

RINGKASAN

Tirosinase merupakan enzim utama dalam pembentukan melanin. Tirosinase berperan dalam mengkatalisis tiga reaksi yang berbeda dalam pembentukan melanin (melanogenesis), yaitu hidroksilasi tirosin menjadi dihidroksifenilalanin (DOPA), oksidasi DOPA menjadi dopakuinon dan oksidasi dihidroksiindol (DHI) menjadi indolkuinon. Hambatan pada pembentukan ataupun aktivitas enzim ini akan menyebabkan pigmen melanin berkurang atau tidak terbentuk.

Ekstrak daun teh hijau merupakan kandidat bahan pencerah kulit yang potensial. Dari penelitian Jae Kyung No, dkk. diketahui teh hijau mempunyai daya hambat tirosinase yang kuat dan beberapa studi juga telah membuktikan bahwa teh hijau mempunyai efek antiinflamasi dan anti karsinogenik yang dapat digunakan untuk mengatasi berbagai gangguan kulit. Senyawa aktif utama teh hijau yang bertanggung jawab terhadap aktivitas ini adalah (-) *-epigallocatechin 3-O-gallate (EGCG)*.^{7,8}

Dalam upaya mendapatkan pencerah kulit yang efektif dengan efek samping minimal ingin diteliti lebih lanjut tentang komponen utama teh hijau EGCG sebagai bahan aktif utama pencerah kulit. Selain itu, untuk mengetahui aktivitas EGCG dalam bentuk kombinasi dengan pencerah kulit lain, dipilih *kojic acid* sebagai bahan aktif kedua, karena dengan mekanisme kerja yang sama yaitu hambatan aktivitas tirosinase, diharapkan terdapat aktivitas sinergistik dari kedua bahan aktif tersebut.

Untuk mengetahui aktivitas EGCG dalam menghambat tirosinase, perlu diketahui bagaimanakah kinetika dan jenis hambatan EGCG terhadap aktivitas tirosinase.

Kinetika dan jenis hambatan ditentukan secara invitro dengan mengamati nilai absorpsi produk (dopakrom) yang dihasilkan dari reaksi tirosinase dan substrat L-tirosin menggunakan spektrofotometer. Nilai absorpsi digunakan untuk mendapatkan parameter aktivitas tirosinase. Dari profil kurva Lineweaver-Burk aktivitas tirosinase terhadap berbagai konsentrasi L-tirosin pada berbagai konsentrasi EGCG, diketahui konstanta kinetik reaksi enzimatis tanpa inhibitor adalah K_M 0,224 mM dan V_{maks} 0,213 $\mu\text{mol}/\text{menit}$. Pada kurva dengan inhibitor EGCG didapat data kinetik V_{maks} yang tidak berubah dan K_M yang makin meningkat dengan makin meningkatnya konsentrasi EGCG, sehingga jenis hambatan EGCG adalah hambatan kompetitif.

Kemudian untuk mengetahui pengaruh EGCG bila dikombinasi dengan *kojic acid*, dilakukan pengujian guna mendapatkan parameter daya hambat kombinasi EGCG dan *kojic acid* terhadap aktivitas tirosinase. Daya hambat aktivitas tirosinase merupakan interpretasi dari nilai % inhibisi yang didapat dari nilai absorpsi produk secara spektrofotometri.^{7,10,11} Untuk keperluan analisis statistik, nilai % inhibisi diwakili oleh harga $\Delta A/\text{menit}$ yang menunjukkan bahwa harga $\Delta A/\text{menit}$ reaksi enzimatis yang menggunakan inhibitor EGCG konsentrasi 0,05 mM tidak berbeda bermakna dengan harga $\Delta A/\text{menit}$ yang dihasilkan dari reaksi enzimatis yang dihambat oleh *kojic acid* konsentrasi 0,005 mM, begitu pula EGCG dengan konsentrasi yang berbeda, mempunyai harga $\Delta A/\text{menit}$ yang tidak berbeda dengan

harga $\Delta A/\text{menit}$ yang dihasilkan oleh *kojic acid* dengan konsentrasi 1/10 kali EGCG, sehingga dapat ditarik kesimpulan bahwa EGCG mempunyai daya hambat 10 kali lebih kecil dibandingkan *kojic acid* pada konsentrasi yang sama.

Dari hasil analisis statistik terhadap harga $\Delta A/\text{menit}$ juga diketahui bahwa bila EGCG dan *kojic acid* tidak diberikan dalam bentuk kombinasi, perubahan harga $\Delta A/\text{menit}$ pada setiap peningkatan konsentrasi EGCG atau *kojic acid* cenderung lebih besar bila dibandingkan dengan perubahan harga $\Delta A/\text{menit}$ kombinasi EGCG - *kojic acid*, sehingga dapat dikatakan bahwa peningkatan konsentrasi inhibitor dalam bentuk kombinasi tidak meningkatkan daya hambat aktivitas tirosinase sebesar daya hambat yang ditimbulkan bila masing-masing inhibitor berada dalam bentuk tunggal. Kombinasi EGCG – *kojic acid* tidak menunjukkan daya hambat aktivitas tirosinase yang saling memperkuat, tetapi cenderung memperlemah.