

Pemberian Krim Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Mencegah Peningkatan Jumlah Melanin Kulit Marmut (*Cavia porcellus*) yang Dipapar Sinar Ultraviolet B (UVB)

Administration of Breadfruit Leaves Extract (*Artocarpus altilis*) Cream Reverted the Increase of Skin Melanin in Guinea PIG (*Cavia Procillus*) Exposed to Ultraviolet B (UVB)

Marisa Riliani¹, Wimpie Pangkahila², Wiraguna AAGP^{2,3}

¹Department of Anatomy, University of YARSI, Jakarta

²Biomedic Department Concentration of Anti Aging Medicine, University of Udayana, Denpasar, Bali

³Dermatology Department, Sanglah Hospital, University of Udayana, Denpasar, Bali

Correspondence Email: marisa.riliani@yarsi.ac.id

Abstract

*Skin is the main target of ultraviolet (UV) ray that result the abnormality of hiperpigmentation. In pathology, hyperpigmentation is caused by an increasing in the amount of melanin. The purpose of this research was to prove the effect of administration of breadfruit leaves extract (*Artocarpus altilis*) cream prevented the increase of skin melanin in guinea pig (*Cavia procillus*) exposed to ultraviolet B and to prove the administration of breadfruit leaves extract (*Artocarpus altilis*) cream have the same effectiveness with 4% hydroquinone cream in preventing the increase of skin melanin in guinea pig (*Cavia procillus*) exposed to ultraviolet B. This study was a true experimental research using post test only control group design. The subjects were divided into three groups. Group 1 as a control group was treated by UVB exposure and basic cream. Group 2 was treated by UVB and 4% hydroquinone cream. Group 3 was treated by UVB and 3% breadfruit leaves extract cream. There was significant difference within control group compared with group 2 and 3 ($p < 0,05$). There was no significant difference within group 2 compared with group 3 ($p > 0,05$). The administration of 3% breadfruit leaves extract (*Artocarpus altilis*) cream prevented the increase of skin melanin in guinea pig (*Cavia procillus*) exposed to ultraviolet B. The administration of 3% breadfruit leaves extract (*Artocarpus altilis*) cream had the same effectiveness with 4% hydroquinone cream.*

Keywords : breadfruit leaves extract cream, melanin, guinea pigs, ultraviolet B

Pendahuluan

Penuaan merupakan suatu proses yang terjadi pada setiap makhluk hidup, yang dapat mengakibatkan gangguan fisik maupun

mental seseorang, sehingga diperlukan suatu usaha untuk mencegah dan memperbaiki gangguan akibat proses tersebut.

Penuaan diperlakukan sebagaimana penyakit, yang dapat dicegah, diobati dan bahkan dikembalikan ke fungsi organ semula, sehingga usia harapan hidup dapat menjadi lebih panjang dengan kualitas hidup yang baik (Goldman dan Klatz, 2007; Pangkahila, 2007).

Proses penuaan dapat disebabkan oleh faktor intrinsik dan ekstrinsik. Proses penuaan intrinsik adalah proses penuaan yang berlangsung secara alamiah yang disebabkan berbagai faktor dari dalam tubuh sendiri, seperti genetik, hormonal dan ras. Proses penuaan ekstrinsik terjadi akibat dari berbagai faktor dari luar tubuh seperti sinar matahari terutama sinar ultraviolet (UV), kelembaban udara, asap rokok dan berbagai faktor eksternal lainnya. Proses penuaan ini dapat dicegah dengan menghindari faktor-faktor yang mempercepat proses tersebut (Yaar dan Gilcrest, 2008; Baumann dan Saghari, 2009a).

Perubahan kulit secara biologis dan klinis akibat sinar UV mulai dari efek samping akut seperti *sunburn*, *tanning* dan hiperpigmentasi, sampai pada efek samping kronis seperti *photoaging* dan kanker kulit (Bernerd dkk., 2012). Secara patologi, hiperpigmentasi yang terjadi dapat disebabkan oleh peningkatan jumlah melanin di epidermis seperti lentigo, peningkatan jumlah melanin di epidermis dan dermis bagian atas yang tersebar pada melasma. Lentigo dan melasma merupakan kelainan akibat proses penuaan yang paling sering dikeluhkan (Lapeere, 2008; Baumann dan Saghari, 2009b).

