



Tyrosinase Inhibitor Activity Measurement of Crude and Purified Extract of Moringa Leaves (*Moringa oleifera* L.)

Zainal Abidin*, Ummu Khaeriah, Zuhrina, Mamat Pratama, Muzakkir Baits

Universitas Muslim Indonesia, Makassar, Indonesia

Submitted 11 Oktober 2018; Revised 3 Desember 2018; Accepted 14 Januari 2019; Published 31 Maret 2019

*Corresponding author: zainal.abidin@umi.ac.id

Abstract

Moringa leaves is one of the plants that have antioxidant activity. The compounds that have strong antioxidant activity also have strong antityrosinase activity. Moringa leaves contain flavonoid compounds that can inhibit tyrosinase activity in the melanin formation process. This study aimed to determine tyrosinase inhibitor activity of crude and purified extract of moringa leaves (*Moringa oleifera* L.). Tyrosinase inhibitory activity measurement was done by *in vitro* studies with measuring dopachrome from the oxidation of L-tyrosine in the mechanism of melanogenesis. The crude extract obtained by use maceration extraction method and ethanol solvent, whereas the purified extract obtained by use liquid-liquid extraction method and ethyl acetate solvent. The results showed that hydroquinone has IC_{50} value of 18,234 $\mu\text{g/mL}$ while crude extract of moringa leaves shows IC_{50} value of 4405,24 $\mu\text{g/mL}$ and purified extract of moringa leaves shows IC_{50} value of 401,6228 $\mu\text{g/mL}$. Purified extract of moringa leaves more active as tyrosinase inhibitor than its crude extract but less active than hydroquinone.

Keywords: Moringa leaves, Purified extract, Tyrosinase Inhibitor, UV Rays

Penentuan Aktivitas Penghambat Tirosinase Dari Ekstrak Kasar Dan Ekstrak Terpurifikasi Daun Kelor (*Moringa oleifera* L.)

Abstrak

Daun kelor merupakan salah satu tanaman yang memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan yang kuat juga memiliki aktivitas antityrosinase yang kuat. Daun kelor mengandung senyawa flavonoid yang dapat menghambat aktivitas tirosin dalam proses pembentukan melanin. Tujuan penelitian ini untuk menentukan aktivitas penghambatan tirosinase dari ekstrak kasar dan ekstrak terpurifikasi daun kelor (*Moringa oleifera* L.). Pengukuran aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan secara *in vitro* dengan pengukuran dopakrom dari oksidasi L-tirosin pada mekanisme melanogenesis. Ekstrak kasar didapat dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi dan pelarut etanol, sedangkan ekstrak terpurifikasi didapat dengan menggunakan metode ekstraksi cair-cair dan pelarut etil asetat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hidrokuinon mempunyai nilai IC_{50} sebesar 18,234 $\mu\text{g/mL}$, sementara ekstrak kasar daun kelor menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 4405,24 $\mu\text{g/mL}$ dan ekstrak terpurifikasi daun kelor menunjukkan nilai IC_{50} sebesar 401,6228 $\mu\text{g/mL}$. Ekstrak terpurifikasi daun kelor lebih aktif sebagai penghambat tirosinase dari pada ekstrak kasarnya tapi lebih kurang aktif dari pada hidrokuinon.

Kata kunci: Daun Kelor, Ekstrak terpurifikasi, Penghambat tirosinase, Sinar UV

1. Pendahuluan

Melanin merupakan pigmen warna kulit, yang diproduksi pada sel melanosit dan didistribusikan di antara keranosit pada lapisan dasar epidermis kulit¹. Pembentukan melanin akan lebih cepat apabila enzim tirosinase dalam keadaan aktif, akan tetapi keberadaan melanin pada kulit sangat mempengaruhi warna kulit, di mana warna kulit yang cerah merupakan dambaan banyak orang, namun jika pembentukan melanin berlebih dan terdistribusi tidak merata dapat menyebabkan hiperpigmentasi seperti; wajah tampak lebih gelap dan timbul noda hitam¹⁻³.

