachs, D. L., & Voorhees, J. J. (2008). Overview of skin aging and photoaging. *Dermatology nursing*, 20(3), 177–184.
- Hernani, Rahardjo. M, (2005). *Tanaman Berkhasiat Antioksidan..* Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hofmann, E., Schwarz, A., Fink, J., Kamolz, L. P., & Kotzbeck, P. (2023). Modelling the Complexity of Human Skin In Vitro. *Biomedicines*, 11(3), 1–17. <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030794>
- Hujjatusnaini, D.N. et al. (2021) *Buku Referensi Ekstraksi*, Institut Agama Islam Negeri Palangkaraya.

- Hutasuhut, D.A., Aspriyanto, D. and Krishnawan Firdaus, I.W.A. (2022) 'UJI FITOKIMIA KUALITATIF DAN KUANTITATIF EKSTRAK KULIT BUAH RAMBAI (*Baccaurea Motleyana*) KONSENTRASI 100%', *Dentin*, 6(2), pp. 97–102. Available at: <https://doi.org/10.20527/dentin.v6i2.6394>.
- Hwang, K. A., Yi, B. R., & Choi, K. C. (2011). Molecular mechanisms and in vivo mouse models of skin aging associated with dermal matrix alterations. *Laboratory animal research*, 27(1), 1–8. <https://doi.org/10.5625/lar.2011.27.1.1>
- Ismaya, W. T., Rozeboom, J., Weijn, A., Mes, J. J., & Fusetti, F. (2011). Crystal structure of *Agaricus bisporus* mushroom tyrosinase: identity of the tetramer subunits and interaction with tropolone. *Biochemistry*, 50(24), 5477–5486.
- Istiqomah, (2013). Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*). Jakarta: UIN Syarif Hidayatullah.
- Jadoon, S., Karim, S., Hassham, M., Bin, H., Akram, M. R., Khan, A. K., ... Murtaza, G. (2015). Anti-Aging Potential of Phytoextract Loaded-Pharmaceutical Creams for Human Skin Cell Longevity. 2015(Figure 1).
- Jakimiuk, K., Sari, S., Milewski, R., Supuran, C. T., Şöhretoğlu, D., & Tomczyk, M. (2022). Flavonoids as tyrosinase inhibitors in in silico and in vitro models: basic framework of SAR using a statistical modelling approach. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 37(1), 427–436. <https://doi.org/10.1080/14756366.2021.2014832>
- Jenkins G. (2002). Molecular mechanisms of skin ageing. *Mechanisms of ageing and development*, 123(7), 801–810. [https://doi.org/10.1016/s0047-6374\(01\)00425-0](https://doi.org/10.1016/s0047-6374(01)00425-0)
- Julianto, T. S., (2019). *Fitokimia Tinjauan Metabolit Sekunder dan Skrining Fitokimia*. Yogyakarta: Universitas Islam Indonesia.
- Katno. (2008). *Penanganan Pasca Panen Tanaman Obat*. Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional.
- KemenKesRI, (2011). *100 top tanaman obat Indonesia*. Tawangmangu: Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional.

- Knaggs H. Skin aging in the Asian population. In: Dayan N, editor. Skin aging handbook: an integrated approach to biochemistry and product development. New York: William Andrew Inc; 2008. p. 177-201.
- Krisnadi, A. D. (2015). Kelor Super Nutrisi edisi revisi, PUSAT INFORMASI DAN PENGEMBANGAN TANAMAN KELOR INDONESIA. Lembaga Swadaya Masyarakat – Media Peduli Lingkungan (LSM-MEPELING)
- Kumar, S., Jyotirmayee, K. and Sarangi, M. (2013) ‘Thin layer chromatography: A tool of biotechnology for isolation of bioactive compounds from medicinal plants’, International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research, 18(1), pp. 126–132.
- Kusumawati, D.E. and Puspitasari, R.P. (2023) ‘Evaluasi Sifat Fisik Sediaan Sabun Cair Ekstrak Bunga Telang (*Clitoria ternate*)’, Indonesian Journal of Medical and Pharmaceutical Science, 2(2), pp. 28–53.
- Kusumawati, D.E. et al. (2023) ‘PHYTOCHEMICAL SCREENING, FORMULATION AND EVALUATION OF FOOTSPRAY CONTAINING HONEY PINEAPPLE PEEL EXTRACT (*Ananas Comosus* [L.] Merr)’, Jurnal Farmasi Sains dan Praktis (JFSP), 9(3), pp. 244–251.
- LaBorde, L., & Zepp, M. (2013). *Drying Herbs*. The Pennsylvania State University.
- Leis, K., Pisanko, K., Jundziłł, A., Mazur, E., Męcińska-Jundziłł, K., & Witmanowski, H. (2022). Resveratrol as a factor preventing skin aging and affecting its regeneration. *Advances in Dermatology and Allergology*, 39(3), 439–445. <https://doi.org/10.5114/ada.2022.117547>
- Li, M. X., Xie, J., Bai, X., & Du, Z. Z. (2021). Anti-aging potential, anti-tyrosinase and antibacterial activities of extracts and compounds isolated from *Rosa chinensis* cv. ‘JinBian.’ *Industrial Crops and Products*, 159, 113059. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2020.113059>
- Liang, N., & Kitts, D. D. (2014). Antioxidant property of coffee components: assessment of methods that define mechanisms of action. *Molecules*, 19(11), 19180-19208.
- Lukman, A. (2022) *Buku Ajar Dasar-Dasar Kimia Analitik*, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan IPA Universitas Gorontalo.



- Mailuhu, M., Runtuwene, M.R.J. and Koleangan, H.S.J. (2017) 'SKRINING FITOKIMIA DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK METANOL KULIT BATANG SOYOGIK (*Saurauia bracteosa* DC)', *Chem. Prog.*, 10(1), pp. 1–5.
- Manoi, F. (2006). Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Mutu *Sambiloto*. *Bull Litro*.
- Marjoni, M. R., (2020). Analisis Farnakognosi untuk Mahasiswa Farmasi. 1 ed. Jakarta: Trans Info Media.
- Matsuura, R., Ukeda, H., & Sawamura, M. (2006). Tyrosinase inhibitory activity of citrus essential oils. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(6), 2309–2313. <https://doi.org/10.1021/jf051682i>
- Md Saifullah, Rebecca McCullum and Quan Va, (2021). Optimization of Microwave-Assisted Extraction of Polyphenols from Lemon Myrtle: Comparison of Modern and Conventional Extraction Techniques Based on Bioactivity and Total Polyphenols in Dry Extracts. *Processes*, 9(2).
- Melati and Parbuntari, H. (2022) 'Screening Fitokimia Awal (Analisis Kualitatif) Pada Daun Gambir (*Uncaria Gambir* Roxb) Asal Siguntur Muda', *Chemistry Journal of Universitas Negeri Padang*, 11(3), pp. 88–92.
- Mokrani, A., Krisa, S., Cluzet, S., Da Costa, G., Tamsamani, H., Renouf, E., ... & Richard, T. (2016). Phenolic contents and bioactive potential of peach fruit extracts. *Food Chemistry*, 202, 212-220.
- Mostafa El-Sheekh, Abdelfatah Abomohra, (2016). Biodiesel Production from Microalgae. In: A. A. Neelam Garg, ed. *Industrial Microbiology: Microbes in Action*. s.l.:Biodiesel Production from Microalgae.
- Mubarok, F. (2021) 'Kromatografi Kertas Prinsip dan Cara Kerja', *Research Gate*, (June), pp. 20–26.
- Mukherjee, P. K., Maity, N., Nema, N. K., & Sarkar, B. K. (2011). Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*, 19(1), 64–73. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.10.003>
- Mukhriani, (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *J. Kesehat*, 7(2).

- Muller J, Heindl. (2006). *Drying Of Medical Plants* In R.J. Bogers, L.E. Cracer, and Lange D, (eds). *Medical and Aromatic Plant*. The Netherland: Springer. p.237-252.
- Munadi, R. and Arifin, L. (2022) 'IDENTIFIKASI SENYAWA METABOLIT SEKUNDER DAN UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK DAUN JAHE PUTIH (*Zingiber officinale* Rosc. var. *officinatum*)', *SPIN Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*, 4(2), pp. 163–174.
- Mutiasari, IR. (2012). Identifikasi Golongan Senyawa Kimia Fraksi Aktif. *Jurnal Fitokimia*. 5-11.
- N. Austen, H. J. Walker, J. A. Lake, G. K. Phoenix, and D. D. Cameron, (2019). The Regulation of Plant Secondary Metabolism in Response to Abiotic Stress : Interactions Between Heat Shock and Elevated CO<sub>2</sub>. *Front. Plant Sci*, Volume 10, p. 1–12.
- Nadya Amelinda Zahar, Neila Zakiah Hanun, Fitria Yulistiani, Heriyanto, (2021). Studi Literatur Implementasi Metode Microwave Assisted Extraction (MAE) Untuk Ekstraksi Fenol Dengan Pelarut Etanol. *Jurnal Fluida*, 14(2), pp. 80-87.
- Nelly Medina-Torres, Teresa Ayora-Talavera, Hugo Espinosa-Andrews, Angeles Sánchez-Contreras and Neith Pacheco, (2017). Ultrasound Assisted Extraction for the Recovery of Phenolic Compounds from Vegetable Sources. *Agronomy*, 7(3), p. 47.
- Ningsih, I.S. et al. (2023) 'Senyawa Aktif Flavonoid yang Terdapat Pada Tumbuhan', *Serambi Biologi*, 8(2), pp. 126–132.
- Ningsih, I.Y. (2016). Modul Saintifikasi Jamu (Penanganan Pasca Panen). *Bagian Biologi Farmasi*. Fakultas Farmasi Universitas Jember
- Noer, S., Pratiwi, R.D. and Gresinta, E. (2018) 'Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin dan Flavonoid) sebagai Kuersetin Pada Ekstrak Daun Inggu (*Ruta angustifolia* L.)', *Jurnal Eksakta*, 18(1), pp. 19–29. Available at: <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art3>.
- Noor Hujjatusnaini, Bunga Indah, Emeilia Afitri, Ratih, Widyastuti Ardiansyah, (2021). *Buku Referensi Ekstraksi*. Palangka Raya: Insitut Agama Islam Negeri Palangkaraya.

