AKTIVITAS INHIBITOR ENZIM TIROSINASE FRAKSI DAUN PACAR AIR (*Impatiens balsamina* L.) SEBAGAI ANTI-HIPERPIGMENTASI SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

OLEH:

MUHAMMAD AMMAR AUFA

NIM. I1021221018

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2026

AKTIVITAS INHIBITOR ENZIM TIROSINASE FRAKSI DAUN PACAR AIR (*Impatiens balsamina* L.) SEBAGAI ANTI-HIPERPIGMENTASI SECARA *IN VITRO*

SKRIPSI

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak

OLEH:

MUHAMMAD AMMAR AUFA

NIM. I1021221018

PROGRAM STUDI FARMASI

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2026

SKRIPSI

AKTIVITAS INHIBITOR ENZIM TIROSINASE FRAKSI DAUN PACAR AIR (*Impatiens balsamina* L.) SEBAGAI ANTI-HIPERPIGMENTASI SECARA *IN VITRO*

OLEH:

MUHAMMAD AMMAR AUFA

NIM. I1021221018

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura
Tanggal: 13 Maret 2026

Disetujui,

Pembimbing Utama,	Pembimbing Pendamping,
Indri Kusharyanti, M.Sc., Apt.	**Ressi Susanti, M.Sc., Apt.**
NIP. 198303112006042001	**NIP. 198003242008122002**
Penguji Utama,	**Penguji Pendamping,**
Dr. Inarah Fajriaty, M.Si. Apt.	**Dr. Nurmainah, S.Si.,M.M., Apt.**
NIP. 198004072009122002	**NIP. 197905202008012019**

Mengetahui,
Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas Tanjungpura

dr. Ita Armyanti, M.Pd., Ked
NIP. 198110042008012011

Lulus Tanggal : 13 Maret 2026
No. SK Dekan FK : 2972/DST/UN22.9/DT.00.10/2026
Tanggal SK : 08 Juni 2026

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Muhammad Ammar Aufa

NIM : I1021221018

Jurusan/Prodi : Farmasi

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Pontianak,

Yang Membuat Pernyataan,

Muhammad Ammar Aufa

NIM.I1021221018

HALAMAN PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim Alhamdulillahi rabbil ‘alamin. Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi ini dapat diselesaikan dengan baik. Shalawat dan salam semoga selalu tercurah kepada Nabi Muhammad SAW sebagai teladan terbaik sepanjang masa.

Penulis menyadari bahwa perjalanan ini bukanlah proses yang mudah. Banyak tantangan dan kelelahan yang harus dilalui. Namun dengan doa dan dukungan dari berbagai pihak, penulis mampu menyelesaikan tahap ini. Skripsi ini dipersembahkan sebagai bentuk terima kasih kepada semua yang telah menjadi bagian dari perjalanan ini.

Skripsi ini secara khusus dipersembahkan kepada Mama dan Ayah. Tanpa cinta, doa, dan pengorbanan kalian, pencapaian ini tidak akan terwujud. Terima kasih atas nasihat dan motivasi yang selalu diberikan. Untuk kakak dan adik tercinta yang terus memberi semangat dalam setiap langkah.

Dengan penuh hormat penulis menyampaikan terima kasih kepada dosen pembimbing Ibu Indri Kusharyanti M.Sc., Apt. dan Ibu Ressi Susanti M.Sc., Apt. Terima kasih juga kepada dosen penguji Ibu Dr. Inarah Fajriaty S.Farm., M.Si., Apt dan Dr. Nurmainah S.Si., M.M., Apt. serta seluruh dosen lainnya atas ilmu dan arahan yang diberikan selama proses penyusunan skripsi ini.

