

Potensi Sinamaldehyd sebagai Anti Hiperpigmentasi secara *In Silico*

Cinnamaldehyde Potential as Anti-Hyperpigmentation by In Silico

Ni Made Gani Pratiwi^{1*}, Ni Made Atika Saraswati¹, Ni Made Irma Febby Prasasti Dewi¹,
Luh Pande Putu Tirta¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bali

Abstrak: Salah satu masalah kulit yang sering ditemui adalah hiperpigmentasi yang terjadi akibat adanya sintesis melanin berlebihan yang menyebabkan penggelapan warna kulit. Hiperpigmentasi dapat diatasi dengan agen anti hiperpigmentasi yang beraktivitas dalam menghambat proses sintesis melanin. Sintesis melanin dapat dihambat dengan berbagai cara salah satunya dengan menghambat aktivitas *tyrosinase*. *Tyrosinase* merupakan enzim yang berperan dalam mengkatalisis proses biosintesis melanin. Sinamaldehyd merupakan senyawa bahan alam yang banyak ditemukan pada tanaman *Cinnamomum burmanni* dan mempunyai aktivitas sebagai antioksidan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi sinamaldehyd dalam menghambat enzim *tyrosinase* yang akan dibandingkan dengan native ligannya secara *in silico*. Uji *in silico* dilakukan secara *docking molecular* dengan tahapan yaitu preparasi dan optimasi sinamaldehyd, preparasi *tyrosinase* serta validasi dan *docking*. Metode *docking molecular* telah dinyatakan valid karena RMSD (*root mean square distance*) yang diperoleh tidak lebih dari 3 Å. Analisis data dilakukan dengan melihat energi ikatan yang dihasilkan dan ikatan yang terbentuk antara senyawa dengan residu asam amino pada protein. Nilai energi ikatan yang diperoleh antara ikatan sinamaldehyd dengan *tyrosinase* adalah -6,21 kkal/mol. Sedangkan energi ikatan antara *tyrosinase* dengan native ligandnya -4,79 kkal/mol. Hal tersebut menunjukkan afinitas dari sinamaldehyd pada protein *tyrosinase* lebih besar dibandingkan native ligandnya, sehingga sinamaldehyd dikatakan memiliki potensi sebagai anti hiperpigmentasi dengan mekanisme molecular berupa inhibitor protein target *tyrosinase* sehingga dapat menghambat aktivitas enzim *tyrosinase*.

Kata Kunci: hiperpigmentasi, *in silico*, sinamaldehyd, *tyrosinase*.

Abstract: One of skin problem that is often encountered is hyperpigmentation which occurs due to excessive melanin synthesis which causes darkening of the skin colour. Hyperpigmentation can be treated with anti-hyperpigmentation agents which inhibit the melanin synthesis process. Melanin synthesis can be inhibited in various ways, one of which is by inhibiting *tyrosinase* activity. *Tyrosinase* is an enzyme that catalyzed the biosynthesis process of melanin. Cinnamaldehyde is an antioxidant. The purpose of this study is to know the potential of cinnamaldehyde in inhibiting *tyrosinase* which will be compared with its native ligand by *in silico*. The *in silico* test was carried out by *docking molecular* which consisted of preparation and optimization of cinnamaldehyde, preparation of *tyrosinase* as well as validation and *docking*. The molecular docking method has been declared valid because the RMSD (*root mean square distance*) obtained is not more than 3 Å. Data analysis was obtained by looking at the resulting bond energy and the bonds formed between the compounds and the amino acid residues in the protein. The bond energy score obtained between the cinnamaldehyde and *tyrosinase* bonds was -6.21 kcal/mol. Meanwhile, the bond energy between *tyrosinase* and its native ligand is -4.79 kcal/mol. This shows that the affinity of cinnamaldehyde on the *tyrosinase* protein is greater than the native ligand, so that it is said to have potential as an anti-hyperpigmentation with a molecular mechanism in the form of a *tyrosinase* target protein inhibitor in order to inhibit *tyrosinase* enzyme activity.

Keywords: cinnamaldehyde, hyperpigmentation, *in silico*, *tyrosinase*.

