

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar belakang

Enzim tirosinase merupakan suatu enzim yang berperan penting pada sintesis melanin. Enzim ini akan mengoksidasi asam amino *L-tirosine* menjadi *L-3,4 dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) dan mengubah L-DOPA menjadi DOPAquinone. Enzim tirosinase juga mengubah DOPAquinone menjadi DOPAchrome yang selanjutnya akan menjadi *5,6-dihydroxyindole* (DHI) dan *5,6-dihydroxyindole-2-carboxylic acid* (DHICA) sehingga membentuk eumelanin, yaitu melanin berwarna hitam dan coklat.¹

Melanin diproduksi oleh melanosit melalui proses melanogenesis, berfungsi menentukan warna kulit, rambut dan mata serta berperan utama pada homeostasis kulit manusia.^{2,3} Pigmentasi pada kulit bermanfaat sebagai fotoproteksi terhadap sinar ultraviolet (UV), namun produksi melanin yang berlebihan dapat menyebabkan hiperpigmentasi yang dapat mengganggu secara kosmetik, terutama di daerah wajah seperti melasma, *freckles*, lentigo solaris, dan hiperpigmentasi paska inflamasi. Kelainan ini dapat menimbulkan rasa malu dan stres pada penderita, sehingga perlu penanganan yang sebaik-baiknya.^{4,5}

Ramos dkk. (Brazil, 2018) mendapatkan 3,7% dari 9629 pasien yang datang kepada dermatologis di Brazil menderita melasma.⁶ Di India, kelainan pigmen merupakan penyakit nomor tiga terbanyak setelah eksema dan infeksi jamur.⁷ Penelitian oleh Adil dkk. (India, 2017) menunjukkan 10,42% dari 68.345 pasien mengeluhkan kelainan pigmentasi. Melasma dan hiperpigmentasi paska inflamasi adalah penyakit yang terbanyak, masing-masing 33,63% dan 12,52%.⁸

Satu penelitian retrospektif oleh Asditya dkk. (Surabaya, 2017) mendapatkan insiden melasma di RS dr. Soetomo Surabaya selama periode tahun 2012-2014 sebanyak 5%.⁹ Kelainan hiperpigmentasi yang sering terjadi Di RS M Djamil Padang pada tahun 2012-2015 adalah melasma (0,8%).¹⁰

Radiasi sinar UV pada kulit akan menyebabkan stimulasi mediator melanogenesis melalui tiga jalur sinyal yang berbeda, yaitu jalur sinyal siklik adenosin monofosfat (cAMP), jalur sinyal *Wingless-type* (Wnt), dan jalur sinyal *extracellular signal-regulated kinase* (ERK). Ketiga jalur tersebut akan mengaktifkan *microphthalmia-associated transcription factor* (MITF) yang akan memulai proses transkripsi pembentukan melanin dengan mengaktifkan beberapa enzim seperti *tyrosinase* (TYR), *tyrosinase related protein-1* (TYRP-1) dan *tyrosinase related protein-2* (TYRP-2).^{11,12} Terhambatnya aktifitas MITF oleh *depigmenting agent* akan menginhibisi kerja enzim melalui regulasi ekspresi gen TYR, TYRP-1 dan TYRP-2 sehingga laju proses melanogenesis juga dapat dihambat.¹¹

Pengobatan hiperpigmentasi menggunakan *depigmenting agent*, yaitu bahan yang dapat menghambat tahap-tahap dalam pigmentasi kulit.⁴ Salah satunya adalah penghambatan ekspresi gen enzim tirosinase pada proses transkripsi mRNA (*messenger ribonucleic acid*). Penurunan ekspresi gen melalui penghambatan 3 jalur sinyal cAMP, Wnt dan ERK akan mempengaruhi pembentukan melanin.¹³

Berbagai inhibitor tirosinase telah banyak diteliti dan digunakan sebagai *depigmenting agent*, seperti hidrokuinon, arbutin, asam kojik, asam azaleat, asam askorbat dan asam *ellagic*.⁵ Bahan-bahan tersebut memiliki efek samping

terutama jika digunakan dalam jangka waktu yang lama, dan sering terjadi relaps bila terapi dihentikan. Sedangkan asam askorbat dan asam *ellagic* sensitif terhadap panas sehingga mudah terdegradasi dan menyebabkan bioavailabilitasnya menurun¹⁴ Adanya berbagai masalah ini menyebabkan kebutuhan akan bahan alternatif *depigmenting agent* alami, aman dalam penggunaan jangka panjang menjadi lebih penting sehingga dicari upaya penggunaan ekstrak bahan alamiah untuk masalah hiperpigmentasi.¹⁵