Terima kasih kepada sahabat Bang Iyom, Rama, Edi, Wahid, dan Bang Alif yang selalu hadir serta memberikan dukungan dalam berbagai keadaan. Terutama kepada Bang Iyom atas bimbingan dan arahan yang sangat berarti dalam proses penyusunan naskah skripsi ini.
Kepada Angga, Awa, Febi, Winda, Nendy, selvi, dela, firda, sari serta teman-teman Serdefa ’22. Kebersamaan kalian membuat setiap tantangan terasa lebih ringan dan perjuangan ini menjadi lebih bermakna.
Untuk tim penelitian pacar air dan baday yaitu Rama, Eka, Wulan, Vivy, dan Khaidir. Terima kasih atas kerja sama dan saling menguatkan selama proses penelitian berlangsung.
Untuk Aura dan Onoi yang selalu memberikan doa dan semangat. Semoga segala cita-cita yang sedang diperjuangkan juga segera tercapai.

Terakhir untuk diri sendiri yang telah mampu bertahan hingga titik ini, melewati berbagai rintangan dan tantangan yang tidak selalu mudah. Terima kasih karena tetap memilih untuk melangkah, bahkan di saat lelah dan sempat ingin menyerah. Terima kasih atas perjuangan yang telah dilakukan selama ini, khususnya dalam empat tahun terakhir yang penuh proses dan pembelajaran. Terima kasih karena telah berani memulai dan memikul tanggung jawab besar ini. Terima kasih telah berkomitmen untuk menyelesaikan apa yang telah dimulai, serta tetap teguh dan tidak menyerah dalam menghadapi setiap tantangan selama masa perkuliahan.

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT karena atas limpahan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul "Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Fraksi Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) Sebagai Anti-Hiperpigmentasi Secara *In vitro*" dapat tersusun sampai dengan selesai.

Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) Farmasi di Universitas Tanjungpura Pontianak Tahun Ajaran 2025/2026. Pada kesempatan ini penulis mengucapkan terima kasih kepada berbagai pihak yang telah memberikan bimbingan, dukungan dan bantuan baik material maupun spiritual, yaitu :

1. dr. Ita Armyanti, M.Pd.Ked. selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
2. Dr. Bambang Wijianto, M.Sc., Apt. selaku Ketua Bagian Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
3. Nera Umilia Purwanti, M.Sc., Apt. selaku Koordinator Program Studi S1 Farmasi Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura Pontianak.
4. Indri Kusharyanti, M.Sc., Apt. selaku Pembimbing Utama dan Ressi Susanti, M.Sc., Apt. selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu dan memberikan bimbingan, ilmu, saran, dorongan, nasihat serta perhatian selama penyusunan skripsi ini.
5. Dr. Inarah Fajriaty, S.Farm., M.Si., Apt. selaku Penguji Utama dan Dr. Nurmainah, S.Si.,M.M., Apt. selaku Penguji Pendamping yang telah

meluangkan waktu untuk memberikan masukan yang berharga bagi penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

6. Wintari Taurina, M.Sc., Apt. selaku dosen pembimbing akademik yang telah membimbing selama perkuliahan.
7. Seluruh Civitas Akademika Fakultas Kedokteran, khususnya Dosen Program Studi Farmasi yang telah memberikan banyak ilmu pengetahuan yang bermanfaat bagi penulis.
8. Azman Herman selaku Ayah, Ayu Siti Rahma selaku Ibu, Muhammad Asyraf Faturrahman selaku Adik, serta Rizka Ayu Desyanti selaku Kakak yang telah mendidik, memberi kasih sayang, doa, motivasi, dukungan, serta pengorbanan waktu, tenaga, dan biaya kepada penulis selama proses perkuliahan.
9. Seluruh pihak yang telah berkontribusi, meskipun tidak dapat penulis sebutkan satu per satu, atas segala dukungan dan doa yang menjadi sumber semangat dalam proses meraih gelar ini.

Demikian skripsi ini, semoga dapat bermanfaat bagi semua pihak. Penulis merasa masih banyak kekurangan dalam pembuatan naskah ini sehingga kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan.