PENDAHULUAN

Paparan sinar ultraviolet (UV) dapat menghasilkan radikal bebas yang bersifat sangat

reaktif bagi tubuh. Paparan sinar UV dengan frekuensi yang sering dalam waktu yang relatif lama dapat menyebabkan terjadinya gangguan pada kulit.

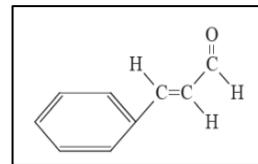
* email korespondensi: ganiptw@gmail.com

Proses pembentukan melanin dalam kulit merupakan upaya tubuh manusia untuk melindungi kulit dari aktivitas radiasi ultraviolet sinar matahari. Hiperpigmentasi yaitu suatu gangguan pada kulit karena produksi melanin yang berlebihan, sehingga terjadi penggelapan warna kulit (Wasitaatmadja, 2011). Penambahan melanin yang kurang merata menyebabkan adanya bercak hitam di bagian tertentu pada kulit (Cayce *et al*, 2004). Hiperpigmentasi kulit dapat diatasi dengan agen anti hiperpigmentasi yang beraktivitas dalam menghambat proses sintesis melanin. Sintesis melanin dapat dihambat dengan berbagai cara salah satunya dengan menghambat aktivitas *tyrosinase* (Woolery-Lloyd and Kammer, 2011). *Tyrosinase* merupakan suatu enzim yang memiliki peran mengkatalisis proses biosintesis melanin. *Tyrosinase* dapat mengkatalisis proses oksidasi asam amino *L-tirosin* menjadi *3,4 dihydroxyphenylalanine* (L-DOPA) dan selanjutnya dioksidasi menjadi dopakuinon (Hindritiani dkk., 2013). Dopakuinon diubah menjadi dopakrom melalui proses autooksidasi. Dopakrom kemudian diubah menjadi *5,6 dihidroksi indole-2-carboxy acid* (DHICA) oleh enzim *D-dopachrome tautomerase*. DHICA selanjutnya diubah oleh enzim *tyrosinase related protein 1* untuk membentuk eumelanin, kemudian dikonversi menjadi *Indole-5,6-quinone carboxylic acid* sehingga dapat mensintesis eumelanin merupakan melanin yang berwarna coklat mengakibatkan penggelapan kulit (Gillbro and Olsson, 2011). Penghambatan enzim melanogenesis menyebabkan proses pembentukan melanin terhambat sehingga dapat mengatasi permasalahan penggelapan kulit.

Hiperpigmentasi dapat diatasi dengan beberapa cara seperti penggunaan produk pencerah kulit. Beberapa bahan pencerah kulit yang memiliki aktivitas menghambat *tyrosinase* adalah asam kojat, asam salisilat, arbutin, hidrokuinon, asam sinamat, vitamin C, dan arbutin. Namun demikian, senyawa-senyawa tersebut memiliki efek samping yang dapat timbul yaitu asam kojat yang memiliki efek samping dermatitis kontak, iritasi, dan eritema. Penggunaan hidrokuinon menimbulkan permasalahan efek samping seperti iritasi, eritema, okronosis, ruam, pruritik, rasa terbakar hingga bersifat mutagenik

(Woolery-Lloyd and Kammer 2011; Gajjala *et al.* 2016). Oleh karena itu, perlu dilakukan pengembangan senyawa antihiperpigmentasi yang nantinya dapat menjadi pilihan bagi produsen obat dan kosmetik dalam mengatasi hiperpigmentasi maupun perkembangan produk kosmetik pencerah kulit.

Bahan alam yang dapat dimanfaatkan sebagai agen anti hiperpigmentasi yaitu tanaman kayu manis yang termasuk spesies *Cinnamomum burmanii* yang merupakan tumbuhan berkayu yang dimanfaatkan sebagai rempah-rempah (Emilda, 2018). Berdasarkan kromatografi cair kinerja tinggi sebanyak 50 gram kayu manis terdapat senyawa eugenol yang memiliki kandungan sebesar 3,11 %, sedangkan analisis komponen senyawa pada kayu manis menggunakan instrumen GC-MS (*Gas Chromatography-Mass Spectroscopy*) ditemukan senyawa coumarin sebesar 53,46% serta senyawa sinamaldehyd sebesar 90,24%. Sinamaldehyd merupakan senyawa yang termasuk golongan polifenolat dan turunan dari aldehyd.