- Nugraha, A.A.S. (2019) 'Bab 1 pendahuluan', *Pelayanan Kesehatan*, (2015), pp. 3–13. Available at: [http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/23790/4/Chapter I.pdf](http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/23790/4/Chapter%20I.pdf).
- Nugroho, A., (2017). *Buku Ajar Teknologi Bahan Alam*. Banjarmasin: Lambung Mangkurat University Press.
- Nur, S., Rumiati and Lukitaningsih, E. (2017) 'Skринing Aktivitas Antioksidan, Antiaging dan Penghambatan Tyrosinase dari Ekstrak Etanolik dan Etil Asetat Daging Buah dan Kulit Buah Langsung (*Lansium domesticum* Corr) Secara In Vitro', *Trad. Med. J.*, 22(1), pp. 63–72.
- Nurdiani, D. (2018) 'Buku Informasi Melaksanakan Analisa Secara Kromatografi Konvensional Mengikuti Prosedur', *Kemendikbud*, (9), p. 80.
- Nurfitriani (2013) 'Penggunaan Metode Kromatografi Gas (GC) Dalam Mengkarakterisasi Minyak Atsiri Dari Kulit Jeruk Bali (*Citrus maxima pericarpium*)', *Skripsi, Universita*, p. Makassar.
- Nurrochmad, A., Wirasti, Dirman, A., Lukitaningsih, E., Rahmawati, A., & Fakhruddin, N. (2018). Effects of Antioxidant, Anti-Collagenase, Anti-Elastase, Anti-Tyrosinase of The Extract and Fraction From *Turbinaria decurrens* Bory. *Indonesian Journal of Pharmacy*, 29, 188–199. doi:10.14499/indonesianjpharm29iss4pp188
- Orphanides, A., Goulas, V., & Gekas, V. (2016). Drying Technologies: Vehicle to High-Quality Herbs. *Food Engineering Reviews*, 8(2), 164–180. <https://doi.org/10.1007/s12393-015-9128-9>
- Osman, A. M., Wong, K. K. Y., & Fernyhough, A. (2006). ABTS radical-driven oxidation of polyphenols: Isolation and structural elucidation of covalent adducts. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 346(1), 321–329.
- Pandel, R., Poljšak, B., Godic, A., & Dahmane, R. (2013). Skin photoaging and the role of antioxidants in its prevention. *ISRN dermatology*, 2013, 930164. <https://doi.org/10.1155/2013/930164>
- Pandey A, Tripathy S, (2014). Concept of Standardization, Extraction and Pre Phytochemical. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), pp. 115-119.

- Papakonstantinou, E., Roth, M., & Karakiulakis, G. (2012). Hyaluronic acid: A key molecule in skin aging. *Dermato-Endocrinology*, 4(3). <https://doi.org/10.4161/derm.21923>
- Parfati, N., Rani, K. C., Jayani, N. I. E. (2019). Modul Penyiapan Simplisia Kelor (Aspek Produksi, Sanitasi, dan Hygiene). Bojonegoro:Program Pengembangan Wilayah (PPW).
- Poljšak, B., Dahmane, R. G., & Godić, A. (2012). Intrinsic skin aging: the role of oxidative stress. *Acta dermatovenerologica Alpina, Pannonica, et Adriatica*, 21(2), 33–36.
- POM, D. J., (2000). Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. 4 ed. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Prasetyo, Inoriyah E. (2013).Pengelolaan Budidaya Tanaman Obat-obatan (Bahan Simplisia). Bengkulu: Badan Penerbitan Fakultas Pertanian UNIB
- RI, B., (2012). Buku Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak. 1 ed. Jakarta: Badan POM RI.
- Rohman, A. (2007) Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Romansyah, E. et al. (2019) 'IDENTIFIKASI SENYAWA KIMIA DAUN BAMBUS SEHAT SEBAGAI BAHAN PENETRAN LIMBAH CAIR', *Jurnal Agrotek Ummat*, 6(2), pp. 77–81. Available at: <https://doi.org/10.31764/agrotek.v6i2.1219>.
- Rosselita, P. D., (2020). Pembuatan Liqueur Beraroma Buah Carica dengan Metode Perkolasi. Bandung: Sekolah Tinggi Pariwisata Bandung.
- Rubinstein RL, Canham S. Aging skin in sociocultural perspective. In: Dayan N, editor. *Skin aging handbook: an integrated approach to biochemistry and product development*. New York: William Andrew Inc; 2008. p. 3-14
- Sachdeva S. (2009). Fitzpatrick skin typing: applications in dermatology. *Indian journal of dermatology, venereology and leprology*, 75(1), 93–96. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.45238>
- Sai Kiran Aditha, Aditya Dileep Kurdekar, L.A. Avinash Chunduri, Sandeep Patnaik, Venkataramaniah Kamiseti, (2016). Aqueous based reflux

- method for green synthesis of nanostructures: Application in CZTS synthesis. *MethodsX*, Volume 3, pp. 35-42.
- Sari Nanda. (2011). Karakterisasi Simplisia dan Isolasi serta Analisis Komponen Minyak Atsiri secara GC-MS dari Buah Kulit Jeruk Bali (*Citrus maximae*). Universitas Sumatera Utara: Medan.
- Sari, D.R.T., Pranoto, M.E. and Azkiyah, S.Z. (2022) 'Kajian Farmakoinformatika Senyawa Alkaloid Anggur Laut (*Caulerpa racemose*) Sebagai Inhibitor Collagenase Dalam Mekanisme Antiaging', *Florea: Jurnal Biologi dan Pembelajarannya*, 9(2), pp. 127–133.
- Seidel, V. 2012. Initial and bulk extraction of natural product isolation. In S.D. Sarker & L. Nahar (eds). *Natural Product Isolation, Methods in Molecular Biology*. 864: 27–41.
- Senduk, T. W. M. L. A. D. Y. a. D. V., (2020). The rendement of boiled water extract of mature leaves of mangrove *Sonneratia alba*. *JURNAL PERIKANAN DAN KELAUTAN TROPIS*, 11(1), pp. 9-15.
- Sentat, T., Handayani, F. and Indraswari, E. (2020) 'UJI AKTIVITAS ANALGETIK EKSTRAK ETANOL HERBA SEMBUKAN (*Paederia foetida* L.) PADA MENCIT PUTIH JANTAN (*Mus musculus*) YANG DIINDUKSI DENGAN ASAM ASETAT', *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina (JIIS) Ilmu Farmasi dan Kesehatan*, 5(2), pp. 358–363. Available at: <https://doi.org/10.36387/jiis.v5i2.524>.
- Shaikh, J.R. and Patil, M. (2020) 'Qualitative tests for preliminary phytochemical screening: An overview', *International Journal of Chemical Studies*, 8(2), pp. 603–608. Available at: <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i2i.8834>.
- Shin, J. W., Kwon, S. H., Choi, J. Y., Na, J. I., Huh, C. H., Choi, H. R., & Park, K. C. (2019). Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(9). <https://doi.org/10.3390/ijms20092126>
- Siahaan, E.R., Pangkahila, W. and Wiraguna, A.A.G.P. (2017) 'Krim ekstrak kulit delima merah (*Punica granatum*) menghambat peningkatan jumlah melanin sama efektifnya dengan krim hidrokuinon pada kulit marmut (*Cavia porcellus*) betina yang dipapar sinar UVB', *JURNAL BIOMEDIK (JBM)*, 9(1), pp. 7–13. Available at: <https://doi.org/10.35790/jbm.9.1.2017.15313>.