Bahan pemutih kulit yang bekerja sebagai *tyrosinase inhibitor* telah banyak ditemukan dalam bahan kosmetik sebagai pencegah hiperpigmentasi, di antaranya adalah

asam askorbat, arbutin, asam kojik, merkuri dan hidrokuinon.

Asam kojik memiliki efek inhibisi dan kestabilan paling besar dalam produk kosmetik, namun asam kojik bersifat karsinogenik pada penelitian hewan coba. Senyawa merkuri dalam kosmetik sangat berbahaya, karena bersifat toksik yaitu membahayakan kulit, menyebabkan kulit berwarna coklat keabu-abuan, sehingga penggunaan senyawa ini sudah dilarang (Supriyanti, 2009).

Krim hidrokuinon 4% sudah menjadi baku emas untuk pengobatan hiperpigmentasi lebih dari 50 tahun. Mekanisme kerja hidrokuinon adalah menghambat kerja enzim tirosinase, merusak sel melanosit langsung, mempercepat degradasi melanosom dan menghambat sintesis enzim melanogenesis. Hidrokuinon apabila digunakan dalam jangka panjang dapat menimbulkan efek samping yaitu menimbulkan iritasi, *rebound phenomenon* dan okronosis. Oleh karena itu penggunaan hidrokuinon saat ini sudah mulai sangat dibatasi. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dicari bahan-bahan pemutih kulit lain yang bersifat alami dengan efek samping yang lebih sedikit (Baumann dan Alleman, 2009; Bruce, 2013).

Pohon sukun merupakan salah satu tanaman yang mudah didapatkan dan secara empiris telah digunakan di masyarakat tertentu di Indonesia sebagai obat tradisional (Rostinawati dkk., 2009). Penelitian mengenai ekstrak dari tanaman sukun ini telah banyak dilakukan. Ekstrak dietilester batang sukun mengandung artocarpin dan flavonoid yang menunjukkan aktivitas *5- reductase inhibitor* dan penghambat biosintesis melanin (Arung dkk., 2009).

Berdasarkan penelitian fitokimia, ekstrak daun sukun memiliki kandungan *flavonoid* dengan 3 senyawa aktif *aurone* yang dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase. Oleh sebab itu, ekstrak daun sukun merupakan kandidat kuat sebagai antioksidan maupun sebagai *whitening agent* (Thi dkk., 2012). Flavonoid merupakan sumber warna alami pada tanaman yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, antibakteri, antiinflamasi maupun sebagai *soothing agent* (Dweck, 2008). Flavonoid dibagi menjadi 6 grup utama yaitu *flavanols*, *flavones*, *flavonols*, *flavanones*, *isoflavones*, dan *anthocyanidins*. Flavonoid dapat bekerja langsung menghambat enzim tirosinase dan juga bekerja pada bagian akhir dari jalur oksidatif melanogenesis (Baumann dan Alleman, 2009).

Uji *flavonoid* dilakukan terhadap daun sukun muda, tua dan gugur. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak daun sukun tua mengandung kadar flavonoid yang lebih tinggi (100,68 mg/g) dibanding ekstrak daun sukun muda (87,03 mg/g) dan gugur (42,89 mg/g). Aktivitas antioksidan berkaitan erat dengan kadar flavonoid. Senyawa antioksidan dalam ekstrak daun sukun termasuk antioksidan primer, dan jika dibandingkan dengan vitamin C, ekstrak metanol daun sukun masih lebih tinggi (Mu'nisa dkk., 2011).

Penelitian dilakukan pada kulit marmut yang dipapar sinar UVB dan dioles krim ekstrak daun sukun 0,5%, 1%, 2% dan 3%, hasil menunjukkan krim ekstrak daun sukun 3% memiliki rerata jumlah melanin yang paling rendah. Senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun sukun diduga dapat menghambat satu atau lebih tahapan dari proses pembentukan melanin. Untuk mengetahui efek ekstrak daun sukun dan hidrokuinon dalam

pengecahan peningkatan jumlah melanin akibat paparan sinar UVB maka dilakukan penelitian *in vivo* pada kulit marmut.