Gambar 1. Struktur Kimia Sinamaldehyd (Emilda, 2018).

Sinamaldehyd adalah bahan aktif yang mampu melawan radikal bebas sehingga dapat digunakan sebagai antioksidan. Adanya aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh sinamaldehyd maka terdapat kemungkinan bahwa sinamaldehyd berpotensi sebagai agen anti hiperpigmentasi. Dengan demikian, pada penelitian ini dilakukan *molecular docking* sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui aktivitas sinamaldehyd sebagai agen anti hiperpigmentasi dengan menghambat aktivitas dari enzim *tyrosinase*.

METODE PENELITIAN

Alat Dan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi struktur 3 dimensi dari sinamaldehyd yang dibuat dan dipreparasi pada program Hyperchem 8.

Sampel struktur protein target *tyrosinase* (PDB ID: 2Y9X), yang diunduh dari <http://www.rcsb.org>. Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu seperangkat komputer dengan spesifikasi *Windows 10* 64-bit dengan program *Hyperchem 8* untuk preparasi dan optimasi senyawa uji sinamaldehyd, *Hyperchem 8* merupakan versi terbaru perangkat lunak *Hyperchem* dengan kemampuan untuk berinteraksi dengan program lain seperti *Microsoft Word* dan *Microsoft Excel*. *Chimera 1.11* untuk preparasi protein target, dan Aplikasi *AutoDock Tools* dilengkapi program *Autodock 4.2* dan *Autogrid* untuk *molecular docking*.

Prosedur Penelitian

Beberapa tahapan dalam prosedur penelitian yaitu: Disiapkan database senyawa uji sinamaldehyd yang dibuat, dipreparasi dan dioptimasi pada program *Hyperchem 8*, serta database struktur 3 dimensi protein target yakni *Tyrosinase* (PDB ID: 2Y9X) diakses dari <http://www.rcsb.org>. Protein target dipreparasi menggunakan *Chimera 1.11*. Validasi metode *molecular docking* dilakukan dengan *re-docking native ligand* dengan protein yang telah dipisahkan. Tahap terakhir dilakukan analisis data meliputi nilai jenis ikatan hidrogen dan energi ikatan yang terbentuk.

a. Optimasi Sinamaldehyd

Struktur 3 dimensi senyawa sinamaldehyd dibuat dan dioptimasi dengan menggunakan program *Hyperchem 8* lengkap dengan atom hidrogennya. Optimasi struktur 3 dimensi senyawa sinamaldehyd menggunakan metode kalkulasi dengan *single point*. komputasi semi-empiris AM1 serta optimasi geometri.

b. Preparasi Protein Target

Protein target enzim melanogenesis yaitu *tyrosinase* dipilih strukturnya dalam bentuk aktifnya yaitu dapat berikatan dengan *native ligand*. Preparasi protein target diawali dengan menghilangkan molekul air (H_2O). Tahap selanjutnya dipisahkan *native ligand* pada protein target menggunakan program *Chimera 1.11.1*. Tujuan penghilangan *native ligand* ini adalah untuk memberikan ruang (*pocket cavity*), sehingga koordinat *pocket* dan *binding site center* digunakan

untuk bahan *docking* dapat diketahui. *Native ligand* yang telah terpisah tersebut digunakan untuk validasi metode.

c. Validasi Metode

Validasi metode *molecular docking* menggunakan program *Auto Dock Tools 1.5.6*. validasi metode dilakukan dengan *re-docking native ligand* dari masing-masing protein target yang dipisahkan *native ligand*-nya. Parameter yang digunakan untuk memvalidasi metode *molecular docking* adalah nilai RMSD (*Root mean square distances*) dengan rumus:

$$RMSD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (x_i - \hat{x}_i)^2}{N}}$$

RMSD = root-mean-square deviation
i = variable *i*
N = number of non-missing data points
x_i = actual observations time series
 \hat{x}_i = estimated time series