Sintesis melanin dimulai dengan oksidasi asam amino (L-Tirosin) menjadi L-DOPA oleh enzim tirosinase dan kemudian mengoksidasi L-DOPA menjadi dopaquinon. Dopaquinon yang terbentuk bereaksi secara spontan membentuk dopakrom dan kemudian membentuk melanin⁵. Enzim tersebut dapat dihambat dengan penghambat (inhibitor) tirosinase, dimana inhibitor ini dikatalis oleh tirosinase dan membentuk ikatan kovalen sehingga enzim menjadi tidak aktif selama reaksi katalitik berlangsung⁵.

Hidrokinon merupakan bahan kosmetik yang dapat menghambat pembentukan melanin dan memutihkan kulit. Tetapi penggunaan dalam jangka panjang dapat menyebabkan ookeronosis yaitu kulit berbintil dan berwarna coklat kebiruan, serta terasa seperti terbakar dan gatal⁶. Oleh karena itu sangat perlu untuk mencari bahan alternatif dari bahan alam seperti tumbuhan yang digunakan sebagai inhibitor tirosinase. Kandungan flavonoid pada tumbuhan yang merupakan senyawa aktif sebagai inhibitor tirosinase. Senyawa flavonoid memiliki aktivitas inhibitor tirosinase dan pengkelat Cu, di mana gugus hidroksil pada cincin A dan B yang menghambat kerja enzim tirosinase⁵. Selain itu, tanaman yang mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat juga memiliki aktivitas antitirosinase yang kuat⁷.

Salah satu sumber antioksidan alami yaitu daun tanaman kelor (*Moringa oleifera* L.). Daunnya telah diuji mengandung tanin, steroid dan triterpenoid, flavonoid, saponin, antarquinon, dan alkaloid⁸. Salah

satu golongan flavonoid yang dimiliki kelor (*Moringa oleifera* L.) yaitu kuersetin, dimana kuersetin merupakan antioksidan yang lebih kuat dari vitamin C dan E⁹. Di mana ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* L.) memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat dengan nilai IC₅₀ sebesar 22,1818 ppm¹⁰. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui aktivitas inhibitor tirosinase dari ekstrak kasar dan terpurifikasi dari daun kelor.

2. Metode

2.1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini Bejana Maserasi, Mikropipet (Eppendorf), Oven (Mettler®), pH meter (Schot), Spektrofotometer UV-Vis (Apel), dan Timbangan analitik (Sortorius),

2.2. Bahan

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini yaitu Etanol 96%, Larutan dapar fosfat pH 6,8, DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*), dan L-tirosin yang dibeli dari PT Merck, serta Enzim tirosinase yang dibeli dari PT Sigma. Sampel daun kelor (*Moringa oleifera* L.) yang diperoleh di Kelurahan Talaka, Kecamatan Bonto-bonto, Kabupaten Pangkajene dan Kepulauan, Provinsi Sulawesi Selatan.

2.3. Prosedur

a. Ekstrak Kasar

Simplisia daun kelor sebanyak 40 gram diekstraksi dengan etanol 96% dengan



Gambar 1. Sampel Daun kelor

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Ekstrak Kasar dan Terpurifikasi

Jenis Ekstrak	Berat Sampel (g)	Berat Ekstrak (g)	% Rendemen
Ekstrak Kasar	40	9,33	23,325 %
Ekstrak Terpurifikasi	3	0,730	24,284 %

metode maserasi. Ekstraksi dilakukan dengan pengadukan dan perendaman selama 24 jam, kemudian dilakukan penyaringan dengan corong dan kertas saring untuk memisahkan filtrat dari residu. Residu yang diperoleh dimeserasi dengan etanol beberapa kali hingga proses ekstraksi sudah dianggap sempurna. Hal ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Filtrat diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental, lalu dihitung rendemen yang diperoleh¹¹.