- Sjerobabski-Masneć, I., & Situm, M. (2010). Skin aging. *Acta clinica Croatica*, 49(4), 515–518.
- Song, K. K., Chen, Q. X., Wang, Q., Qiu, L., & Huang, H. (2005). Inhibitory effects of 4-vinylbenzaldehyde and 4-vinylbenzoic acid on the activity of mushroom tyrosinase. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 20(3), 239–243. <https://doi.org/10.1080/14756360400026238>
- Sparavigna, A. (2020). Role of the extracellular matrix in skin aging and dedicated treatment - State of the art. *Plastic and Aesthetic Research*, 7(14), 1–6. <https://doi.org/10.20517/2347-9264.2019.73>
- Stahl, E. (2013). *Thin-Layer Chromatography: A Laboratory Handbook*, Springer.
- Stahl, E., (1985), *Analisis Obat Secara kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, 3-17, ITB, Bandung.
- Sulasmı, E.S., Wuriana, Z.F. and Sari, M.S. (2018) ‘Analisis Kualitatif Kandungan Senyawa Aktif (Flavonoid, Alkaloid, Polifenol, Saponin, Terpenoid dan Tanin) pada Ekstrak Metanol Daun dan Rhizoma *Phymatodes scolopendria* (Burm.) Ching di Taman Nasional Baluran’, in *Prosiding Seminar Nasional VI Hayati*, pp. 121–128.
- Taylor, S.C. (2005). Photoaging and Pigmentary Changes of the Skin. In: Burgess, C.M. (eds) *Cosmetic Dermatology*. Springer, Berlin, Heidelberg. [https://doi.org/10.1007/3-540-27333-6\\_3](https://doi.org/10.1007/3-540-27333-6_3)
- Thakur, R., Batheja, P., Kaushik, D., & Michniak, B. (2009). Structural and Biochemical Changes in Aging Skin and Their Impact on Skin Permeability Barrier. In *Skin Aging Handbook* (pp. 55-90). Elsevier Inc.. <https://doi.org/10.1016/B978-0-8155-1584-5.50008-9>
- Thring, T. S., Hili, P., & Naughton, D. P. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC complementary and alternative medicine*, 9, 27. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-27>
- Tomar, V., Tiwari, G. N., & Norton, B. (2017). Solar dryers for tropical food preservation: Thermophysics of crops, systems and components. *Solar Energy*, 154, 2–13. <https://doi.org/10.1016/j.solener.2017.05.066>

- Tri Puji Lestari Sudarwati dan M.A. Hanny Ferry Fernanda, (2019). Aplikasi Pemanfaatan Daun Pepaya (*carica papaya*) sebagai Biolarvasida terhadap Larva *Aedes Aegypti*.. Gresik: Graniti.
- Ulfa, S.M., Iftitah, E.D. and Rahman, M.F. (2022) ‘Training On Phytochemical Tests Of Secondary Metabolites Of Secang (*Caesalpinia sappan* L.) To The Indonesia Chemical Science Educator Association (Ppski)’, *Jornal of Innovation and Applied Technology*, 8(1), pp. 1371–1376.
- Vashi, N. A., de Castro Maymone, M. B., & Kundu, R. V. (2016). Aging Differences in Ethnic Skin. *The Journal of clinical and aesthetic dermatology*, 9(1), 31–38.
- Vera, K., Raif, A., & Ikhtiari, R. (2019). Antioxidant and Anti-elastase Activity of Seed and Peel Extract of *P.edulis*. *American Scientific Research Journal for Engineering, Technology, and Sciences*, 53(1), 43–48.
- Vierkötter, A., Schikowski, T., Ranft, U., Sugiri, D., Matsui, M., Krämer, U., & Krutmann, J. (2010). Airborne particle exposure and extrinsic skin aging. *Journal of Investigative Dermatology*, 130(12), 2719–2726. <https://doi.org/10.1038/jid.2010.204>
- Vifta, R.L. and Advistasari, Y.D. (2018) ‘Skrining Fitokimia, Karakterisasi, dan Penentuan Kadar Flavonoid Total Ekstrak dan Fraksi-Fraksi Buah Parijoto (*Medinilla speciosa* B.)’, in *Prosiding Seminar Nasional Unimus*. Semarang, pp. 8–14.
- Vijayalakshmi, M., & Ruckmani, K. (2016). Ferric reducing antioxidant power assay in plant extract. *Bangladesh Journal of Pharmacology*, 11(3), 570-572.
- Voight, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Edisi Ke-5*. Diterjemahkan oleh Dr. Soendani Noerono Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Voight, R., (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. 5 ed. Yogyakarta: Universitas Gaja Mada Press.
- Wagner, H dan Bladt. (1996). *Plant Drug Analysis, A Thin Layer Chromatography Atlas*, 2nd Ed. Berlin: Springer Verlag.
- Wahid, A.R. and Safwan (2020) ‘Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia*

- tirucalli L.)', *LUMBUNG FARMASI ; Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 1(1), pp. 24–27.
- Wilkerson, S. (2018). Reactive oxygen species (ROS): Mechanisms and role in health and disease. *Reactive Oxygen Species (ROS): Mechanisms and Role in Health and Disease*, October, 1-334.
- Willian, N. and Pardi, P. (2022) *Buku Ajar Pemisahan Kimia*.
- Xiao, F., Xu, T., Lu, B., & Liu, R. (2020). Guidelines for antioxidant assays for food components. *Food Frontiers*, 1(1), 60-69.
- Xie, C., Jin, J., Lv, X., Tao, J., Wang, R., & Miao, D. (2015). Anti-aging Effect of Transplanted Amniotic Membrane Mesenchymal Stem Cells in a Premature Aging Model of Bmi-1 Deficiency. *Scientific reports*, 5, 13975. <https://doi.org/10.1038/srep13975>
- Xie, M., Jiang, Z., Lin, X., & Wei, X. (2024). Application of plant extracts cosmetics in the field of anti-aging. *Journal of Dermatologic Science and Cosmetic Technology*, 1(2), 100014. <https://doi.org/10.1016/j.jdsct.2024.100014>
- Zahrudin, A., & Damayanti, D. (2018). Penuaan Kulit: Patofisiologi dan Manifestasi Klinis. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, 30(3), 208–215. <https://doi.org/10.20473/bikk.V30.3.2018.208-215>
- Zhao, P., Sui, B. D., Liu, N., Lv, Y. J., Zheng, C. X., Lu, Y. B., ... Jin, Y. (2017). Anti-aging pharmacology in cutaneous wound healing: effects of metformin, resveratrol, and rapamycin by local application. *Aging Cell*, 16(5), 1083–1093. <https://doi.org/10.1111/acer.12635>
- Zhong, W., Liu, N., Xie, Y., Zhao, Y., Song, X., & Zhong, W. (2013). Antioxidant and anti-aging activities of mycelial polysaccharides from *Lepista sordida*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 60, 355-359.
- Zhou, D. D., Luo, M., Huang, S. Y., Saimaiti, A., Shang, A., Gan, R. Y., & Li, H. Bin. (2021). Effects and Mechanisms of Resveratrol on Aging and Age-Related Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/9932218>
- Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F., & Saboury, A. A. (2019). A



comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1),279–309.  
<https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1545767>

# Biodata Penulis



**Desy Muliana Wenas.** Saat ini sedang menjalani Program Doktor Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia dengan topik disertasi yakni tentang Antiaging dari bahan alam. Sebelumnya mengikuti Pendidikan Program S1 Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan S2 Herbal Estetik Fakultas Farmasi di Universitas Indonesia. Ia adalah dosen tetap Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional.

Mengampu mata kuliah Botani Farmasi, Fitokimia, Mikrobiologi dan Parasitologi. Selama ini terlibat aktif sebagai dosen pembimbing mahasiswa dalam penelitian bidang dengan luaran publikasi jurnal Nasional Bereputasi dan jurnal Internasional berindeks Scopus.

Telah menulis 3 Buku referensi yakni Ilmu Gizi dan Diet, Farmakologi Sosial dan Pengelolaan Obat serta Bakteriologi.

E-mail: [desywenas@istn.ac.id](mailto:desywenas@istn.ac.id)



**Siti Khoiriyah.** Saat ini, Ia adalah dosen tetap Program Studi S1 Farmasi, Fakultas Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo. Sebelumnya penulis menyelesaikan Pendidikan Sarjana Farmasi di Program Studi S1 Farmasi di Universitas Ngudi Waluyo Ungaran, menyelesaikan Pendidikan Profesi Apoteker di STIFAR Yayasan Pharmasi Semarang dan menyelesaikan Program Magister (S2) Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi UGM dengan topik tesis

yakni tentang Upaya Peningkatan Kadar Vinkristin Kultur Suspensi Sel Daun *Catharanthus roseus* (L.) G. Don.

Mengampu mata kuliah Fitokimia, Manajemen Perapotekan, Mikrobiologi dan Virologi serta Biologi Sel dan Molekuler . Selama ini terlibat aktif sebagai anggota PC IAI Kabupaten Semarang dan sebagai Apoteker Pendamping (APING) di Apotek Ngudi Waluyo.

E-mail: [sitikhoiriyah95@mail.ugm.ac.id](mailto:sitikhoiriyah95@mail.ugm.ac.id), [sitikhoiriyah2595@gmail.com](mailto:sitikhoiriyah2595@gmail.com)



**Riri Fauziyya**, telah menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi di Universitas Jenderal Soedirman, S2 Farmasi dan program profesi apoteker di Universitas Ahmad Dahlan. Penulis adalah dosen pada Program Farmasi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sumatera dan mengampu mata kuliah Mikrobiologi Farmasi, Botani Farmasi, Farmakognosi, Kultur Jaringan Tanaman Obat, Fitokimia I, Fitokimia II, Fitoterapi, Analisis Obat Tradisional, Farmakognosi Bahari dan Produksi Standarisasi Bahan Alam. Penulis

menekuni bidang penelitian pengembangan obat bahan alam.

E-mail: [riri.fauziyya@fa.itera.ac.id](mailto:riri.fauziyya@fa.itera.ac.id), [rr.fauziyya@gmail.com](mailto:rr.fauziyya@gmail.com)



**Dwi Endah Kusumawati, M.Si.** di lahirkan di Bogor pada tanggal 5 Februari 1991. Ketertarikan penulis terhadap biokimia dan mikrobiologi dimulai pada tahun 2009 silam. Hal tersebut membuat penulis memilih untuk studi di Institut Pertanian Bogor dengan program studi S1 Biokimia dan lulus pada tahun 2013. Penulis kemudian melanjutkan magister di bidang yang sama yaitu Biokimia-IPB dan lulus tahun 2014. Saat ini penulis bekerja sebagai dosen tetap di Program Studi Sarjana Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung Semarang.