Inhibitor tirosinase dapat berasal dari bahan alami dan sintetis. Bahan alami mengandung senyawa fenol dan sudah banyak digunakan pada berbagai produk kosmetik, sedangkan bahan sintetis berasal dari senyawa kimiawi dan sebagian dikembangkan dari bahan alami namun belum memiliki senyawa fenol.² Senyawa fenol alami banyak ditemukan dalam daun, batang dan bunga tanaman. Ekstrak tanaman dianggap aman dan memenuhi kriteria *Food and Drug Administration* (FDA) sehingga secara garis besar dianggap aman bila digunakan secara topikal. Kemampuan depigmentasi kulit oleh fenol bekerja dengan cara menghambat secara langsung aktivitas tirosinase pada proses melanogenesis.^{16,17}

Senyawa fenol yang paling banyak diteliti berasal dari teh hijau. Berdasarkan penelitian *in vitro*, teh hijau diketahui memiliki aktivitas *depigmenting agent* karena memiliki sejumlah senyawa polifenol yang mengandung katekin, yaitu *epicatechin gallate* (EGC), *epigallocatechin gallate* (EGCG) dan *gallocatechin gallate* (GCG).^{18,19} Katekin adalah suatu senyawa polifenol, yang mempunyai efek inhibitor tirosinase dan anti inflamasi.²⁰

Berbagai penelitian sudah dilakukan untuk membuktikan katekin mempunyai efek sebagai inhibitor tirosinase. Sato dkk. (Jepang, 2009) melakukan

penelitian efektivitas inhibitor tirosinase katekin pada sel melanoma B16, dan didapatkan katekin mempunyai aktifitas inhibitor tirosinase melalui penghambatan ekspresi gen tirosinase yang signifikan dalam menurunkan sintesis melanin.²¹ Penelitian evaluasi *in vivo* oleh Ali dkk. (Pakistan, 2012) pada ekstrak *Acacia nilotica* yang mengandung katekin didapatkan hasil signifikan dalam menurunkan jumlah melanin.²⁰

Penelitian lain oleh Ko dkk. (Korea, 2011) mengenai katekin yang diisolasi dari ekstrak etanol *Distylium racemosum*, didapatkan aktivitas inhibitor tirosinase katekin lebih tinggi dibandingkan arbutin yang dijadikan sebagai kontrol.²² Khan dkk. (Pakistan, 2013) melakukan penelitian dengan memberikan ekstrak tanaman *Cassia fistula* dan *Hippophae rhamnoides* yang mengandung katekin pada 50 pasien melasma dan disimpulkan bahwa ekstrak tanaman yang mengandung katekin signifikan dalam menurunkan jumlah melanin dibanding plasebo.²³

Selain teh hijau dan *acacia*, banyak tanaman yang mengandung katekin, salah satunya adalah gambir (*Uncaria Gambir Roxb*). Gambir merupakan tanaman yang mengandung katekin paling tinggi dibanding teh hijau dan *acacia*. Kandungan katekin gambir di Indonesia bervariasi, antara 40-80%, sedangkan katekin pada teh hijau 8,5-20,6%, teh hitam 0,74-10% dan *acacia* 9-12%.²⁴

Indonesia merupakan produsen utama gambir di dunia.²⁵ Sekitar 80% perdagangan gambir dunia berasal dari Indonesia dan sekitar 90% dari produksi gambir nasional diperoleh dari provinsi Sumatera Barat.²⁶ Industri pengolahan gambir terutama terdapat di Kabupaten Lima Puluh Kota dan Kabupaten Pesisir

Selatan. Standar Nasional Indonesia (SNI) gambir (01-3391-2000) berpatokan pada produk gambir yang dihasilkan dari sentra Sumatera Barat.²⁷

Ekstrak gambir diperoleh dari daun dan ranting muda.²⁸ Musdja (Jakarta, 2018) mengukur aktivitas antioksidan katekin gambir pada hewan percobaan tikus, didapatkan hasil aktivitas antioksidan gambir lebih tinggi dibanding vitamin E.²⁴ Anggraini dkk. (Jepang, 2011) melakukan penilaian aktivitas antioksidan gambir yang ada di Sumatera Barat. Hasil penelitian tersebut menyatakan bahwa gambir memiliki katekin dan mempunyai aktivitas antioksidan.²⁹

Penilaian uji aktivitas enzim tirosinase dapat menggunakan sumber enzim yang berasal dari jamur atau dari kultur sel yang memproduksi tirosinase. Banyak penelitian yang menggunakan tirosinase dari jamur karena murah dan mudah didapat, namun ekstrapolasi hasil penelitian ke manusia dapat memberikan hasil yang berbeda. Hal ini disebabkan karena terdapat perbedaan berbagai aspek antara tirosinase pada jamur dan pada manusia.^{11,30}