Pontianak, 21 Februari 2026

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i

HALAMAN PENGESAHAN ii

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN iii

HALAMAN PERSEMBAHAN iv

KATA PENGANTAR v

DAFTAR ISI vii

DAFTAR TABEL xi

DAFTAR GAMBAR xii

DAFTAR SINGKATAN xiv

DAFTAR LAMPIRAN xvi

ABSTRAK xvii

ABSTRACT xviii

BAB I PENDAHULUAN 1

I.1 Latar Belakang 1

I.2 Rumusan Masalah 3

I.3 Tujuan Penelitian 3

I.4 Manfaat Penelitian 4

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 5

II.1 Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) 5

II.1.1 Klasifikasi 5
II.1.2 Morfologi 5
II.1.3 Kandungan Senyawa 7
II.1.4 Aktivitas Farmakologi 8
II.2 Simplisia dan Serbuk Simplisia 8
II.3 Ekstraksi 10
II.4 Fraksinasi 12
II.5 Hiperpigmentasi 12
II.6 Enzim Tirosinase 14
II.7 Landasan Teori 17
II.8 Kerangka Penelitian 21
II.9 Hipotesis Penelitian 21
BAB III METODOLOGI 22
III.1 Alat dan Bahan 22
III.1.1 Alat 22
III.1.2 Bahan 23
III.2 Tempat dan Waktu Penelitian 23
III.3 Populasi dan Sampel 23
III.4 Variabel Penelitian 24
III.4.1 Variabel Bebas 24
III.4.2 Variabel Terikat 24
III.4.3 Variabel Terkendali 24
III.5 Rancangan Penelitian 24
III.5.1 Pengambilan Sampel 24
III.5.2 Determinasi Sampel Daun Pacar Air 25

III.5.3 Pembuatan Simplisia Daun Pacar Air 25
III.5.4 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Pacar Air 26
III.5.5 Evaluasi Sifat Fisik Ekstrak Etanol Daun Pacar Air 26
III.5.7 Uji Penentuan Kadar Flavonoid Total Fraksi Daun Pacar Air 29
III.5.8 Uji Penghambatan Tirosinase 29
III.6 Analisis Data 31
III.7 Alur Penelitian 34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 35
IV.1 Determinasi Tanaman 35
IV.2 Pengumpulan dan Pengolahan Sampel 36
IV.3 Ekstraksi Simplisia Daun Pacar Air (*Impatiens balsamina* L.) 38
IV.4 Evaluasi Sifat Fisik Ekstrak 41
IV.4.1 Rendemen Ekstrak 41
IV.4.2 Uji Organoleptis 42
IV.4.3 Kadar Sari Larut Air dan Etanol 43
IV.4.4 Kadar Lembab Air 45
IV.5 Fraksinasi 46
IV.6 Uji Kadar Flavonoid Total 49
IV.6.1 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum 49
IV.6.2 Penentuan *Operating Time* 50
IV.6.3 Pembuatan Kurva Standar 51
IV.6.4 Penetapan Kadar Flavonoid 52
IV.7 Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase 58
IV.8 Keterbatasan Penelitian 74
BAB V PENUTUP 76

V.1 Kesimpulan..... 76

V.2 Saran..... 76

DAFTAR PUSTAKA 78

LAMPIRAN..... 88

DAFTAR TABEL

Tabel **Halaman**

Tabel 3.1 Klasifikasi Potensi Inhibisi Aktivitas Enzim Tirosinase 33

Tabel 4.1 Hasil Rendemen Ekstrak Etanol 96% Daun Pacar Air..... 42

Tabel 4.2 Hasil Penetapan Kadar Sari Larut Air dan Etanol..... 43

Tabel 4.3 Hasil Penetapan Kadar Lembab Air 46

Tabel 4.4 Hasil Rendemen Fraksi Ekstrak Etanol 96% Daun Pacar Air..... 49

Tabel 4.5 Hasil Penentuan Panjang Gelombang Maksimum 50

Tabel 4.6 Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total..... 55

Tabel 4.7 Respon Inhibisi Tirosinase terhadap Variasi Konsentrasi Asam Kojat; Keterangan: % Inhibisi = Rata-rata ± SD; n=3 60