Badan dan Metoda Penelitian

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan metode *post test only control group design* (Marczyk dkk., 2005).

Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di *Laboratory Animal Unit* Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Pemeriksaan histopatologis jaringan kulit dilakukan di Laboratorium Histologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana. Waktu penelitian dan pemeriksaan histopatologis dilakukan selama 4 minggu, bulan Desember 2014 - Januari 2015.

Populasi dan Sampel

Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah marmut (*Cavia porcellus*) berusia 3 bulan, berwarna coklat. Marmut tidak menderita sakit, mau makan dan minum. Marmut ini diperoleh dari *Laboratory Animal Unit* Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana.

Kriteria Sampel

Kriteria Inklusi

- a. Marmut (*Cavia porcellus*) jantan.
- b. Berwarna coklat
- c. Strain lokal
- d. Umur 3 bulan
- e. Berat 300-350 gram
- f. Satu hybrid
- g. Sehat

h. Mau makan dan minum

Kriteria Drop Out

Kriteria *drop out* apabila marmut mati pada saat penelitian.

Besar Sampel dan Cara Pengambilan Sampel

Dengan menggunakan rumus dari Federer (Federer, 2008), maka sampel berjumlah 9 per kelompok, dengan menambahkan 1 sampel per kelompok untuk menghindari drop out.

Bahan Penelitian

Bahan utama untuk penelitian ini adalah ekstrak daun sukun (*Altochryson altilis*) yang diekstrak di Fakultas Teknologi Pertanian Unit Layanan Laboratorium, Universitas Udayana. Daun sukun diperoleh dari Desa Sibang, Kecamatan Abiansemal, Kabupaten Badung, Bali.

Prosedur Penelitian

Secara random marmut dibagi menjadi 3 kelompok. Kelompok 1 dipapar sinar UVB dan dioles krim dasar (P1), kelompok 2 dipapar sinar UVB dan dioles krim hidrokuinon 4% (P2), dan kelompok 3 dipapar sinar UVB dan dioles krim ekstrak daun sukun 3% (P3), masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor marmut. 4. Aplikasi bahan topikal diberikan 20 menit sebelum paparan UVB dan aplikasi bahan topikal diulang 4 jam kemudian. Aplikasi bahan topikal tetap dilakukan di hari tanpa penyinaran sebanyak 2 kali sehari (Vani, 2013). Marmut dari kelompok P1, P2 dan P3 diberikan paparan UVB dari lampu UVB PL-S9W/01/2P sebanyak

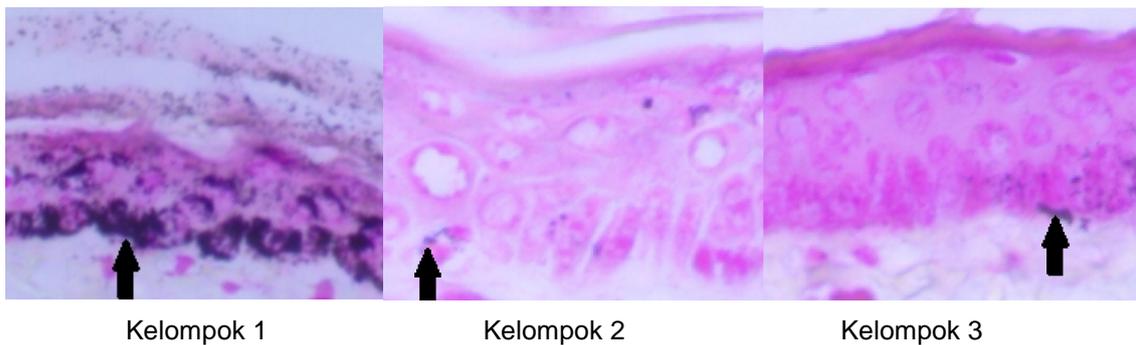
3 kali seminggu dengan dosis 65 mJ/cm^2 selama 65 detik setiap marmut, selama 2 minggu. Sampel diambil dari jaringan kulit dan dibuat sediaan histologis dengan pewarnaan Masson-Fontana. Jumlah melanin dihitung sebagai presentase *pixel* area melanin yang berwarna hitam dibandingkan dengan *pixel* area seluruh jaringan, menggunakan piranti lunak Adobe Photoshop CS3 versi 9.0. (Miot dkk.,2012).