Penulis juga menjabat sebagai Kepala Unit Pengembangan Riset dan Pengabdian Masyarakat di Fakultas Farmasi UNISSULA. Penulis aktif dalam kegiatan ilmiah dan organisasi keprofesian yaitu PBBMI (Perhimpunan Biokimia

dan Biologi Molekuler Indonesia). Sehari – hari, penulis bekerja sebagai dosen pengampu mata kuliah Biologi Molekuler, Sel dan Biokimia; Mikrobiologi, Virologi dan Imunologi; Senyawa Bahan Alam; serta Bioteknologi dan Terapi Herbal. Selain itu penulis juga aktif dalam menulis jurnal ilmiah serta aktif menulis buku ajar dan book chapter.

Email Penulis : [dwiendahkusumawati@unissula.ac.id](mailto:dwiendahkusumawati@unissula.ac.id)



**apt. Abdul Wahid Suleman, S.Farm., M.Farm.**

Lulus S1 Farmasi Fakultas Farmasi di Universitas Indonesia Timur Makassar tahun 2013, lulus Profesi Apoteker di Universitas Hasanuddin Makassar tahun 2014, dan lulus S2 di Universitas Ahmad Dahlan di Yogyakarta tahun 2019 konsentrasi Farmasi klinik. Saat ini adalah aktif menjadi dosen tetap di Program Studi S1 Farmasi dan Profesi Apoteker di Universitas Megarezky Makassar. Mengampu matakuliah Farmakokinetika, Farmakologi, Analisis Farmasi. Selain mengampu mata kuliah saat ini juga aktif menjadi pembimbing praktik kerja Apoteker dan Apoteker Penanggungjawab Apotek di Gowa. Selama ini juga aktif dalam publikasi ilmiah, menulis di Media Elektronik di Makassar dan menulis buku tentang PKPA Apotek.

E-mail: [wahid26061991@unimerz.ac.id](mailto:wahid26061991@unimerz.ac.id)



**Chandra Pranata** Lahir di Kota Lama, 12 Agustus 1997. Ia tercatat sebagai lulusan Universitas Sumatera (USU), Medan. Pria yang kerap disapa Cha ini adalah anak dari pasangan Syamsudin (ayah) dan Jariah (ibu). Chandra merupakan dosen tetap pada program studi sarjana farmasi INKes Medistra Lubuk Pakam. Riwayat pendidikan terakhir adalah S2 Farmasi USU dan saat ini sedang lanjut program Doktor ilmu farmasi USU.

E-mail: [ccandraprnt@gmail.com](mailto:ccandraprnt@gmail.com)



**Winda Susmayanti.** Lahir di Demak pada tanggal 13 Juli 1989. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sarjana Kimia di Universitas Diponegoro (UNDIP) pada tahun 2012 dan Magister Ilmu Kimia di Universitas Gadjah Mada (UGM) pada tahun 2014. Saat ini berprofesi sebagai Dosen di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung (Semarang). Penulis menekuni bidang Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal dengan mengampu mata kuliah Kimia Farmasi, Kimia Analisis, Analisis Farmasi, dan Biokimia.

Penulis juga aktif pada kegiatan penelitian dengan scope Analisis Farmasi, Kimia Sintesis dan Analisisnya, Nanopartikel dan Karakterisasinya. Penulis juga telah menerbitkan artikel penelitian di berbagai jurnal ilmiah sesuai dengan bidang keilmuan yang ditekuni.

Email : [susma.windi@gmail.com](mailto:susma.windi@gmail.com)



**Rissa Laila Vifta.** Lahir di Grobogan pada Tanggal 27 Juli 1990. Penulis menyelesaikan Pendidikan Sarjana Kimia di Universitas Negeri Semarang (UNNES) pada tahun 2012 dan Magister Ilmu Kimia di Universitas Gadjah Mada (UGM) pada tahun 2014. Saat ini berprofesi sebagai Dosen di Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Islam Sultan Agung (Semarang). Penulis menekuni bidang Analisis Farmasi dan Kimia Medisinal dengan mengampu mata kuliah Kimia Farmasi, Kimia

Analisis, Analisis Farmasi, dan Biokimia.

Penulis juga aktif pada kegiatan penelitian dengan scope Analisis Farmasi, Kimia Bahan Alam dan Analisisnya, Nanopartikel dan Karakterisasinya. Penulis juga telah menerbitkan artikel penelitian di berbagai jurnal ilmiah sesuai dengan bidang keilmuan yang ditekuni.

Email : [rissalailavifta@unissula.ac.id](mailto:rissalailavifta@unissula.ac.id)



**apt. Winni Nur Auli, M. S. Farm.** lahir di Cirebon, 17 Mei 1995, anak ke 1 dari 3 bersaudara. Ibu dari satu anak ini saat ini merupakan dosen farmasi ITERA di bidang kimia farmasi. Penulis lulus dari studi di SDN Menes 01, MTs. Mathla'ul Anwar Pusat Menes, MAN Insan Cendekia Gorontalo, dan Institut Teknologi Bandung untuk jenjang S1, apt, dan S2. Saat ini penulis mengajar beberapa mata kuliah seperti Kimia Analisis Farmasi, Kimia Organik Obat, Biokimia Medik, Analisis Farmasi Instrumental, Kimia Medisinal, Penjaminan Halal Produk Farmasi

dan Analisis Toksikologi Forensik. Penulis aktif melakukan penelitian di bidang penemuan (isolasi/sintesis) senyawa aktif baru dari bahan alam dan mendapatkan hibah penelitian internal maupun nasional seperti BRIN dan Kemendikbudristek. Penulis aktif mempublikasikan penelitian di berbagai jurnal baik nasional maupun internasional. Buku yang sudah ditulis adalah buku ajar Kimia Organik Obat.

Email: [winni.auli@fa.itera.ac.id](mailto:winni.auli@fa.itera.ac.id)



**Anjar Hermadi Saputro.** Lulus S1 di Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada pada tahun 2011. Lulus program pendidikan profesi Apoteker pada tahun 2012 di Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Studi S2 ditempuh di Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada dan lulus pada tahun 2018. Studi S3 ditempuh di Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung dan lulus pada tahun 2024.

Sebagai dosen tetap di Program Studi Farmasi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sumatera, Ia mengampu mata kuliah Analisis Toksikologi dan Forensik, Kimia Organik Obat, Kimia Medisinal serta beberapa mata kuliah lain yang berhubungan dengan kimia farmasi. Selama ini terlibat aktif sebagai dosen di Kelompok Keilmuan Farmasi Sains, Program Studi Farmasi, Fakultas Sains, Institut Teknologi Sumatera.

Selama ini terlibat aktif sebagai kepala Laboratorium Program Studi Farmasi Fakultas Sains, Institut Teknologi Sumatera.

Bidang penelitian yang ditekuni yaitu terkait kimia medisinal dan analisis dibidang farmasi. Beberapa penelitiannya telah dipublikasikan di beberapa jurnal ilmiah baik jurnal nasional maupun jurnal internasional bereputasi.

E-mail: [anjar.saputro@fa.itera.ac.id](mailto:anjar.saputro@fa.itera.ac.id)

# SENYAWA FITOKIMIA

## UJI ANTIAGING KULIT SECARA IN VITRO

Penuaan kulit berpengaruh pada fungsi perlindungan kulit, terganggunya luka yang masih dalam proses recovery, perubahan pigmen, atau bahkan dapat mengakibatkan terjadinya kanker kulit. Proses penuaan tidak dapat dipungkiri. Seiring dengan waktu, setiap manusia akan mengalami penuaan. Metode untuk menghambat proses penuaan sudah banyak dikembangkan. Senyawa kimia yang berasal dari bahan alam atau disebut senyawa fitokimia, sangatlah berpotensi dalam pengembangan penelitian antiaging kulit. Pengujian in vitro melibatkan pengujian enzimatik atau melibatkan reaksi kimia yang tidak memerlukan sumber uji dengan kuantitas yang banyak dan bersifat efisien dan efektif. Oleh karena itu pentingnya penelitian antiaging kulit yang diawali dengan pengujian in vitro.