Tabel 4.8 Respon Inhibisi Tirosinase terhadap Variasi Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Pacar Air; Keterangan: % Inhibisi = Rata-rata ± SD; n=3..... 62

Tabel 4.9 Respon Inhibisi Tirosinase terhadap Variasi Konsentrasi Fraksi N-heksan Daun Pacar Air; Keterangan: %Inhibisi = Rata-rata ± SD; n=3..... 65

Tabel 4.10 Respon Inhibisi Tirosinase terhadap Variasi Konsentrasi Fraksi Etil Asetat Daun Pacar Air; Keterangan: % Inhibisi = Rata-rata ± SD; n=3 67

Tabel 4.11 Respon Inhibisi Tirosinase terhadap Variasi Konsentrasi Fraksi Air Daun Pacar Air; Keterangan: % Inhibisi = Rata-rata ± SD; n=3..... 70

DAFTAR GAMBAR

Gambar **Halaman**

Gambar 2.1 Tanaman pacar air (*Impatiens balsamina*) 7

Gambar 2.2 Post Inflammatory Hyperpigmentation (PIH) (a); Melasma (b) 13

Gambar 2.3 Reaksi Oksidasi dengan Katalis Enzim Tirosinase 15

Gambar 2.4 Struktur Kimia Asam Kojat 16

Gambar 2.5 Kerangka Konsep..... 21

Gambar 3.1 Skema Alur Penelitian 34

Gambar 4.1 Ekstrak Etanol Daun Pacar Air..... 42

Gambar 4.2 Hasil Pengukuran Kurva Standar Kuersetin 51

Gambar 4.3 Struktur Kimia Senyawa Flavonoid (A); Fenol (B) 53

Gambar 4.4 Reaksi Pembentukan Kompleks antara Kuersetin dan $AlCl_3$ 54

Gambar 4.5 Grafik Hasil Penetapan Kadar Flavonoid Total..... 55

Gambar 4.6 Kurva Regresi Asam Kojat; Kesesuaian Model Regresi: Sigmoidal; 4 Parameter Logistic; X is Concentration..... 60

Gambar 4.7 Kurva Regresi Ekstrak Etanol Daun Pacar Air; Kesesuaian Model Regresi: Sigmoidal; 4 Parameter Logistic; X is Concentration..... 62

Gambar 4.8 Kurva Regresi Fraksi N-heksan Daun Pacar Air; Kesesuaian Model Regresi: Sigmoidal; 4 Parameter Logistic; X is Concentration..... 65

Gambar 4.9 Kurva Regresi Fraksi Etil Asetat Daun Pacar Air; Kesesuaian Model Regresi: Sigmoidal; 4 Parameter Logistic; X is Concentration..... 67

Gambar 4.10 Kurva Regresi Fraksi Air Daun Pacar Air; Kesesuaian Model Regresi: Sigmoidal; 4 Parameter Logistic; X is Concentration..... 70

Gambar 4.11 Perbandingan Nilai IC_{50} Ekstrak Etanol, Fraksi Etil Asetat, dan Fraksi Air Daun Pacar Air terhadap Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase..... 71

Gambar 4.12 Korelasi antara Kadar Flavonoid Total dan Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase pada Ekstrak dan Fraksi Daun Pacar Air 72