b. Ekstrak Terpurifikasi

Ekstrak kasar sebanyak 3 gram dimasukkan ke dalam 30 mL air mendidih kemudian didinginkan dalam kulkas selama 12 jam. Setelah itu disaring dan diekstraksi cair-cair dengan etil asetat : aquades (masing-masing 30 : 30 mL). Ekstrak etil asetat terpurifikasi diuapkan hingga diperoleh ekstrak kental. Kemudian dihitung rendemen yang diperoleh¹²⁻¹⁴.

c. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan dapar fosfat pH 6,8 sebanyak 0,9 mL dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan sebanyak 0,1 mL enzim tirosinase 0,93 u/mL lalu ditambahkan 2 mL larutan substrat L-Tirosin 1,3 mM, kemudian dihomogenkan. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit dan serapannya diukur pada panjang gelombang 450 - 485 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

d. Optimasi Waktu Inkubasi

Larutan dapar fosfat pH 6,8 sebanyak 0,9 mL dimasukkan ke dalam vial, ditambahkan sebanyak 0,1 mL enzim tirosinase 0,93 u/mL lalu ditambahkan 2 mL larutan substrat

L-Tirosin 1,3 mM, kemudian dihomogenkan. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu kamar dan serapannya diukur setiap 30 menit, pada panjang gelombang 480 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

e. Uji Aktivitas Inhibitor Tirosinase

Metode yang digunakan dengan sedikit modifikasi. Masing-masing konsentrasi larutan hidroquinon sebagai pembanding (10, 12, 14, 16, 18, dan 20 ppm) dalam campuran DMSO (Dimethyl Sulfoxide) dan air (1 : 1) dan masing-masing konsentrasi larutan ekstrak kasar dan terpurifikasi daun kelor dalam campuran DMSO dan air (1 : 1) (100, 300, 500, dan 700 ppm), digunakan sebanyak 0,9 mL, ditambahkan sebanyak 0,1 mL enzim tirosinase 0,93 u/mL lalu ditambahkan 2 mL larutan substrat L-Tirosin 1,3 mM, kemudian dihomogenkan. Campuran tersebut diinkubasi selama 2,5 jam pada suhu kamar, serapan diukur dengan pada panjang gelombang 480 nm. Masing-masing sampel memiliki blanko pelarut yaitu campuran DMSO dan air (1:1) sebanyak 0,9 mL ditambahkan dengan L-Tirosin sebanyak 2 mL, lalu ditambahkan dengan enzim tirosinase sebanyak 0,1 mL kemudian diinkubasi selama 2,5 jam dan blanko sampel yaitu DMSO 1:1 sebanyak 0,9 mL ditambahkan dengan L-Tirosin sebanyak 2 mL, lalu ditambahkan dengan dapar fosfat sebanyak 0,1 mL kemudian diinkubasi selama 2,5 jam^{15,16}.

f. Analisis Data

Persentase hambatan tirosinase dihitung sebagai berikut¹⁵:

$$\text{Hambatan Tirosinase (\%)} = [(A \text{ kontrol} - (A \text{ sampel} - A \text{ kontrol sampel})) / A \text{ Kontrol}] \times 100\%$$

Keterangan

A kontrol : L-Tirosine + DMSO 1:1 + Enzim Tirosinase

A Sampel : Sampel + L-Tirosine + Enzim Tirosinase

A kontrol sampel : Sampel + L-Tirosine + Dapar Fosfat

Selanjutnya dihitung IC_{50} yaitu Konsentrasi ekstrak terpurifikasi dalam mg/L

Tabel 2. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang

Konsentrasi (ppm)	Absorban (A)
450	0,394
460	0,415
470	0,427
475	0,430
480	0,431
485	0,430

Tabel 3. Hasil Pengukuran Waktu Optimasi Inkubasi

Waktu Inkubasi (jam)	Absorban (A)
1	0,275
2	0,435
2,5	0,440
3	0,431
3,5	0,420

yang mampu menghambat sebanyak 50 %.