Hasil *docking* dimana metode dinyatakan valid jika nilai $RMSD \leq 3,0 \text{ \AA}$ (Laksmiani and Nugraha, 2019). Setelah metode yang digunakan valid, *docking* senyawa uji pada protein target dapat dilakukan.

d. Docking Sinamaldehyd

Senyawa uji sinamaldehyd yang telah teroptimasi selanjutnya di-*docking*-kan para protein target yang telah dipreparasi (dihilangkan *native ligand*-nya) dengan menggunakan metode yang tervalidasi. *Docking* dilakukan dengan menggunakan program Aplikasi *AutoDock Tools* dilengkapi program *Autodock 4.2* dan *Autogrid*. Hasil yang diperoleh dari proses *docking* sinamaldehyd pada protein target ini adalah nilai jenis ikatan hidrogen dan energi ikatan yang terbentuk, kemudian dilakukan analisis terhadap hasil yang diperoleh

e. Analisis Data

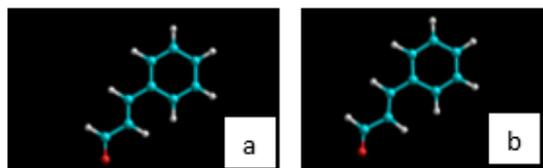
Analisis data yang dilakukan dengan metode deskriptif. Hasil *molecular docking* yang didapat yaitu jenis ikatan hidrogen dan energi ikatan yang terbentuk antara senyawa dengan protein target. Jenis ikatan hidrogen yang terbentuk antara *sinamaldehyd* dengan protein target digunakan untuk analisis mekanisme model interaksi yang terbentuk antara senyawa uji sinamaldehyd dengan

residu asam amino dari protein target. Sedangkan energi ikatan yang diperoleh digunakan untuk analisis afinitas dari sinamaldehyd terhadap protein target tirosinase. Hasil energi ikatan yang negatif menunjukkan bahwa senyawa memiliki afinitas terhadap protein target sedangkan apabila bernilai positif maka senyawa uji tidak memiliki afinitas terhadap protein target ataupun memiliki afinitas yang sangat lemah. Hasil energi ikatan yang diperoleh dari sinamaldehyd dibandingkan untuk mengetahui potensi sinamaldehyd sebagai anti hiperpigmentasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Optimasi Struktur 3D Senyawa Sinamaldehyd

Struktur 3 dimensi dari sinamaldehyd dilakukan preparasi dan optimasi terlebih dahulu dengan menggunakan aplikasi Hyperchem 8 untuk mendapatkan struktur yang lebih stabil, yang ditandai dengan energi total yang rendah. Proses ini berfungsi untuk menurunkan energi ikatan pada senyawa sehingga didapatkan struktur yang stabil. Program *Hyperchem 8* menggunakan metode perhitungan mekanika kuantum *ab initio* dan semi empiris. Metode semi empiris memiliki tingkat akurasi yang lebih tinggi saat menghitung nilai eksperimen dan waktu pengoperasiannya lebih cepat daripada metode *ab initio*. Pada penelitian ini digunakan metode semi empiris AM1 (Austin Model 1) karena model AM1 adalah model semi empiris yang mampu menghitung optimasi geometri, sifat elektronik dan energi total dari model yang bersangkutan dan memiliki kemampuan memperkirakan gugus H lebih baik dibandingkan metode lainnya (Hypercube, 2002).



Gambar 2. Optimasi Struktur Sinamaldehyd.

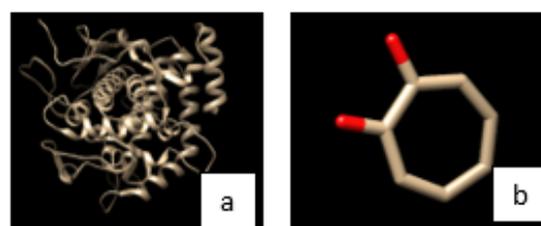
- a) Energi ikatan: -2003,645662 kkal/mol
- b) Energi ikatan: -2009,1472 kkal/mol