DAFTAR SINGKATAN

ABTS	: *2,2'-Azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)*
$AlCl_3$	: Aluminium Klorida
ANOVA	: *Analysis of Variance*
B16F10	: Sel melanoma tikus B16F10
COX-2	: *Cyclooxygenase-2*
Cu^{2+}	: Ion Tembaga (II)
DMSO	: Dimetil Sulfoksida
DOPA	: *3,4-Dihydroxy-L-Phenylalanine*
DPPH	: *2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl*
EH	: *Eccentric Hyperpigmentation*
HPA	: Hipotalamus–Hipofisis–Adrenal
IC_{50}	: *Inhibitory Concentration 50%*
IR	: *Infrared*
L-DOPA	: *3,4-Dihydroxy-L-Phenylalanine*
L-tirosin	: *L-Tyrosine*
mgQE/g	: Miligram Quercetin Equivalent per gram sampel
mM	: Milimolar
µg/mL	: Mikrogram per mililiter
µM	: Mikromolar
NaH_2PO_4	: Natrium Dihidrogen Fosfat
Na_2HPO_4	: Natrium Hidrogen Fosfat
NaOH	: Natrium Hidroksida

nm : Nanometer

p : *Probability value*

PBS : *Phosphate Buffered Saline*

PIH : *Post-Inflammatory Hyperpigmentation*

mgQE/g : *Parts Per Million*

R^2 : Koefisien Determinasi (*Coefficient of Determination*)

SD : Standar Deviasi (*Standard Deviation*)

UV : *Ultraviolet*

UV-Vis : *Ultraviolet-Visible Spectrophotometry*

VL : *Visible Light*

WHO : *World Health Organization*

°C : Derajat Celsius

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran **Halaman**

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman..... 88

Lampiran 2. Proses Pembuatan Simplisia 89

Lampiran 3. Proses Maserasi..... 90

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak..... 91

Lampiran 5. Perhitungan Uji Kadar Larut Air dan Etanol 95

Lampiran 6. Uji Kadar Lembab Air 97

Lampiran 7. Proses Fraksinasi..... 98

Lampiran 8. Perhitungan Rendemen Fraksinasi 99

Lampiran 9. Uji Kadar Flavonoid Total..... 100

Lampiran 10. Uji Aktivitas Inhibitor Enzim Tirosinase Secara *In Vitro* 108

Lampiran 11. *Certificate of Analysis* (CoA) 129

Lampiran 12. Pernyataan Penelitian Payung Dosen 130

ABSTRAK

Hiperpigmentasi merupakan kelainan kulit akibat akumulasi melanin berlebih yang prosesnya dikatalisis oleh enzim tirosinase sehingga penghambatan enzim ini menjadi strategi utama terapi pencegahan hiperpigmentasi. Daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) diketahui mengandung flavonoid yang berpotensi sebagai inhibitor tirosinase alami. Tujuan penelitian ini adalah menentukan kadar flavonoid total, nilai IC_{50} aktivitas inhibitor tirosinase secara *in vitro*, serta sampel dengan potensi penghambatan paling tinggi. Metode penelitian menggunakan *true experimental design* dengan pendekatan *posttest only control group design*, ekstraksi dilakukan secara maserasi dan difraksinasi dengan metode cair–cair, penetapan kadar flavonoid total menggunakan spektrofotometri UV-Vis, dan pengujian aktivitas inhibitor tirosinase menggunakan *microplate reader*. Hasil menunjukkan seluruh parameter standarisasi ekstrak memenuhi persyaratan yang ditetapkan. Kadar flavonoid total tertinggi terdapat pada fraksi etil asetat (98,21 mgQE/g), diikuti ekstrak etanol (84,98 mgQE/g), fraksi n-heksan (19,35 mgQE/g), dan fraksi air (8,62 mgQE/g). Nilai IC_{50} berturut-turut adalah fraksi etil asetat 7220,79 µg/mL, ekstrak etanol 37095,68 µg/mL, fraksi air 46303,79 µg/mL, fraksi n-heksan tidak mencapai nilai IC_{50} (NA), dan asam kojat 88,46 µg/mL. Kesimpulan dari penelitian ini bahwa kadar flavonoid total pada daun pacar air (*Impatiens balsamina* L.) dengan potensi penghambatan inhibitor tirosinase alami paling tinggi terdapat pada fraksi etil asetat.