3. Hasil

3.1. Hasil Ekstraksi Ekstrak Kasar dan Ekstrak Terpurifikasi

Tabel 1, memperlihatkan hasil ekstraksi dari ekstrak kasar dengan penyari etanol, dan ekstrak terpurifikasi dengan penyari etil asetat. Untuk ekstrak kasar diperoleh dari simpilia sebanyak 40 gram yang diekstraksi dengan etanol dan didapatkan 9,33 gram ekstrak kasar, sehingga persen rendamennya 23,325%, dan untuk ekstrak terpurifikasi diperoleh dari ekstrak kasar sebanyak 3 gram yang diekstraksi dengan etil asetat dan didapatkan 0,730 gram ekstrak terpurifikasi, sehingga persen rendamennya 24,284%.

3.2. Hasil Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum Pengujian Aktivitas Antitirozinase

Tabel 2, memperlihatkan hasil pengukuran panjang gelombang maksimum pengujian aktivitas antitirozinase, pada berbagai panjang gelombang, dan didapatkan hasil absorban tertinggi pada panjang

gelombang 480 nm.

3.3. Pengukuran Waktu Optimasi Inkubasi Pengujian Aktivitas Antitirozinase

Tabel 3, memperlihatkan hasil pengukuran waktu optimal inkubasi pengujian aktivitas antitirozinase, pada beberapa waktu inkubasi dan didapatkan absorban tertinggi pada waktu inkubasi selama 2,5 jam.

3.4. Hasil Pengujian Aktivitas Antitirozinase Perbandingan Hidrikuinon

Tabel 4, memperlihatkan hasil pengujian aktivitas antitirozinase dari hidrokuinon, pada berbagai konsentrasi dengan nilai IC_{50} 18,234 $\mu\text{g/mL}$.

3.5. Hasil Pengujian Aktivitas Antitirozinase Ekstrak Kasar

Tabel 5, memperlihatkan hasil pengujian aktivitas antitirozinase dari ekstrak kasar, pada berbagai konsentrasi dengan nilai IC_{50} 4.405,24 $\mu\text{g/mL}$.

3.6. Hasil Pengujian Aktivitas Antitirozinase Ekstrak Terpurifikasi

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Inhibitor Perbandingan Hidrikuinon

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)	% Inhibisi	Persamaan Linear	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
kontrol	0,417			
10	0,384	7,91		
12	0,361	13,43		
14	0,302	27,58	$y = 5,3511x - 47,575$	
16	0,254	39,09	$r^2 = 0,9924$	18,234
18	0,213	48,92	$r = 0,9961$	
20	0,170	59,23		

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Inhibitor Ekstrak Kasar

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (A)	% Inhibisi	Persamaan Linear	IC ₅₀ (µg/mL)
Kontrol	0,707			
100	0,657	7,072	y = 0,01x + 5,9476 r ² = 0,9973 r = 0,9986	4405,24
300	0,645	8,769		
500	0,630	10,891		
700	0,615	13,012		

Tabel 6, memperlihatkan hasil pengujian aktivitas antitirosinase dari ekstrak terpurifikasi, pada berbagai konsentrasi dengan nilai IC₅₀ 401,6228 µg/mL.

4. Pembahasan

Kelor (*Moringa oleifera* L.) merupakan tanaman yang dikenal sebagai *The Miracle Tree* atau pohon ajaib karena terbukti secara alamiah merupakan sumber gizi dan berkhasiat sebagai obat yang kandungannya diluar kebiasaan kandungan tanaman pada umumnya¹⁷.

Pada penelitian ini dilakukan proses ekstraksi secara maserasi menggunakan etanol untuk mendapatkan ekstrak kasar dan dilanjutkan dengan ekstraksi cair-cair menggunakan etil asetat untuk mendapatkan ekstrak terpurifikasi.