Proses optimasi struktur 3 dimensi sinamaldehyd meliputi perhitungan single point yang

kemudian dilanjutkan dengan optimasi geometri. Kalkulasi single point adalah perhitungan yang digunakan untuk menentukan energi total molekul dari struktur tanpa suatu proses optimasi struktur senyawa uji. Optimasi geometri adalah suatu proses untuk penurunan energi total sehingga diperoleh struktur senyawa uji yang paling stabil, dari struktur senyawa uji (Adnyani *et al.*, 2019). Energi total pada proses single point yang diperoleh adalah -2003.645662 kkal/mol sedangkan besar energi hasil optimasi geometri yang diperoleh adalah -2009.1472 kkal/mol. Dilihat dari kedua hasil tersebut menunjukkan bahwa energi total pada optimasi geometri lebih besar dibandingkan energi total pada kalkulasi single point.

Preparasi Protein Target

Preparasi dilakukan terhadap struktur 3D protein target yaitu tirosinase. Tujuan dari dilakukannya preparasi protein adalah untuk memperoleh struktur protein target tanpa *native ligand* yang akan digunakan dalam proses validasi metode. Preparasi protein target pada penelitian ini dilakukan dengan menggunakan aplikasi Chimera 1.11. 4 rantai yang dimiliki oleh protein *tyrosinase* dengan PDB ID: 2Y9X yaitu rantai A, B, C, dan D. Dari keempat rantai tersebut memiliki semua memiliki *native ligand* yang sama yaitu tropolone (OTR) dengan rumus molekul $C_7H_6O_2$. OTR memiliki aktivitas sebagai inhibitor tirosinase (Ismaya *et al.*, 2011). Penelitian ini menggunakan satu rantai untuk preparasi yaitu rantai A dengan *native ligand* OTR. Hasil dari preparasi protein ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 3. (a). tyrosinase tanpa ligan. (b) native ligan tropolone (OTR)

Validasi Metode

Validasi metode merupakan suatu penilaian terhadap parameter untuk menentukan bahwa nilai parameter tersebut memenuhi persyaratan dalam

penggunaanya, sehingga hasil analisis oleh metode tersebut dapat dipercaya. Parameter yang digunakan dalam menentukan validitas dari suatu metode docking adalah nilai RMSD (Root Mean Square Distances). Batas nilai nilai RMSD yang dapat diterima yaitu $\leq 3 \text{ \AA}$ (Jain and Nicholls, 2008). Validasi metode molecular docking dilakukan dengan menggunakan aplikasi AutoDockTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan program Autodock4 dan Autogrid4.

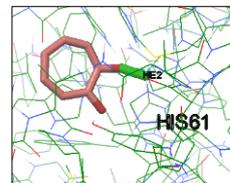
Proses validasi metode molecular docking menggunakan AutoDockTools diawali dengan menginput struktur protein target ke dalam aplikasi, kemudian dilakukan penambahan atom hidrogen pada protein target tersebut. Penambahan atom hidrogen ini bertujuan untuk menambahkan valensi molekul sehingga keadaan optimum ikatan hidrogen dari protein (Morris *et al.*, 2009). Tahapan selanjutnya adalah dilakukan pengaturan grid box. Pengaturan grid box dilakukan dengan menyesuaikan ukuran koordinat grid center dan grid size sehingga dapat mempersingkat eksplorasi koordinat antara protein dengan ligand dalam mengevaluasi posisi optimasi ikatan pada sisi aktif protein (Feinstein, W. P., 2015). Pengaturan grid box meliputi pengaturan posisi dan dimensi x, y, dan z koordinat interaksi antara *native ligand* dengan protein target. Nilai koordinat grid box untuk validasi metode dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Validasi Metode

Konformasi	Energi Ikatan (kkal/mol)	RMSD (\AA)	Asam Amino yang Berikatan	Ikatan Hidrogen
1	-4.84	2.19	HIS61	HE2-OA2
2	-4.81	2.16	HIS61	HE2-OA2
3	-4.82	2.18	HIS61	HE2-OA2
4	-4.81	2.21	HIS61	HE2-OA2
5	-4.79	2.06	HIS61	HE2-OA2
6	-4.82	2.19	HIS61	HE2-OA2
7	-4.80	2.17	HIS61	HE2-OA2
8	-4.82	2.19	HIS61	HE2-OA2
9	-4.83	2.18	HIS61	HE2-OA2
10	-4.84	2.16	HIS61	HE2-OA2