Kata Kunci: Hiperpigmentasi, tirosinase, daun pacar air, flavonoid, fraksinasi

ABSTRACT

Hyperpigmentation is a skin condition caused by excessive melanin accumulation, a process catalyzed by the enzyme tyrosinase; therefore, inhibiting this enzyme is a primary therapeutic strategy for preventing hyperpigmentation. The leaves of the balsam leaves (Impatiens balsamina L.) are known to contain flavonoids that have the potential to act as natural tyrosinase inhibitors. The objectives of this study were to determine the total flavonoid content, the IC_{50} value of tyrosinase inhibitory activity in vitro, and to identify the sample with the highest inhibitory potential. The research method employed a true experimental design with a posttest-only control group approach; extraction was performed via maceration and fractionation using the liquid–liquid method; total flavonoid content was determined using UV-Vis spectrophotometry; and tyrosinase inhibitory activity was tested using a microplate reader. The results showed that all extract standardization parameters met the established requirements. The highest total flavonoid content was found in the ethyl acetate fraction (98.21 mgQE/g), followed by the ethanol extract (84.98 mgQE/g), the n-hexane fraction (19.35 mgQE/g), and the water fraction (8.62 mgQE/g). The IC_{50} values were as follows: ethyl acetate fraction 7,220.79 mgQE/g, ethanol extract 37,095.68 mgQE/g, water fraction 46,303.79 mgQE/g, n-hexane fraction did not reach the IC_{50} value (NA), and kojic acid 88.46 mgQE/g. The conclusion of this study is that the total flavonoid content in the leaves of balsam (Impatiens balsamina L.) with the highest potential for natural tyrosinase inhibition is found in the ethyl acetate fraction.

***Keywords**: Hyperpigmentation, tyrosinase, balsam leaves, flavonoids, fractionation*

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Hiperpigmentasi merupakan salah satu gangguan kulit yang sering terjadi pada individu dengan berbagai tipe warna kulit. Gangguan kulit tersebut dapat menjadi indikator keganasan seperti melanoma.[1] Menurut *World Health Organization* (WHO), pada tahun 2022 kanker kulit merupakan kanker yang paling sering didiagnosis di dunia dengan lebih dari 1,5 juta kasus baru, termasuk sekitar 330.000 kasus melanoma dan hampir 60.000 kematian, dengan 1.716 kasus dilaporkan terjadi di Indonesia.[2] Ciri diagnostik khas melanoma disebut *Eccentric Hyperpigmentation* (EH), yaitu distribusi pigmen yang tidak merata dan lebih terkonsentrasi pada salah satu sisi lesi kulit.[3] Hal ini menunjukkan permasalahan hiperpigmentasi, sangat tinggi di Indonesia.

Di Indonesia, fenomena kecantikan menunjukkan bahwa sebanyak 57,6% wanita mengeluhkan kulit kusam dan hiperpigmentasi. Masalah ini kini menjadi fokus utama dalam perawatan kulit, seiring dengan meningkatnya kesadaran masyarakat terhadap penampilan.[4] Secara patofisiologis, hiperpigmentasi disebabkan oleh akumulasi melanin berlebih pada kulit. Hiperpigmentasi disebabkan oleh paparan sinar UV, perubahan hormonal, inflamasi kulit, efek obat-obatan (antibiotik, antihipertensi, antikonvulsan, obat-obatan psikoaktif, obat anti-inflamasi non-steroid, agen kemoterapi), serta paparan bahan kimia atau logam berat.[5] Kondisi ini memicu timbulnya lesi hiperpigmentasi seperti melasma, *post-inflammatory hyperpigmentation* (PIH), dan *age spots*. Proses sintesis melanin

(*melanogenesis*) dikatalisis oleh enzim tirosinase, sehingga penghambatan aktivitas enzim ini menjadi strategi utama dalam pencegahan dan penatalaksanaan hiperpigmentasi.[6]