Hasil Penelitian

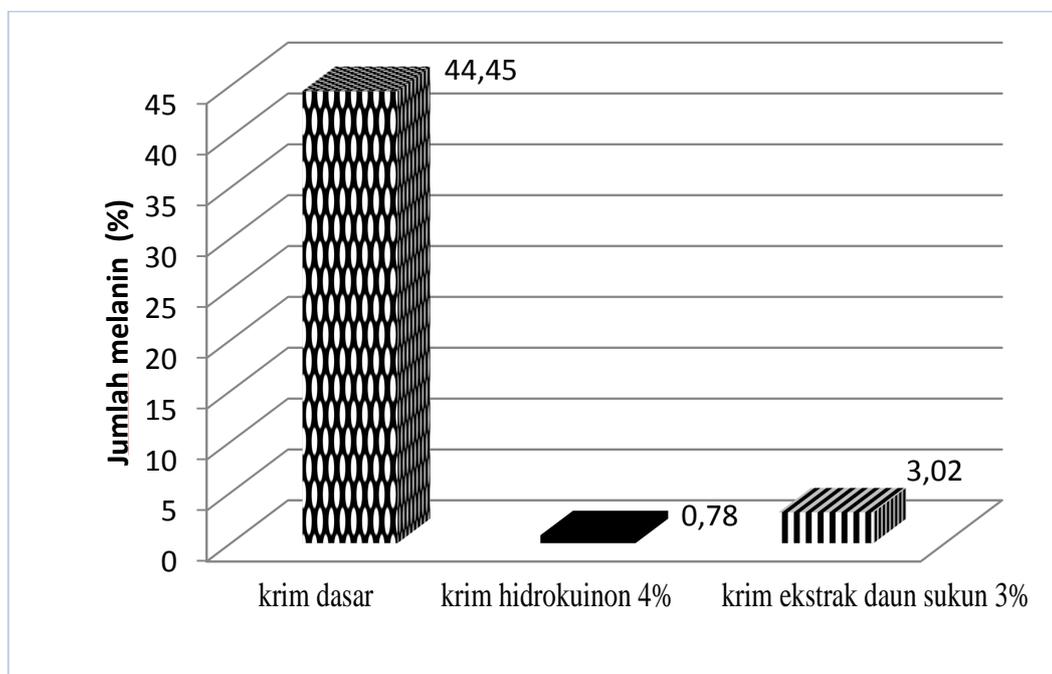
Gambaran Histopatologis

Gambaran melanin ditunjuk oleh tanda panah. Pada kelompok 1 (kontrol) terlihat kumpulan melanin berwarna hitam yang padat berkelompok memenuhi area basal epidermis dan seluruh lapisan atas epidermis; pada kelompok 2 (krim hidrokuinon 4%) terlihat melanin berwarna hitam yang tidak berkelompok dan tidak padat di basal epidermis dan sedikit menyebar ke lapisan atas epidermis; pada kelompok 3 (krim ekstrak daun sukun 3%) terlihat melanin berwarna hitam sedikit berkelompok dan sedikit menyebar ke lapisan atas epidermis.

Analisis data menunjukkan bahwa jumlah melanin kelompok 1 (kontrol) adalah $44,45 \pm 3,81\%$, rerata kelompok 2 (krim hidrokuinon 4%) adalah $0,78 \pm 0,60\%$, dan rerata kelompok 3 (krim ekstrak daun sukun 3%) adalah $3,02 \pm 1,75\%$. Analisis kemaknaan dengan uji *one way Anova* menunjukkan bahwa nilai $F = 181,93$ dan nilai $p = 0,001$. Hal ini berarti bahwa jumlah melanin pada ketiga kelompok sesudah diberikan perlakuan berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).