Penggunaan penyari etanol karena merupakan penyari yang baik untuk senyawa golongan polifenol, dan aman untuk manusia, namun pada ekstrak kasar, masih mengandung senyawa karbohidrat dan atau lipid dalam jumlah yang besar, sehingga konsentrasi senyawa fenolik didalamnya menjadi lebih kecil. Ekstraksi purifikasi dilakukan untuk mengeliminasi adanya senyawa karbohidrat dan atau lipid dalam ekstrak kasar, sehingga kadar fenoliknya menjadi lebih besar dalam ekstrak terpurifikasi^{12,13}. Metode purifikasi yang biasa digunakan adalah ekstraksi cair-cair (ECC) atau *solid phase extraction* (SPE). Pada penelitian ini digunakan metode ECC, karena peralatan yang digunakan lebih murah dan sederhana dibandingkan metode SPE, dan menurut penelitian M. Waksmundzka-Hajnos *et al.* (2007), bahwa besarnya kandungan asam fenolik yang didapat dengan metode ECC sama dengan metode SPE¹². Penyari yang

digunakan pada ekstraksi cair-cair adalah etil asetat dan air dengan perbandingan yang sama. Penyari air diharapkan dapat menyari senyawa polar sedangkan senyawa non-polar tidak tersari dari ekstrak kasar, kemudian didiamkan pada suhu dingin agar mengendap, sehingga dapat dipisahkan dan selanjutnya ekstrak air diekstraksi cair-cair dengan etil asetat. Penggunaan penyari etil asetat, karena penyari ini mampu menyari senyawa flavonoid lebih banyak dibandingkan dengan air¹⁸, sehingga pada proses ekstraksi cair-cair diharapkan penyari etil asetat lebih banyak menarik senyawa flavonoid. Banyaknya hasil ekstraksi yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 1.

Pengujian inhibisi enzim tirosinase dilakukan dengan cara *in vitro* menggunakan substrat L-tirosin. Hidroquinon digunakan sebagai pembanding, karena merupakan salah satu inhibitor tirosinase yang digunakan sebagai bahan kosmetik yang berfungsi sebagai pelindung kulit dari sinar ultraviolet dan dapat memutihkan kulit. Tetapi penggunaan dalam jangka panjang dapat menimbulkan kerusakan kulit dengan efek permanen sehingga diperlukan bahan alternatif sebagai inhibitor tirosinase dari bahan alam⁶.

Inhibitor tirosinase berikatan secara kovalen dengan enzim tirosinase, yang menyebabkan enzim tirosinase tidak berikatan dengan substraknya (L-Tirosin) sehingga tidak terjadi pembentukan melanin secara berlebihan. Jika pembentukan melanin tidak berlebih maka tidak akan terjadi pigmentasi ataupun kerusakan kulit⁶.

Pada uji pendahuluan dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum dan didapatkan absorbansi tertinggi pada

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Inhibitor Ekstrak Terpurifikasi

Konsentrasi (ppm)	Absorban (A)	% Inhibisi	Persamaan Linear	IC ₅₀ (µg/mL)
Kontrol	0,340			
100	0,300	11,764	y = 124,85x-162,65	401,6228
300	0,214	37,058	r ² = 0,9978	
500	0,121	64,411	r = 0,9988	
700	0,048	85,882		

panjang gelombang 480 nm. Waktu inkubasi optimum adalah 2,5 jam yang menunjukkan nilai absorban paling tinggi. Sedangkan penggunaan pelarut DMSO karena pelarut ini dapat melarutkan ekstrak sampel yang digunakan, namun karena DMSO murni dapat menghambat kerja enzim², maka DMSO dicampur dengan air dengan perbandingan 1:1.

Pengujian inhibitor tirosinase dilakukan terhadap pembanding hidroquinon dan sampel ekstrak, dengan berbagai variasi konsentrasi untuk mendapatkan persen IC₅₀-nya. Hasil pengujian pembanding hidroquinon dapat dilihat pada tabel 4, dengan hasil IC₅₀ 18,234 µg/mL, sedangkan Hasil pengujian ekstrak kasar dapat dilihat pada tabel 5, dengan hasil IC₅₀ 4405,24 µg/mL, dan hasil pengujian ekstrak terpurifikasi dapat dilihat pada tabel 6, dengan hasil IC₅₀ 401,6228 µg/mL.