Penggunaan inhibitor tirosinase sintetis seperti hidrokuinon telah banyak diterapkan. Namun keterbatasan terkait potensi iritasi dan toksisitas jangka panjang membatasi penggunaannya terutama pada penggunaan dosis lebih dari 10%.[7–9] Oleh karena itu, penelitian berfokus pada pengembangan senyawa bioaktif dari bahan alam yang memiliki keamanan lebih baik. Flavonoid merupakan turunan fenolik dapat menghambat tirosinase secara kompetitif pada melanogenesis dengan efektivitas yang dipengaruhi oleh jumlah gugus –OH, sedangkan keberadaan konjugasi gula dapat menurunkan aktivitas penghambatan.[10,11]

Daun pacar air (*Impatiens balsamina L.*) diketahui mengandung senyawa flavonoid. Penelitian Kristianti *et al* melaporkan bahwa kadar flavonoid total pada ekstrak etanol daun pacar air sebesar 26,65 ± 1,33 mg QE/g.[12] Penelitian yang dilakukan Mahardika *et al* menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun pacar air memiliki aktivitas antioksidan tinggi dengan nilai IC_{50} 90,64 μg/mL.[13] Penelitian Salsabila *et al* memperkuat temuan ini dengan melaporkan bahwa ekstrak etanol daun pacar air memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC_{50} 57,482 μg/mL. Aktivitas antioksidan yang kuat ini berperan menurunkan stres oksidatif dan pembentukan melanin berlebih. Kedua faktor tersebut merupakan faktor penyebab hiperpigmentasi.[14]

Penelitian terkait aktivitas penghambatan tirosinase dari fraksi daun pacar air masih terbatas. Fraksinasi dapat meningkatkan konsentrasi senyawa aktif, di

mana penelitian sebelumnya melaporkan bahwa fraksi semi-polar seperti etil asetat memiliki efektivitas tertinggi dalam menghambat tirosinase. Sebagaimana dibuktikan pada fraksi etil asetat daun kelor (*Moringa oleifera*) dan rimpang kecombrang (*Etlingera elatior*).[10,15] Temuan-temuan tersebut memperkuat penelitian yang akan dilakukan, dengan tujuan untuk menentukan kadar flavonoid total dari berbagai fraksi daun pacar air, menentukan nilai IC_{50} aktivitas inhibitor enzim tirosinase secara *in vitro*, serta mengidentifikasi fraksi yang memiliki potensi tertinggi dalam menghambat enzim tersebut. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat dikembangkan sebagai kandidat agen anti-hiperpigmentasi berbasis bahan alam.

I.2 Rumusan Masalah

1. Berapa kadar flavonoid total fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pacar air?
2. Berapa nilai IC_{50} aktivitas inhibitor enzim tirosinase dari fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pacar air secara *in vitro*?
3. Fraksi apa yang memiliki aktivitas penghambatan enzim tirosinase paling tinggi dari daun pacar air?

I.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan kadar flavonoid total fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pacar air.
2. Menentukan nilai IC_{50} aktivitas inhibitor enzim tirosinase dari fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pacar air secara *in vitro*.

3. Mengevaluasi fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun pacar air yang memiliki potensi paling tinggi dalam menghambat enzim tirosinase.

I.4 Manfaat Penelitian

1. Bagi peneliti, memberikan pemahaman tentang potensi daun pacar air sebagai inhibitor tirosinase alami serta memperluas wawasan dalam uji aktivitas biologis bahan alam secara *in vitro*.
2. Bagi masyarakat, diharapkan menjadi alternatif pencerah kulit berbasis alami yang lebih aman, sekaligus mendorong pemanfaatan tumbuhan lokal untuk kosmetik herbal yang ramah kulit dan minim efek samping.
3. Bagi institusi, mendukung pengembangan ilmu farmasi bahan alam, menjadi referensi riset lanjutan, serta memperkuat peran institusi dalam inovasi kesehatan dan kosmetik alami berbasis potensi lokal.