Gambar 1. Gambaran Melanin Kulit Marmut Dengan Pewarnaan Masson-Fontana, dengan pembesara 400X



Gambar 2. Perbandingan Jumlah Melanin Antar Kelompok

Tabel 1. Analisis Komparasi Jumlah Melanin Sesudah Perlakuan antar Kelompok

Kelompok	Beda Rerata	Signifikansi (p)
Kelompok 1 dan kelompok 2	43,67	0,001
Kelompok 1 dan kelompok 3	41,43	0,001
Kelompok 2 dan kelompok 3	2,24	0,392*

Keterangan: * = tidak berbeda bermakna pada $p > 0,05$

Uji Efek Perlakuan

Untuk mengetahui kelompok yang berbeda dengan kelompok kontrol perlu dilakukan uji lanjut dengan *Least Significant Difference – test* (LSD). Hasil uji disajikan pada Tabel 1.

Hasil uji lanjutan di atas menunjukkan bahwa:

1. Jumlah melanin kelompok 1 (kontrol) berbeda bermakna dengan kelompok 2 (krim hidrokuinon 4%), artinya jumlah melanin kelompok 2 (krim hidrokuinon 4%) lebih rendah daripada kelompok 1 (kontrol).
2. Jumlah melanin kelompok 1 (kontrol) berbeda bermakna dengan kelompok
3. (krim ekstrak daun sukun 3%), artinya jumlah melanin kelompok 3 (krim ekstrak daun sukun 3%) lebih rendah daripada kelompok 1 (kontrol).
4. Jumlah melanin kelompok 2 (krim hidrokuinon 4%) tidak berbeda bermakna dengan kelompok 3 (krim ekstrak daun sukun 3%).

Diskusi

Jumlah melanin yang lebih tinggi didapatkan pada kelompok kontrol disebabkan oleh paparan sinar UVB berulang. Paparan sinar UVB akan meningkatkan sintesis melanin oleh sel melanosit. Proses pembentukan melanin memerlukan aktivitas dari enzim tirosinase. Enzim tirosinase akan langsung bekerja segera saat terpapar oleh sinar UVB (Baumann dan Saghari, 2009b).

Sel keratinosit juga sangat berperan dalam peningkatan sintesis melanin. Setelah terpapar oleh sinar UV maka sel keratinosit akan mengeluarkan berbagai macam sitokin, hormon dan growth factors yang akan ditangkap oleh reseptor sel melanosit sehingga terjadi peningkatan proses pembentukan enzim melanogenik, bertambahnya jumlah sel

melanosit dan meningkatnya distribusi melanin ke keratinosit (Costin dan Hearing, 2007).

Peningkatan sintesis melanin juga dapat disebabkan oleh ROS. Pembentukan ROS oleh paparan sinar UVB dapat melalui interaksi langsung maupun tidak langsung. Interaksi langsung UVB berupa cross-linking basa pirimidin berdekatan, yang menyebabkan kerusakan langsung pada DNA dan ikatan dengan asam amino aromatik sehingga akan mengakibatkan pembentukan radikal bebas. Interaksi tidak langsung UVB menyebabkan terbentuknya ROS melalui fotosensitisasi yang akan merubah elektron pada kromofor, menjadi singlet elektron sehingga terjadi produksi radikal bebas. Fotosensitisasi juga memproduksi superoksida anion yang diikuti oleh dismutase ke hidrogen peroksida. Hidrogen peroksida dengan bantuan ikatan logam (Fe dan Cu) akan menghasilkan gugus hidroksil yang bersifat radikal bebas (Svobodova dkk., 2006).

Paparan sinar UV juga akan menimbulkan proses inflamasi. Proses inflamasi ditandai dengan terbentuknya NO dan PGE-2. Molekul NO dan PGE2 akan meningkatkan aktivitas cGMP yang akan menstimulasi proses sintesis melanin (Costin dan Hearing, 2007). Proses inflamasi juga akan menghasilkan sitokin dan mediator inflamasi, seperti leukotrien, prostaglandin dan tromboksan, walaupun mekanismenya belum jelas, namun terdapat penelitian yang menyatakan bahwa sel melanosit memiliki reseptor mediator inflamasi tersebut sehingga dapat menyebabkan peningkatan sintesis melanin (Kindred dan Halder, 2010).