Beberapa protokol telah dikembangkan dalam menilai efektivitas inhibitor tirosinase intraselular atau kultur sel yang memproduksi melanin. Kultur sel yang sering digunakan adalah sel melanoma B16, yang merupakan suatu model kanker kulit manusia. Sel ini berasal dari tikus dengan melanoma dan bersifat imortal. *Cell line* melanoma merupakan sel yang paling banyak digunakan dalam menilai efek antimelanogenetik suatu ekstrak alami karena sel ini memiliki mekanisme dan morfologi melanogenik yang paling mirip dengan melanosit normal manusia serta mudah untuk dikultur secara *in vitro*.^{11,31,32} Hindritiani dkk (Bandung, 2013) menggunakan *cell line mouse* melanoma B16 dalam menilai efektivitas inhibitor tirosinase pada buah malaka.³³

Berbagai penelitian telah dilakukan dalam menilai aktivitas antioksidan katekin gambir, namun hingga saat ini penulis belum menemukan penelitian mengenai pengaruh pemberian katekin gambir terhadap ekspresi gen enzim tirosinase pada *cell line mouse* melanoma B16F10. Nilai ekspresi gen tersebut akan dibandingkan dengan *cell line mouse* melanoma B16F10 yang tidak mendapat perlakuan. Katekin yang digunakan didapat dari Labor Biota Sumatera Universitas Andalas. Katekin tersebut berasal dari gambir varietas Cubadak, Kabupaten Pesisir Selatan.

1.2. Rumusan masalah

Berdasarkan uraian di atas dapat dirumuskan masalah penelitian sebagai berikut:

Apakah terdapat perbedaan ekspresi gen enzim tirosinase pada *cell line mouse* melanoma B16F10 yang tidak mendapat perlakuan (kontrol) dengan yang mendapat perlakuan dengan pemberian katekin gambir (dengan berbagai konsentrasi)?

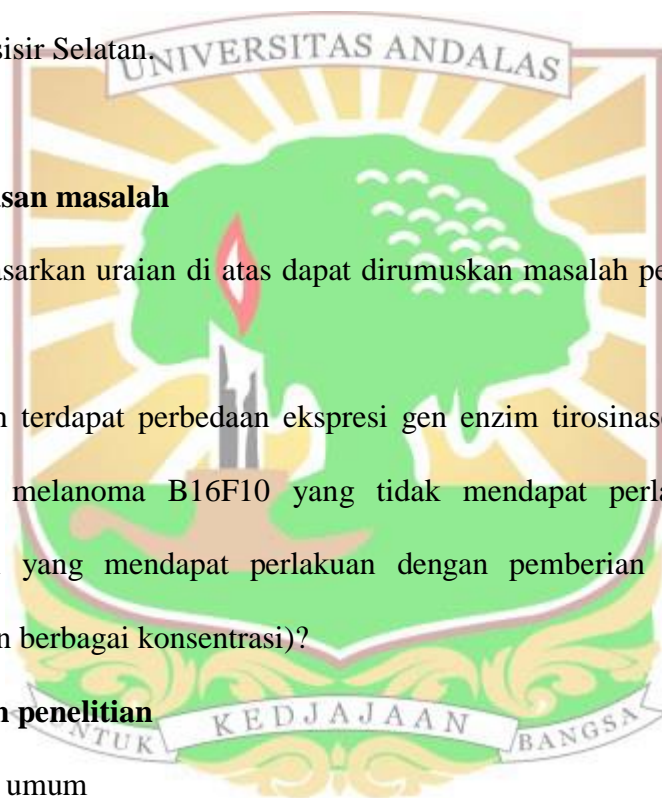
1.3. Tujuan penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Membuktikan katekin gambir berpengaruh terhadap ekspresi gen enzim tirosinase pada *cell line mouse* melanoma B16F10.

1.3.2 Tujuan khusus

Untuk mengetahui perbedaan ekspresi gen enzim tirosinase pada *cell line mouse* melanoma B16F10 antara kontrol dengan yang sesudah diberi katekin gambir (dengan berbagai konsentrasi).



1.4. Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat penelitian di bidang ilmu pengetahuan

1. Menambah pengetahuan tentang peranan katekin gambir dalam mempengaruhi ekspresi gen enzim tirosinase.
2. Apabila terbukti, hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai penelitian dasar dalam melakukan penelitian lanjutan seperti *in vivo*.

1.4.2 Manfaat untuk praktisi kesehatan.

Apabila terbukti, penelitian ini dapat menambah wawasan bahwa katekin gambir dapat mempengaruhi ekspresi gen enzim tirosinase dalam proses melanogenesis.

1.4.3 Manfaat untuk masyarakat

Apabila terbukti, dapat menambah pengetahuan bahwa ekstrak gambir dapat mempengaruhi pigmetasi kulit, namun masih diperlukan penelitian lebih lanjut.