Buku ini membahas:

Bab 1 Pendahuluan: Senyawa Fitokimia terkait Antiaging Kulit

Bab 2 Persiapan Simplisia dan Metode Pengeringan

Bab 3 Metode Ekstraksi

Bab 4 Skrining Fitokimia secara Kualitatif

Bab 5 Penentuan Senyawa Fitokimia Secara Kuantitatif

Bab 6 Fraksinasi dan Isolasi

Bab 7 Metode Kromatografi

Bab 8 Uji Metode Antioksidan secara DPPH, FRAP, ABTS

Bab 9 Pengujian Penghambatan Enzim Tirosinase Secara In Vitro

Bab 10 Uji Anti-Elastase secara in Vitro



YAYASAN KITA MENULIS

press@kitamenulis.id

www.kitamenulis.id

ISBN 978-623-113-320-5







**Y A Y A S A N P E R G U R U A N C I K I N I  
I N S T I T U T S A I N S D A N T E K N O L O G I N A S I O N A L**

Jl. Moh. Kahfi II, Bhumi Srengseng Indah, Jagakarsa, Jakarta Selatan 12640 Telp. (021) 727 0090, 787 4645,  
787 4647 Fax. (021) 786 6955, <http://WWW.istn.ac.id> E-mail: rektorat@istn.ac.id

**SURAT PENUGASAN TENAGA PENDIDIK**  
Nomor : 311 /03.1-H/IX/2024  
SEMESTER GANJIL TAHUN AKADEMIK 2024/2025

**N a m a** : Desy Muliana Wenas, S.Si.,M.Si **Status** : Tetap.  
**Nik** : 01.161375 **Program Sarjana Prodi Farmasi**  
**Jabatan Akademik** : AA

Untuk melaksanakan tugas sebagai berikut:

Bidang	Perincian Kegiatan	Tempat	Jam/ Minggu	Kredit (SKS)	Keterangan
I PENDIDIKAN DAN PENGAJARAN	MENGAJAR DI KELAS (KULIAH/RESPONSI DAN LABORATORIUM)				
	Botani Farmasi (A)	Ruang HC-4		1	Selasa, 08:00-13:00
	Botani Farmasi (B)	Ruang HC-5		1	Senin, 08:00-13:40
	Farmakognosi dan Fitokimia (B)	Ruang HA		1,3	Selasa, 08:00-14:00
	Farmakognosi dan Fitokimia (C)	Ruang HC-4		1,3	Jumat, 08:00-16:00
	Bimbingan Skripsi			3 Jam/Minggu	1
	Menguji Tugas Akhir			3 Jam/Minggu	1
II PENELITIAN	Penulisan Karya Ilmiah		6 Jam/Minggu	2	
III PENGABDIAN DAN MASYARAKAT	Pelathan dan Penyuluhan		6 Jam/Minggu	2	
IV UNSUR UNSUR PENUNJANG	Penasehat Akademik		3 Jam/Minggu	1	
	Pertemuan Ilmiah		3 Jam/Minggu	1	
	Jumlah Total			12,6	

Kepada yang bersangkutan akan diberikan gaji/honorarium sesuai dengan peraturan penggajian yang berlaku di Institut Sains Dan Teknologi Nasional  
Penugasan ini berlaku dari tanggal 02 September 2024 sampai dengan tanggal 28 Februari 2025

**Tembusan :**

1. Wakil Rektor Bidang Akademik - ISTN
2. Wakil Rektor Bidang Sumber Daya - ISTN
3. Ka. Biro Sumber Daya Manusia - ISTN
4. Kepala Program Studi Farmasi Fak. Farmasi
5. Arsip





**Full Length Article**

# Evaluation of Phytochemical and Biological Studies of Ultrasound-Assisted Extraction of *Eugenia uniflora* Seed Extract for Antioxidant and Anti-Tyrosinase Activity

Desy Muliana Wenas<sup>1,2</sup>, Berna Elya<sup>1\*</sup>, Sutriyo<sup>3</sup> and Heri Setiawan<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Pharmacognosy and Phytochemistry Department, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

<sup>2</sup>Department of Biology Pharmacy, Faculty of Pharmacy, National Science and Technology Institute, South Jakarta, Indonesia

<sup>3</sup>Pharmaceutical Department, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

<sup>4</sup>Pharmacology Department, Faculty of Pharmacy, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia

\*For correspondence: berna.elya@farmasi.ui.ac.id

Received 05 August 2024; Accepted 01 October 2024; Published online 08 December 2024

Editor: Abdul Wahid

## Abstract

Suriname cherry (*Eugenia uniflora* L.) is believed to have anti-aging properties due to its main constituents, myristicin and quercetin. This study examines the anti-tyrosinase and antioxidant properties of the seed of unripe fruit extract of Suriname Cherry. The extraction process used an ultrasound-assisted extraction (UAE) method with 70% ethanol. Total phenolic and flavonoid contents were measured. Antioxidants including 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), ferric reducing antioxidant power (FRAP), 2, 2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS) and anti-tyrosinase activities were evaluated for the bioactivities. The antioxidant activities of *E. uniflora* seed extract had substantial IC<sub>50</sub> values for DPPH 5.75 µg/mL, then FRAP values were 5197.7 µM/g. In conclusion, the Suriname Cherry seed extract has anti-tyrosinase and antioxidant properties. Furthermore, the ethanolic seed extract had anti-tyrosinase and antioxidant characteristics, suggested that the Suriname cherry plant could be a promising anti-aging agent.

**Keywords:** Antityrosinase; Antioxidant; *Eugenia uniflora*; Seed; Ultrasound-assisted extraction

## Introduction

Hyperpigmentation, as one of the features of skin aging, can occur earlier with external factors like air pollution and ultraviolet exposure from sunlight. The main enzyme that responsible for hyperpigmentation is tyrosinase, which involves in melanogenesis in melanin skin pigment synthesis. One of the antiaging mechanisms is to use a tyrosinase inhibitor. Tyrosinase inhibitor is a substance that can reduce the tyrosinase enzymatic activity in melanin synthesis. Therefore, tyrosinase inhibitors are important in depigmentation substances for cosmetics development (Zolghadri *et al.* 2019). Tyrosinase has two important roles in catalyzing the melanin biosynthesis process. The processes are L-tyrosine, o-hydroxylation and L-DOPA oxidation. Then, L-tyrosine converts into dopaquinone. This step in melanogenesis is significantly rate-limiting (Fan *et al.* 2021). Limited commercial market substances that are qualified for clinical inhibitors and skin-lightening.

With increasing demand for tyrosinase inhibitors in industry, it is important to find effective tyrosinase inhibitors.

Inhibiting tyrosinase contributes to the reduction of skin hyperpigmentation. The most widely used tyrosinase inhibitors, such as hydroquinone and kojic acid, have major adverse effects including erythema and dermatitis. Tyrosinase inhibitors have drawn significant interest in the cosmeceutical industries for their potential to prevent skin aging and hyperpigmentation disorder (Şöhretoğlu *et al.* 2018). Therefore, the hazards of tyrosinase inhibitors have resulted in severe restrictions on the use of such products in many countries, increasing the pursuit of them from natural sources with minimal side effects and maximum efficacy (Meriç *et al.* 2024). One of the natural sources is Myrtaceae plants.

Myrtaceae family plants are aromatic dicotyledonous plants consisting of shrubs and tree species (Farias *et al.* 2020). The biological diversity of Myrtaceae plants has unique characteristics due to the countless adaptive mechanisms to environmental nuances in tropical, and also subtropical areas. One of the species of Myrtaceae is Suriname cherry (*Eugenia uniflora* L.). The miniature pumpkin-shaped fruit is edible, tastes sweet and sour, and has a hint of aroma of

**To cite this paper:** Wenas DM, B Elya, Sutriyo, H Setiawan (2025). Evaluation of phytochemical and biological studies of ultrasound-assisted extraction of *Eugenia uniflora* seed extract for antioxidant and anti-tyrosinase activity. *Intl J Agric Biol* 33:330203. <https://doi.org/10.17957/IJAB/15.2263>

© 2024 The Authors. International Journal of Agriculture and Biology published by Friends Science Publishers, Faisalabad, Pakistan

This is an open access article under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits non-commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited

red chili pepper. The plants have ethnopharmacology properties that are used to treat various illnesses like stomach, hypertension, inflammation, diabetes, rheumatism, and wound infection (Souza *et al.* 2012). The leaf is known in pharmacology as antidiabetic, antihypertension, antimicrobial and antiinflammation (Bezerra *et al.* 2019). Suriname cherry has been used for cosmetics in Brazil, especially essential oils. Suriname cherry was explored first for industrial cosmetic purposes of its essential oil. The aroma of essential oil has an exotic, citric, fresh, and green note in perfume production (Gallucci *et al.* 2010).

However, seed is known for greater potential bioactivities that have not been explored. It has been investigated that the antioxidant of *E. uniflora* seed is greater than its fruit extract (Celli *et al.* 2011). It is also been proven that seed has greater antioxidants than the fruit of other species in the Myrtaceae family (Girardelo *et al.* 2020). The ethanolic extract of *E. uniflora* seed has a great potential for antioxidants due to its high phenolic concentration (Santos *et al.* 2015). High phenolic compounds on Suriname Cherry's seed may have the tyrosinase inhibitors properties that allow it to have potential for skin whitening agents and help treat hyperpigmentation skin conditions (Wenas *et al.* 2024). The chemical structure of phenolic substances of extract enable it to attach to the tyrosinase active site (Şöhretoğlu *et al.* 2018). Therefore, it is required to investigate Suriname cherry seeds' ability to suppress tyrosinase enzyme. The objective of this study is to explore the quantitative phytochemical analysis, bioactivities for free radical inhibition, and antiaging assay activity of seed extract especially its capacity to inhibit tyrosinase, thereby contributing to skin aging and hyperpigmentation.

## Materials and Methods

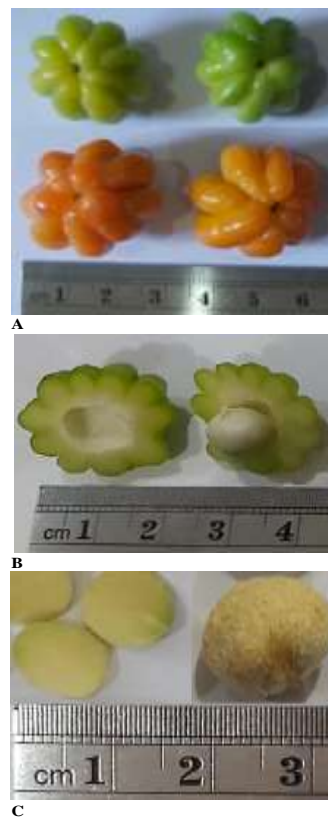
### Sample preparation and ultrasound-assisted extraction (UAE)

The unripe fruits of Suriname cherry at the age of 3-4 weeks after the flowering stage, were gathered from Depok City in Indonesia. The seeds were collected by cutting the fruit in cross-sections and removing the seeds from unripe fruits in the range color of green to yellow (Fig. 1). The seeds were left to dry naturally for seven days in the air.