Pada kelompok 2 yaitu kelompok yang diberikan krim hidrokuinon 4% ditemukan jumlah melanin yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol. Telah diketahui bahwa

hidrokuinon 4% adalah baku emas untuk pengobatan hiperpigmentasi. Mekanisme kerja dari hidokuinon adalah menghambat kerja enzim tirosinase, merusak sel melanosit langsung, mempercepat degradasi melanosom dan menghambat sintesis enzim melanogenesis (Bruce, 2013).

Pada kelompok 3 yaitu kelompok yang diberikan krim ekstrak daun sukun ditemukan jumlah melanin yang lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol, hal ini menunjukkan bahwa pembentukan melanin dapat dihambat oleh kandungan flavonoid dan antioksidan yang terdapat pada ekstrak daun sukun. Hasil analisis ekstrak daun sukun menunjukkan bahwa daun sukun memiliki kapasitas antioksidan 327,80 ppm, kadar total fenol 4,66% b/b, vitamin C 1955.56 mg/100g. Hasil analisis gas kromatografi ekstrak daun sukun menunjukkan beberapa senyawa aktif yang memiliki kemampuan mencegah peningkatan melanin yaitu asam linoleat (omega-6) dan lanosta (steroid).

Senyawa fenol yang dikandung ekstrak daun sukun memiliki efek antioksidan. Senyawa fenol memiliki gugus hidroksil yang tersubstitusi pada posisi ortho dan para terhadap -OH dan -OR (Ayucitra dkk., 2011). Antioksidan dapat menghambat atau menghentikan kerusakan oksidatif yang terjadi dengan cara memberikan senyawa elektron kepada molekul radikal bebas sehingga efek peningkatan pembentukan melanin dapat dicegah.

Pada penelitian yang dilakukan Zwergel (2011), flavonoid pada daun sukun memiliki aktivitas langsung terhadap inhibisi enzim tirosinase. Berdasarkan analisis struktural, gugus hidroksil pada cincin B dan gugus hidroksil pada C4, C6 dan C4' mampu menghambat enzim tirosinase pada sel kulit

manusia. Flavonoid pada daun sukun juga memiliki fungsi sebagai antiinflamasi karena mampu menurunkan produksi molekul pro-inflamasi yaitu NO dan PGE-2. Data analisis dari penelitian tersebut membuktikan bahwa gugus hidroksil pada C6 bekerja menurunkan produksi PGE-2, sedangkan gugus metoksi pada cincin B bekerja menurunkan produksi NO.

Berdasarkan penelitian in vitro, ekstrak daun sukun memiliki kandungan flavonoid dengan 3 senyawa aktif aurone yang memiliki aktifitas biologi sebagai tirosinase inhibitor. Telah diketahui bahwa tirosinase inhibitor yang terdapat pada flavonoid bersifat kompetitif, yaitu akan berikatan langsung dengan enzim bebasnya. Senyawa antioksidan yang terdapat pada daun sukun merupakan antioksidan primer, yang dapat memberikan langsung satu elektronnya kepada radikal bebas. Berdasarkan hal tersebut maka kandungan yang terdapat pada ekstrak daun sukun memiliki kemampuan untuk mencegah peningkatan pembentukan melanin akibat paparan sinar UVB.

Vitamin C merupakan antioksidan yang dapat menghambat pembentukan melanin dengan menurunkan oksidasi melanin dan mencegah DOPAkuinon kembali menjadi DOPA. Vitamin C juga dapat berperan sebagai antioksidan sekunder yang memiliki kemampuan sebagai oxygen scavenger, chelator untuk ion logam, menon-aktifkan singlet oxygen dan menyerap radiasi UV (Ayucitra dkk., 2011).

Lanosta merupakan golongan steroid. Steroid topikal tunggal maupun kombinasi sudah sering digunakan untuk terapi iritasi dan alergi kulit, namun penggunaannya sudah sangat dibatasi karena dapat menimbulkan efek samping berupa hipopigmentasi. Hipopigmentasi tersebut disebabkan steroid

yang bekerja dengan cara mengoksidasi tirosinase secara enzimatik menjadi produk yang toksik terhadap sel melanosit itu sendiri (Nnoruka dkk., 2006).