Hasil validasi metode *molecular docking* yaitu nilai RMSD yang diperoleh untuk protein tyrosinase 2.06 \AA , konformasi yang digunakan pada tyrosinase adalah konformasi 5. Berdasarkan nilai RMSD yang diperoleh, diketahui bahwa metode yang digunakan dapat dikatakan valid dikarenakan nilai

RMSD $\leq 3 \text{ \AA}$, sehingga proses *docking* sinamaldehyd dapat dilakukan yang diperoleh.



Gambar 4. Visualisasi Hasil Validasi Metode Konformasi 5

Docking Sinamaldehyd pada Protein Target

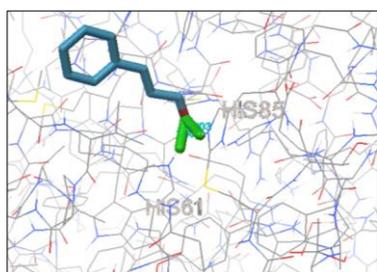
Docking senyawa sinamaldehyd yang telah dioptimasi pada *tyrosine* dilakukan dengan menggunakan aplikasi AutoDockTools 1.5.6 yang dilengkapi dengan program Autodock4 dan Autogrid4. Senyawa yang digunakan untuk *docking* dengan *tyrosinase* yaitu sinamaldehyd yang memiliki protensi sebagai anti hiperpigmentasi. Proses docking senyawa sinamaldehyd pada protein target memperoleh hasil berupa nilai jenis ikatan hidrogen dan energi ikatan yang terbentuk antara sinamaldehyd dengan protein target.

Nilai energi ikatan yang diperoleh antara ikatan sinamaldehyd dengan *tyrosinase* adalah -6,21 kkal/mol. Energi ikatan yang negatif telah memberikan gambaran bahwa sinamaldehyd dapat berinteraksi dengan protein target. Energi ikatan yang dihasilkan sinamaldehyd lebih negatif dibandingkan dengan ikatan *tyrosinase* dengan *native ligand*nya yaitu sebesar -4,79 kkal/mol yang menandakan bahwa afinitas sinamaldehyd terhadap *tyrosinase* lebih besar dibandingkan *native ligand*. Selain nilai energi ikatan, data yang diperoleh dari hasil docking sinamaldehyd dengan protein target yaitu ikatan hidrogen yang terbentuk antara senyawa dengan residu asam amino pada protein. Visualisasi interaksi antara sinamaldehyd dengan *tyrosinase* dapat dilihat pada Tabel 2. Ikatan anatar *native ligand* dengan *tyrosinase* memiliki memiliki satu ikatan hydrogen yang berikatan pada residu asam amino HIS61. Senyawa uji sinamaldehyd dengan *tyrosinase* juga membentuk ikatan hydrogen yang melibatkan residu asam amino HIS61 dan HIS85. Adanya kesamaan residu asam amino yang terlibat antara sinamaldehyd dan *native ligand* dengan protein target menunjukkan bahwa

sinamaldehyd mampu menempati posisi yang sama dengan *native ligand* sehingga memiliki aktivitas yang sama seperti *native ligand* dalam menghambat *tyrosinase*.

Tabel 2. Hasil Docking Sinamaldehyd dengan Tyrosinase

Konformasi	Energi Ikatan (kcal/mol)	Asam Amino yang Berikatan	Ikatan Hidrogen
1	-6.20	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
2	-6.21	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
3	-6.20	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
4	-6.20	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
5	-6.20	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
6	-6.20	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
7	-6.20	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
8	-6.20	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
9	-6.20	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O
10	-6.21	HIS61 HIS85	HE2-O HE2-O



Gambar 5. Visualisasi Hasil Docking pada Konformasi 2

Berdasarkan dari energi ikatan yang dihasilkan, energi ikatan antara sinamaldehyd dengan *tyrosinase* bernilai negative sehingga memiliki afinitas terhadap *tyrosinase* dan berpotensi menghambat *tyrosinase* (Chang, 2009). Perbandingan hasil docking sinamaldehyd dengan *native ligand* yang memiliki aktivitas menghambat *tyrosinase* menunjukkan binding site yang sama sehingga sinamaldehyd memiliki potensi sebagai inhibitor dari *tyrosinase*.