A 10 g of seed powder was added to 100 mL of 70% ethanol. Seed powder was extracted with UAE method in a Q2000 Sonicator with direct probe type immersed in 70% ethanol solvent medium at room temperature, frequency of 20 kHz, and extraction time of 15 min. The crude extract was filtered and evaporated with a rotary evaporator to obtain seed extract as residue. Seed extract yield was calculated by comparing the extract weight with the initial seed powder weight.

### Phytochemical screening

Phytochemical screening in the seed extract was performed



**Fig 1:** Unripe fruits (A), cross-section of fruit (B) and seeds from unripe fruit (C) of Suriname cherry

following the protocol of Wenas *et al.* (2020). The secondary metabolites were identified from change in reaction color and precipitating for terpenoids, flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins.

**TPC assay:** The total phenolic content of the seed extract was determined using a reagent of Folin-ciocalteu. A mixture of 1 mL extract and 5 mL 7.5% Folin-ciocalteu diluted solution was prepared, shaken for 1 min, and left to stand still for 8 min. Then added 4 mL solution of 1% NaOH, then the mixture was incubated at 25°C for 1 h in the dark. A wavelength of 730 nm was used to measure the absorbance value (Jehan *et al.* 2023). Gallic acid as a control was used to prepared calibration curve from a series of gallic acid concentrations. The amount of phenolic of each extract was determined in triplicate by comparing with the calibration curve. The total phenol content of the extract was quantified as mg gallic acid equivalent per gram of the extract (mg GAE/g).

**TFC assay:** A reaction was conducted with a volume of 500 µL of seed extract solution in combination with 100 µL AlCl<sub>3</sub> (10%), 100 µL sodium carbonate (1 M), and 1.5 mL ethanol P. The yellow color in the mixture indicated the possible presence of flavonoids. After being vortexed, the mixtures were placed in an incubator in the darkness at ambient temperature for 30 min. The absorption was taken using a UV-Vis spectroscopy (T80+) at 437 nm. All

measurements were made in triplicate. A standard curve was generated using a series (5–100 mg/L) of quercetin standards. The total flavonoid content was determined by using the standard curve equation, and the resulting values were expressed in milligrams of QE per gram extract (Sulistiyowati *et al.* 2023).

**DPPH antioxidant assay:** Seed extract series concentration solutions were prepared in 2.4, 3.6, 4.8, 6 and 7.2 ppm. The seed extract series concentration solutions as much as 12, 18, 24, 30 and 36  $\mu\text{L}$ , respectively was added to 1 mL methanolic DPPH (0.4 mM), and the methanol solvent (3988, 3982, 3976, 3970 and 3964  $\mu\text{L}$ ) was added to the mixture to make a total amount of 5 mL. After that, the solution was left out in dark at 25°C for 30 min and incubated. Spectrophotometer was used to detect the absorbance at 517 nm. The test was performed three times. The determination of the extract antioxidant bioactivity gave the  $\text{IC}_{50}$  (it is the amount of the sample that can prevent 50% DPPH radical activity). The percent inhibition was obtained based on DPPH radical scavenging, with the following formula (Rizki *et al.* 2022):

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(\text{control absorbance} - \text{extract absorbance})}{\text{control absorbance}} \times 100\%$$

Where  $y = a + bx$  equation is determined by making a curve of linear regression with  $x$  representing the extract concentration in  $\text{g/mL}$  unit, while  $y$  representing the inhibition percent (%). The following formula is used to calculate  $\text{IC}_{50}$  value.

$$\text{IC}_{50} = \frac{(50 - a)}{b}$$

The experiment was held out 3 times. The  $\text{IC}_{50}$  of DPPH is calculated for mean and standard deviation.

**ABTS antioxidant assay:** The method of ABTS antioxidant assay in this research is modified using free radical ABTS substance. ABTS stock solution is prepared and twelve hours incubated without light. A diluted ABTS solution is prepared by making the ratio of 1:10 ABTS stock solution with 96% ethanol. Seed extract stock solution and positive control were prepared respectively into several series of concentration solutions. One mL ABTS (1:10), then adding ethanol up to 5 mL volume. The samples were kept for 30 min at 25°C without light. The sample's absorbance was then measured at 753 nm using a uv-vis spectrophotometer (Wiliantari *et al.* 2022). The experiment was held out 3 times. The  $\text{IC}_{50}$  of ABTS is calculated for mean and standard deviation.

**FRAP assay:**  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  solution of 1 mM was used to make as a standard series solution in 10, 75, 100, 125 and 150  $\mu\text{M}$  to obtain the calibration curve. FRAP I solution is made with adding acetate buffer, TPTZ or 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine 10 mM and aquades in ratio of 10: 1: 1. The solution was made of 2 mL FRAP I solution, (50, 75, 100, 125 and 150  $\mu\text{L}$ )  $\text{FeSO}_4$ , added aquades until volume reach 5 mL. The same procedure was carried out for the

standard (quercetin). FRAP II solution is made with adding acetate buffer, TPTZ and  $\text{FeCl}_3$  in ratio of 10: 1: 1. Quercetin was prepared in seri concentration as 2, 4, 6, 8, 10 and 12  $\mu\text{M}$ . The solution was made of 2 mL FRAP II reagent, (3, 6, 8, 12, 15 and 18  $\mu\text{L}$ ) quercetin, added aquades until volume reach 5 mL. The seed extract solution is made in 5 ppm. The mixture solution was placed in the closed dark compartment for 30 min. UV-Vis spectrophotometer was used to measure the absorbance of the sample at 596 nm. The percentage  $\text{Fe}^{3+}$  to  $\text{Fe}^{2+}$  reduction by the sample in the presence of  $\text{FeSO}_4$  in  $\mu\text{M/g}$  of dried extract is taken as the FRAP value, which was calculated using the equation (de Barros *et al.* 2024):

$$\text{SC} = \frac{\Delta A - a}{b}$$

$$\text{FRAP value } (\mu\text{M/g}) = \frac{\text{SC} \times V \times \text{DF}}{w}$$

Where SC is the sample concentration ( $\mu\text{M}$ ), V is the sample volume (mL), DF is dilution factor and w is sample weight (mg). The experiment is held out for 3 times. The FRAP value is calculated for its mean and standard deviation.

**Anti-tyrosinase assay:** Using color-changing observation, the UAE extract of *E. uniflora* were evaluated for their antiaging properties. The ability to inhibit tyrosinase of *E. uniflora* seed extract was determined colorimetrically. Phosphate buffered solution 50 mM was prepared by add 19.8 mg  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  into 50 mL aquades, then adjust the acidity level to 6.5 and add aquades until volume 100 mL aquades. A 96-well microplate (Iwaki Pyrex) consisting of 80  $\mu\text{L}$  of phosphate buffered saline, 40  $\mu\text{L}$  of extract solution (1–500  $\mu\text{g/mL}$ ), 40  $\mu\text{L}$  of L-DOPA solution in 4 mM concentration, and 40  $\mu\text{L}$  of mushroom tyrosinase solution (75 U/mL). The microplate was kept in a microplate reader, shaken for 1 min, and incubated at 25°C for 30 min. The absorption was measured at 490 nm using a microplate reader (GloMax<sup>®</sup> Discover). Quercetin was used as positive control. Following formula was used to present the ability to inhibit tyrosinase activity of each concentration and expressed as inhibition percentage (Desmiaty *et al.* 2020):

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{A_0 - A_1}{A_0} \times 100 \%$$

Where  $A_0$  is blank absorbance is deducted by the blank control absorbance and  $A_1$  is sample absorbance deducted by sample control absorbance. The inhibition percentage from the concentration series of sample solutions and positive controls were used to produce a linear regression curve of anti-tyrosinase enzyme activity. The sample concentration is represented by  $x$  and the inhibition percentage is represented by  $y$  axis to get equation of  $y = a + bx$ . The formula of the  $\text{IC}_{50}$  value calculation is presented below.

$$\text{IC}_{50} = \frac{50 - a}{b}$$

The tyrosinase inhibitory activity of the extract was quantified as the  $\text{IC}_{50}$  value. The experiment is held for 3

times. The value of  $IC_{50}$  is calculated for the average and standard deviation.

### Statistical analysis

The total phenol, total flavonoid, inhibition percentage of DPPH, ABTS, and antityrosinase assay and FRAP value are expressed as mean $\pm$ SD in triplicates. Linear regression was performed using Microsoft Excel's Statistical software edition 2018.

## Results

### TPC and TFC assay

Determination of TPC of seed extract using gallic acid calibration curve from the equation  $y=0.0706x-0.0145$  with squared R-value as 0.9971. TPC of seed extract was  $11.618 \pm 2.457$  mg GAE/g extract. TFC results were measured using the quercetin standard with the equation  $y = 0.0823x - 0.0402$  ( $R^2 = 0.9997$ ). The TFC of seed extract was obtained at  $2.735 \pm 0.05$  mg QE/g extract (Table 1).