Asam linoleat (omega-6) adalah polyunsaturated fatty acid (PUFA) yang banyak terdapat pada tumbuhan hijau. Omega-6 pada rasio yang seimbang memiliki sifat antiinflamasi, hal ini terbukti dari sebuah penelitian in vitro pemberian omega-6 mampu menghambat molekul pro-inflamasi yaitu interleukin 8 (IL-8). Apabila rasio omega-6 mengalami peningkatan, maka omega-6 akan dimetabolisme menjadi asam arakidonat sehingga menimbulkan efek inflamasi (Kapoor dkk., 2006). Pada penelitian ini diduga omega-6 yang terkandung dalam ekstrak daun sukun memberikan peranannya sebagai antiinflamasi sehingga dapat mencegah peningkatan melanin. Omega-6 juga dapat mempercepat degradasi enzim tirosinase, walaupun mekanismenya belum jelas namun diperkirakan omega-6 dapat mendegradasi membran protein, sehingga menurunkan jumlah enzim tirosinase (Ando dkk., 2004).

Simpulan dan Saran

Simpulan

Pemberian krim ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) 3% mencegah peningkatan jumlah melanin kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UVB.

Pemberian krim ekstrak daun sukun (*Artocarpus altilis*) 3% sama efektifnya dengan krim hidrokinon 4% dalam mencegah peningkatan jumlah melanin kulit marmut (*Cavia porcellus*) yang dipapar sinar UVB.

Saran

Melakukan uji klinis krim ekstrak daun sukun terlebih dahulu sebelum diaplikasikan kepada

manusia, sehingga dapat digunakan sebagai pencegahan maupun pengobatan kelainan hiperpigmentasi seperti lentigo dan melasma.

Daftar Pustaka

- Ando, H., Matsui, M. S., Ichihashi, M. 2004. Quasi-Drugs Developed in Japan for Prevention or Treatment of Hyperpigmentary Disorders. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2904932/>. Accessed at January 10, 2015.
- Arung, E.T., Wicaksono, B. D., Handoko, Y. A., Kusuma, I. W., Sandra, F. 2009. Anti-Cancer Properties of Diethylether Extract of Wood from Sukun (*Artocarpus altilis*) in Human Breast Cancer (T47D) Cells. Available from: http://www.tjpr.org/vol8_no4/2009_8_4_5_Arung.pdf. Accessed at May 2, 2014.
- Ayucitra, A., Indraswati, N., Mulyandari, V., Dengi, Y. K., Francisco, G., Yudha, A. 2011. Potensi Senyawa Fenolik Bahan Alam Sebagai Antioksidan Alami Minyak Goreng Nabati. Jurnal Widya Teknik. Vol.10.(no.1): 1-10.
- Baumann, L., Alleman, I. B. 2009. Depigmentation Agent. In: Baumann, L., Saghari, S., Weisberg, E., editors. *Cosmetic Dermatology*. 2nd edition. New York: McGraw Hill. p 280-288.
- Baumann, L., Saghari, S. 2009a. Photoaging. In: Baumann, L., Saghari, S., Weisberg, E., editors. *Cosmetic Dermatology*. 2nd edition. New York: McGraw Hill. p 34-40.
- Baumann, L., Saghari, S. 2009b. Skin Pigmentation and Pigmentation Disorders. In Baumann, L., Saghari, S., Weisberg, E., editors. *Cosmetic*