SIMPULAN

Sinamaldehyd memiliki afinitas terhadap *tyrosinase* dan menghasilkan energi ikatan yang negatif. Berdasarkan hasil docking sinamaldehyd memiliki potensi sebagai antihiperpigmentasi secara *in silico* dengan menghambat enzim *tyrosinase*.

DAFTAR PUSTAKA

- Adnyani, K. D. *et al.* (2019) 'AKTIVITAS DARI KUERSETIN SEBAGAI AGEN PENCERAH KULIT SECARA IN SILICO', *Jurnal Kimia (Journal of Chemistry)*, pp. 207–212. doi: 10.24843/JCHEM.2019.V13.I02.P14.
- Cayce, K. A., Amy, J. M. and Steven, R. F. (2004) 'Hyperpigmentation: An Overview of the Common Afflictions', *Dermatol Nurs*, 16(5), pp. 401–416.
- Chang, T. S. (2009) 'An updated review of tyrosinase inhibitors', *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6), pp. 2440–2475. doi: 10.3390/ijms10062440.
- Emilda (2018) 'Efek Senyawa Bioaktif Kayu Manis *Cinnamomum burmanii* NEES EX.BL.) Terhadap Diabetes Melitus: Kajian Pustaka', *Jurnal Fitofarmaka*, 5(1), pp. 246–252.
- Feinstein, W. P., & M. B. (2015) 'No Title Calculating an Optimal Box Size for Ligan Docking and Virtual Screening Against Experimental and Predicted Binding Pockets', *Journal of Cheminformatics*, 7(18), pp. 1–10.
- Gajjala, S. *et al.* (2016) 'The comparative study of Hydroquinone and kojic acid in treatment of Melasma in Shadan Institute of Medical Science Teaching Hospital and Research Centre, Himayathsagar road, Hyderabad (Telangana State)', *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS) e-ISSN*, 15(11), pp. 1–05. doi: 10.9790/0853-1511050105.
- Gillbro, J. M. and Olsson, M. J. (2011) 'The melanogenesis and mechanisms of skin-lightening agents - Existing and new approaches', *International Journal of Cosmetic Science*, 33(3), pp. 210–221. doi: 10.1111/j.1468-2494.2010.00616.x.

- Hypercube (2002) *Hyperchem Release 7: Tools for Molecular Modelling*. Canada: Hypercube Incorporation.
- Ismaya, W. T. *et al.* (2011) 'Crystal Structure of *Agaricus bisporus* Tyrosinase', *Biochemistry*, 50, pp. 5477–5486.
- Jain, A. N. and Nicholls, A. (2008) 'Recommendations for evaluation of computational methods', *Journal of Computer-Aided Molecular Design*, 22(3–4), pp. 133–139. doi: 10.1007/s10822-008-9196-5.
- Laksmiani, N. P. L. and Nugraha, I. P. W. (2019) 'Depigmentation activity of secang (*Caesalpinia sappan* L.) Extract through tyrosinase, tyrosinase related protein-1 and dopachrome tautomerase inhibition', *Biomedical and Pharmacology Journal*, 12(2), pp. 799–808. doi: 10.13005/bpj/1703.
- Morris, G. M. *et al.* (2009) 'AutoDock4 and AutoDockTools4: Automated docking with selective receptor flexibility', *Journal of Computational Chemistry*, 30(16), pp. 2785–2791. doi: 10.1002/jcc.21256.
- Wasitaatmadja, S. . (2011) *Dermatologi Kosmetik*. Edisi Kedu. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas. Indonesia.
- Woolery-Lloyd, H. and Kammer, J. N. (2011) 'Treatment of Hyperpigmentation', *Seminars in Cutaneous Medicine and Surgery*, 30(3), pp. 171–175. doi: 10.1016/j.sder.2011.06.004.