### Antioxidant activities

The relationship between inhibition percentage and concentration of extract is presented in linear regression equations. The equation of seed extract is  $y = 7.4736x+7.6436$  ( $R^2 = 0.99$ ) and quercetin is  $y = 12.197x-8.0387$  ( $R^2 = 0.9953$ ) (Fig. 2). The DPPH radical scavenging ability of Suriname cherry ethanolic seed extract for  $IC_{50}$  value was  $5.75 \mu\text{g/mL}$  (Table 2). The seed extract had a strong DPPH radical scavenging ability, even though it was lower than the positive control (quercetin) which was  $4.75 \mu\text{g/mL}$  (Table 2). The seed extract of DPPH antioxidant activity was considered as strong, even though it was lower than the standard.

The FRAP value of seed extract was  $5197.7 \mu\text{M/g}$ , which was significantly higher than quercetin ( $1177.99 \mu\text{M/g}$ ). Greater amount of FRAP presents more ability to scavenge radicals. ABTS antioxidant assay showed that the *E. uniflora* seed extract has an  $IC_{50}$  value of  $3.381 \mu\text{g/mL}$  (Table 2). For ABTS, linear regression equations of Quercetin obtained was  $y = 24.73x + 0.665$  with  $R^2 = 0.994$ . The  $IC_{50}$  value of this assay of the *E. uniflora* seed extract is  $3.381$  (Table 2), while Quercetin is  $1.995 \mu\text{g/mL}$  (Table 2).

### Anti-tyrosinase activity

Suriname cherry seed extract had tyrosinase inhibition ability in  $IC_{50}$  value of  $111.01 \mu\text{g/mL}$ . Quercetin showed a higher tyrosinase inhibition activity with an  $IC_{50}$  value of  $5.30 \mu\text{g/mL}$  (Table 2).

## Discussion

The UAE of Surinam cherry seed yields 32.4 %. Similar to

previous studies in other species in the *Eugenia* genus, that ultrasound-assisted extraction gave higher yield (40 %) of the seed extract as compared to conventional extraction method (Albuquerque *et al.* 2024). Ultrasonic wave frequency provides the acoustic cavitation that disrupts the seed's cell wall and allows the ethanol solvent to dissolve the secondary metabolite compound (Shen *et al.* 2023).

The results of TPC and TFC indicated that Suriname cherry seed extract contained relatively high polyphenol and flavonoid components, which can have a significant role as a tyrosinase inhibitor. The activity of DPPH free radical scavenging of *E. uniflora* seeds extract in  $IC_{50}$  was  $5.75 \mu\text{g/mL}$  compared to  $IC_{50}$  as  $4.75 \mu\text{g/mL}$  of Quercetin. The antioxidant activity further confirms its in vitro antioxidant activity, which might be useful for preventing aging. Suriname cherry seed extract was able to donate  $H^+$  that reacted with DPPH radical substance. The reduction in DPPH to hydrazine leads to a reduction in the absorbance of the reaction as measured at 517 nm spectrophotometer (Baliyan *et al.* 2022). This result aligns with the antioxidant from previous research, *E. involucrata* seed extract in DPPH antioxidant as  $IC_{50}$  as  $33.6 \mu\text{g/mL}$  (Girardelo *et al.* 2020). The suriname cherry seed extract has higher DPPH antioxidants than *E. involucrata* seed extract. The DPPH method measures the scavenging ability of antioxidants by using DPPH.

In the ABTS method, the 2,2-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid is used to generate a radical solution. When a sample containing antioxidants is added to a solution containing ABTS radical cation, the absorption decreases as the ABTS radical cation is terminated. The ABTS antioxidant of Suriname cherry seed extract is  $3.38 \mu\text{g/mL}$ , while Quercetin is  $1.97 \mu\text{g/mL}$ . Spectrophotometric measurement of the production of  $ABTS^{4+}$  is inhibited by the presence of an antioxidant of seed extract. The potential of the antioxidant of seed extract increases with decreasing test solution absorption at 734 nm. The seed extract was able to donate hydrogen or electrons in order to scavenge the ABTS radical cation, as opposed to trolox (Kumar *et al.* 2018). The ABTS of Suriname cherry seed extract is considered as high antioxidant category, but still lower than the quercetin as positive control. ABTS is used for estimating the total antioxidant capacity of extracts, especially flavonoid and polyphenol compounds (Dong *et al.* 2015; Dorsey and Jones 2017).

The antioxidant potency of Suriname cherry seed extract in FRAP assay is determined by its capacity to transfer electrons to the FRAP reagent. The salt of ferric tripyridyl triazine will follow the reduction chemical reaction and change into a form of ferrous ion at acidic buffer solution. This confirms the existence of the antioxidant ability of the extract (Amalia *et al.* 2023). The result of FRAP value of seed extract is  $5197.7 \mu\text{M FeSO}_4/\text{g}$  which is higher than the quercetin ( $1177.9 \mu\text{M FeSO}_4/\text{g}$ ). This means the *E. uniflora* seed extract is able to catalyze the transformation of the  $Fe^{2+}$  or ferrous form into the

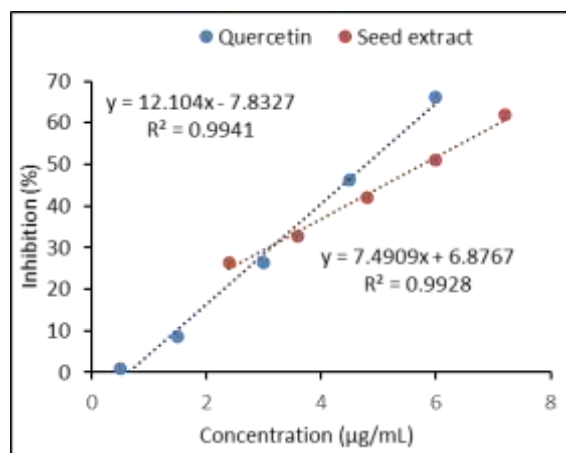
**Table 1:** Determination of TPC and TFC of seed extract of Suriname cherry

Phytochemistry Quantitative	Replication			% w/w Average $\pm$ SD
	1	2	3	
Total phenolic (mg GAE/g extract)	9.694	14.386	10.774	11.618 $\pm$ 2.46
Total flavonoid (mg QE/g extract)	2.770	2.684	2.751	2.735 $\pm$ 0.05

**Table 2:** Antioxidant and anti-tyrosinase of seed extract of Suriname cherry

Sample	DPPH (IC <sub>50</sub> )	ABTS (IC <sub>50</sub> )	FRAP (Mean $\pm$ SD)*	Anti-tyrosinase IC <sub>50</sub>
Extract	5.75 $\pm$ 0.58	3.38 $\pm$ 0.04	5197.70 $\pm$ 12.76	595.74 $\pm$ 1.02
<sup>†</sup> Control	4.75 $\pm$ 0.03	1.97 $\pm$ 0.02	1177.99 $\pm$ 39.11	27.54 $\pm$ 1.09

\*Mean and Standard Deviation  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>/g extract; <sup>†</sup>quercetin equivalent; <sup>‡</sup>kojic acid

**Fig. 2:** The DPPH antioxidant activity of Suriname cherry seed extract and quercetin as control

Fe<sup>3+</sup>/ferric cyanide complex better than the positive control. The FRAP value of this suriname cherry seed extract (5197  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>/g) is higher compared to FRAP value of Suriname cherry leaf extract (2493  $\mu$ M FeSO<sub>4</sub>/g extract) (Kurniawati *et al.* 2017). This result shows that suriname cherry seed has greater FRAP antioxidant activity.

The UAE using the polar solvent can improve extraction. It was proven that the DPPH, ABTS and FRAP antioxidant assay of Surinam cherry seed extract is higher than the other part of the plant. This also supported by the previous experiment from other species of *Eugenia* genus, that seed extract of the *E. involucrata* had higher antioxidant activities in DPPH and ABTS methods in comparison to the fruit extract (pericarps and pulps) (Nicácio *et al.* 2017). The antioxidant activity of Surinam cherry seed extract in this study is possibly associated with the high phenolic and flavonoid compounds present in the seed. The phytochemical compounds in *E. uniflora* seed extract are dominated with phenolic and flavonoids according to the high TPC and TFC. The antioxidant activities of seed extract may also correlated to the secondary metabolite compounds (Girardelo *et al.* 2020).

The Suriname cherry seed extract is considered as low category of tyrosinase inhibiting ability, because it was higher than 500  $\mu$ g/mL, while quercetin has IC<sub>50</sub> of 5.3  $\mu$ g/mL,

which considered as very strong category of anti-tyrosinase. The ability to inhibit tyrosinase of *E. uniflora* seed extract might be due to the phenolic compounds and flavonoids that could inhibit the action of the tyrosinase enzyme. The quantity of phenolic hydroxyl on 1, 2-diphenylethane derivatives can significantly reduce tyrosinase activity. Tyrosinase activity inhibition is markedly increased by adding two phenol hydroxyls as opposed to one hydroxyl and by replacing methoxyl with phenol hydroxyl (Pillaiyar *et al.* 2017). The mechanism by which phenol hydroxyl compounds block tyrosinase was examined. Tyrosine and dopamine's hydroxyls are the only sources of H<sup>+</sup> and epoxy double oxygen bond because tyrosinase's action center is hydrophobic (Zolghadri *et al.* 2019). Similar to tyrosine and dopamine, phenol hydroxyl compounds can suppress tyrosinase activity (Zuo *et al.* 2018). It is possible that polar active substances with antioxidant and antityrosinase activity, such as flavonoids, terpenoids, and phenolics such as gallic acid, ellagic acid, and myricitrin are present in the seed extract of Surinam cherry (Almeida *et al.* 2023). Therefore, the *E. uniflora* seed extract may need to be explored for other pharmaceutical purposes, such as elastase inhibition, antiacne or antiinflammation activity.