- Dermatology. 2nd edition. New York: McGraw Hill. p 98-106.
- Bernerd, F., Marionnet, C., Duval, C., 2012. Solar Ultraviolet Radiation Induces Biological Alterations In Human Skin In Vitro: Relevance of A Well-Balanced UVA/UVB Protection. *Indian J Dermatol Venereol Leprol* [serial online]
- Bruce, S. 2013. Safety and Efficacy of a Novel Multimodality Hydroquinone-Free Skin Brightener Over Six Months. Available from: <http://jddonline.com/articles/dermatology/S1545961613S0027X#close>. Accessed at January 6, 2015.
- Costin, G. E., Hearing, V. J. 2007. Human Skin Pigmentation: Melanocytes Modulate Skin Color in Response to Stress. Available from: <http://www.fasebj.org/content/21/4/976.full>. Accessed at May 6, 2014.
- Dweck, A. 2008. Natural Ingredients Used in Cosmeceuticals. In: Walters, K.A., Roberts, M.S., editors. *Dermatologic, Cosmeceutic, and Cosmetic Development*. New York: Informa Healthcare. p 306-312.
- Federer, W.T. 2008. *Statistical Design and Analysis for Intercropping Experiments*. New York: Springer. p 30-33.
- Goldman, R., Klatz, R. 2007. Theories on Aging. In: Hirsch, C., Rosenberg, C., editors. *The New Anti-Aging Revolution*. Third edition. North Bergen: Basic Health. p 19-32.
- Kapoor, R., Huang, Y.S. 2006. Gamma Linoleic Acid: an antiinflammatory omega-6 fatty acid. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. Vol.7(no.6): 531-24.
- Kindred, C., Halder, R. M. 2010. Pigmentation and Skin of Color. In: Draelos, Z. D., editor. *Cosmetic Dermatology Products and Procedures*. 1st edition. New Jersey: Wiley-Blackwell. p 27-35.
- Lapeere, H., Boone, B., Schepper, S.D., Verhaeghe, E., Ongenae, K., Geel, N.V. 2008. Hypomelanosis and Hypermelanosis. In: Wolf, K., Goldsmith, L.A., Katz G.S., Gilchrist B.A., editors. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 7th edition. vol 1. New York: McGraw Hill. p 623-640.
- Marczyk., Geoffrey, R., Dematteo, D., Festinger, D. 2005. Experimental design. In: Dematteo, D., David., editors. *Essential of Research Design and Methodology*. First edition. New Jersey: John-Wiley. p 48-56.
- Miot, H. A., Brianezi, G., Tamega, A. A., Miot, D. B. M. 2012. Techniques of Digital Image Analysis for Histological Quantification of Melanin. Available from: <http://dx.doi.org/10.1590/S0365-05962012000400014>. Accessed at May 2, 2014.
- Mu'nisa, A., Pagarra, H., Muflihunna, A. 2011. Uji Kapasitas Antioksidan Ekstrak Daun Sukun dan Flavonoid. Available from : <http://fmipa.ipb.ac.id/index.php/id/kimia/2011-uji-kapasitas-antioksidan-ekstrak-daun-sukun-dan-flavonoid.html>. Accessed at April 30, 2014.
- Nnoruka, E., Okoye, O. 2006. Topical Steroid Abuse: its use as a depigmentation agent. *Journal of The National Medical Association*. Vol. 98(no.6): 1-10.
- Pangkahila, W. 2007. *Anti Aging Medicine*. First edition. Jakarta: Kompas. p 1-52.
- Rostinawati, T., Maharani, R., Mitha, S. R. 2009. Penelusuran Senyawa Aktif Ekstrak Daun Sukun (*Artocarpus altilis*) Terhadap *Staphylococcus Aureus*, *Microsporum*

- Gypseum dan Candida Albicans. Available from: http://pustaka.unpad.ac.id/wp-content/uploads/2011/02/penelusuran_senyawa_aktif_ekstrak_daun_sukun.pdf. Accessed at March 7, 2014.
- Supriyanti, F. M. 2009. Pemanfaatan Senyawa Bioaktif Dari Ekstrak Kulit Batang Artocarpus Sp. Sebagai Inhibitor Tirosinase Pada Pigmentasi Kulit. Available from: http://file.upi.edu/Direktori/SPS/PRODI.PENDIDIKAN_IPA/TITIN_SUPRIANTI/Titin_file_2_Jurnal.pdf . Accessed at March 2, 2014.
- Thi, N., Mai, T., Nguyen, X., Hai, D., Hoang, P., Nguyen, P., Trong, H., Nhan, N. T. 2012. Three New Geranyl Aurones From The Leaves of Artocarpus Altilis. Available from: http://www.researchgate.net/publication/256484906_Three_new_geranyl_aurones_from_the_leaves_of_Artocarpus_altilis. Accessed at February 14, 2014.
- Yaar, M., Gilchrest, B.A. 2008. Aging of Skin. In: Wolf, K., Lowel, A., Katz, G.S., editors. Fitzpatrick Dermatology in General Medicine. 7th edition. New York: McGraw Hill. p 964-977.