## Conclusion

Total phenolic content was significantly associated to the antioxidant capacity as measured by the DPPH, FRAP, ABTS assays of the ethanolic seed extract from unripe fruit of Suriname cherry. Seeds of Suriname cherry fruit extract had potent antioxidant and anti-tyrosinase properties. Thus, Suriname cherry seeds can be developed as an anti-aging pharmaceutical product.

## Acknowledgments

This research is funded by the Ministry of Education and Culture Republic of Indonesia for Dissertation Completion Scholarship (BPI No. 202307120136).

## Author Contributions

BE conceived and designed the experiments, contributed

materials and analysis instruments; DMW performed the experiment and analyzed the data; BE, S, HS and DMW wrote the draft and the corrections of the manuscript.

## Conflicts of Interest

The authors do not have any conflicts of interest.

## Data Availability

Data contained in this work will be made available upon a reasonable request to the corresponding author.

## Ethics Approval

Outside the scope of this paper.

## Funding Source

Funding Source: Dissertation Completion Scholarship (BPI No. 202307120136) from Ministry of Education and Culture Republic of Indonesia

## References

- Albuquerque BR, J Pinela, C Pereira, F Mandim, S Heleno, MBPP Oliveira, L Barros (2024). Recovery of anthocyanins from *Eugenia* spp. fruit peels: A comparison between heat- and ultrasound-assisted extraction. *Sustain Food Technol* 2:189–201
- Almeida LF, ECF Santos, JCB Machado, AM Oliveira, TH Napoleão, MRA Ferreira, LAL Soares (2023). Phytochemical profile, *In vitro* activities, and toxicity of optimized *Eugenia uniflora* extracts. *Boletim Latinoamericano y Del Caribe de Plant Med Aromat* 22:130–144
- Amalia A, MFL Nugraha, S Sukenda, B Elya (2023). *In vitro* phytochemical, antioxidant, and antibacterial evaluations of various extracts of *Eleocharis dulcis* (Burm. f.) Trin. ex Hensch. *Trop J Nat Prod Res* 7:2911–2918
- Baliyan S, R Mukherjee, A Priyadarshini, A Vibhuti, A Gupta, RP Pandey, CM Chang (2022). Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging activity and quantitative phytochemical analysis of *Ficus religiosa*. *Molecules* 27:1326
- Bezerra ICF, RTDM Ramos, MRA Ferreira, LAL Soares (2019). Optimization strategy for extraction of active polyphenols from leaves of *Eugenia uniflora* Linn. *Food Anal Meth* 13:735–750
- Celli GB, AB Pereira-Netto, T Beta (2011). Comparative analysis of total phenolic content, antioxidant activity, and flavonoids profile of fruits from two varieties of Brazilian cherry (*Eugenia uniflora* L.) throughout the fruit developmental stages. *Food Res Intl* 44:2442–2451
- de Barros GL, A Tuhanioglu, S Kaur, L Nora, A Ubeyitogullari (2024). Extraction of anthocyanins from purple sweet potato using supercritical carbon dioxide and conventional approaches. *Appl Food Res* 4:1–13
- Desmiaty Y, FC Saputri, M Hanafi, R Prastiwi, B Elya (2020). Anti-elastase, anti-tyrosinase, and anti-oxidant of *Rubus fraxinifolius* stem methanolic extract. *Pharmacogn J* 12:271–275
- Dong JW, L Cai, Y Xing, J Yu, ZT Ding (2015). Re-evaluation of ABTS-G+ assay for total antioxidant capacity of natural products. *Nat Prod Commun* 10:2169–2172
- Dorsey BM, MA Jones (2017). Healthy components of coffee processing by-products. In: *Handbook of Coffee Processing By-Products*, pp:27–62. Galanakis CM (Ed.). Academic Press, London
- Fan YF, SX Zhu, F-B Hou, D-F Zhao, Q-S Pan, Y-W Xiang, X-K Qian, G-B, Ge, P Wang (2021). Spectrophotometric assays for sensing tyrosinase activity and their applications. *Biosensors* 11:290
- Farias D de P, IA Neri-Numa, FF de Araújo, GM Pastore (2020). A critical review of some fruit trees from the Myrtaceae family as promising sources for food applications with functional claims. *Food Chem* 306:125630
- Gallucci S, AP Neto, C Porto, D Barbizan, I Costa, K Marques, P Benevides, R Figueiredo (2010). Essential oil of *Eugenia uniflora* L.: An industrial perfumery approach. *J Essen Oil Res* 22:176–179
- Girardelo JR, EL Munari, JCS Dallorsoleta, G Cechinel, ALF Goetten, LR Sales, FH Reginatto, VC Chaves, FA Smaniotto, S Somacal, T Emanuelli, JC Benech, C Soldi, E Winter, GMM Conterato (2020). Bioactive compounds, antioxidant capacity and antitumoral activity of ethanolic extracts from fruits and seeds of *Eugenia involucrata* DC. *Food Res Intl* 137:109615
- Jehan NN, T Sunarni, D Marlina (2023). Characterization of microencapsulated saga leaves extract (*Abrus precatorius* L.) and analgetic activity tests in male mice (*Mus musculus*). *Pharm Pharm Sci J* 10:280–289
- Kumar S, RK Chaitanya, VR Preedy (2018). Chapter 20 - Assessment of antioxidant potential of dietary components. In: *HIV/AIDS: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants*, pp. 239–253. Preedy VR, RR Watson (Eds.). Academic Press, London
- Kurniawati P, IR Maulida, Muhaimin (2017). The determination of antioxidant activity of Brazil-cherry (*Eugenia uniflora* L.) leaves extract using FRAP method. *AIP Conf Proc* 1911:020019
- Meriç Zİ, EÖ Nath, A Doğan, L Bitiş (2024). Antioxidant, anti-tyrosinase activities and characterization of phenolic compounds for some plants from the Marmara Region, Türkiye. *J Res Pharm* 28:396–408
- Nicácio AE, EM Rotta, JS Boeing, EO Barizão, E Kimura, JV Visentainer, L Maldaner (2017). Antioxidant activity and determination of phenolic compounds from *Eugenia involucrata* DC. fruits by UHPLC-MS/MS. *Food Anal Meth* 10:2718–2728
- Pillaiyar T, M Manickam, V Namasivayam (2017). Skin whitening agents: Medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *J Enzyme Inhibit Med Chem* 32:403–425
- Rizki MI, AK Sari, D Kartika, A Khairunnisa, Normaidah (2022). Determination of total phenolic content and antioxidant assay fraction of ethanolic cempedak leaf extract (*Artocarpus integer*) with DPPH method. *Media Pharm Indo* 4:168–178
- Santos DNE, LL de Souza, NJ Ferreira, AL de Oliveira (2015). Study of supercritical extraction from Brazilian cherry seeds (*Eugenia uniflora* L.) with bioactive compounds. *Food Bioprod Proc* 94:365–374
- Shen L, S Pang, M Zhong, Y Sun, A Qayum, Y Liu, X Ren (2023). A comprehensive review of ultrasonic assisted extraction (UAE) for bioactive components: Principles, advantages, equipment, and combined technologies. *Ultrasonics Sonochem* 101:106646–106651
- Şöhretoğlu D, S Sari, B Barut, A Özel (2018). Tyrosinase inhibition by some flavonoids: Inhibitory activity, mechanism by *In vitro* and *In silico* studies. *Bioorg Chem* 81:168–174
- Souza PM, ST Elias, LA Simeoni, JE de Paula, SM Gomes, ENS Guerra, PO Magalhães (2012). Plants from Brazilian cerrado with potent tyrosinase inhibitory activity. *PLoS One* 7:e48589
- Sulistiyowati, B Elya, R Iswandana, S Nur (2023). Phytochemicals and *In vitro* antiaging activity of ethanolic extract and fractions of *Rubus fraxinifolius* Poir. leaves. *J Pharm Pharm Res* 11:595–610
- Wenas DM, LS Aliya, WM Anjani (2020). Formula of yellow kepok banana (*Musa acuminata x Musa balbisiana*) corm extracts as antiinflammation. *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat* 30:100–110
- Wenas DM, B Elya, Sutriyo, H Setiawan (2024). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activities of unripe fruit and ripe fruit and seed extracts of *Eugenia uniflora*. *Trop J Nat Prod Res* 8:7734–7739
- Wiliantari S, R Iswandana, B Elya (2022). Total polyphenols, total flavonoids, antioxidant activity and inhibition of tyrosinase enzymes from extract and fraction of *Passiflora ligularis* Juss. *Pharmacog J* 14:660–671
- Zolghadri S, A Bahrami, M Tareq, H Khan, AA Saboury (2019). A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *J Enzyme Inhibit Med Chem* 34:279–309
- Zuo AR, HH Dong, YY Yu, QL Shu, LX Zheng, XY Yu, SW Cao (2018). The antityrosinase and antioxidant activities of flavonoids dominated by the number and location of phenolic hydroxyl groups. *Chin Med* 13:51