5. Kesimpulan

Aktivitas inhibitor tirosinase ekstrak terpurifikasi daun kelor lebih kuat jika dibandingkan dengan ekstrak kasarnya, namun jauh lebih kurang aktif dari pada hidroquinon.

Daftar Pustaka

- Hermana. Ekstraksi Senyawa Aktif Penghambat Melanogenesis dari Daun Dadap (*Erythrina subumbrans* (Hassk.) Merr) (skripsi). Institut Pertanian Bogor. Bogor. 2002
- Hartanti, L & Setiawan, H, K. Inhibitory Potential of Some Synthetic Cinnamid Acid Derivatives Towards Tyrosinase Enzyme. Indo J. Chem. 2009;9(1): 158-168
- Juwita N, K, Djajadisastra J, and Azizahwati. Uji Penghambatan Tirosinase dan Stabilitas Fisik Sediaan Krim Pemutih yang Mengandung Ekstrak Kulit Batang Nangka (*Artocarpus heterophyllus*). Majalah Ilmu Kefarmasian. 2013;8(2): 105-125
- Hindritiani, R, Dhianawaty, D, Sujatno, M, Sutedja, E dan Setiawan. Penurunan Aktivitas Tirosinase dan Jumlah Melanin oleh Fraksi Etil Asetat Buah Malaka (*Phyllanthus emblica*) pada Mose Melanoma B 16 Cell- Line. MKB. 2013;45(2): 119
- Chang TS. An Updated Review of Tyrosinase Inhibitor. International Journal of Molecular Science. 2009;10: 2440-2475
- Astuti, D, Prasetya, H, & Irsalina, D. Identifikasi Hidroquinon pada Krim Pemutih Wajah yang Dijual di Minimarket Wilayah Minomartani. Journal of Agromedicine and Medical Sciences. 2016;2(1): 14-19
- Masuda T, Yamashita D, Takeda Y, Yoneromi S. Potensi Ekstrak Rhizophora sp sebagai Inhibitor Tirosinase. Journal Biochemistry, Bioscience, Biotechnology, Biochemistry. 2005;69(1): 197-201.
- Kasolo, JN, Bimeya, GS, Ojok, L, Ochieng, J, Okwal-Okeng, JW. Phytochemicals and Uses of Moringa oleifera Leaves in Uganda Rural Communities. Journal of Medical Plant Research. 2010;4(9): 753-757.
- Hardiyanthi F. Pemanfaatan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Kelor (*Moringa oleifera*) Dalam Sediaan Hand and Body Cream (Skripsi). Fakultas Sains

- dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah, Jakarta, 2015.
10. Rizkayanti, M. Diah, A. W, & Jura, M, R. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifer* L.). *Akademika Kimia*. 2017;6(2): 125-131.
 11. Zaputri A. DJ. 'Analisis Kandungan Flavonoid Ekstrak Kulit Pisang Cere (*Musa paradisiaca* L.) dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis (Skripsi). Universitas Muslim Indonesia, Makassar. 2017.
 12. Hajnos M,W, Oniszczyk A, Szewczyk K, and Wianowska D. Effect of Sample Preparation Methods on The HPLC Quantitation of Some Phenolic Acids in Plant Materials. *Acta Chromatographica*. 2007; 19: 227-237
 13. Dai J., and Mumper R.J. Plant Phenolics: Extraction, Analysis and Their Antioxidant and Anticancer Properties. *Molecul Journal*. ISSN 1420-3049. 2010: 7313-7352.
 14. Abidin Z., Adelah A., Marwa, Susilastuti D., Risal. Analysis Phenolic Compound and Antioxidant Activity of Ethyl Acetate Purification Extract of Sawo Manila (*Manilkara zapota*). *Proceeding. The 3rd International Seminar of Natural Product*; April. ISSN 2443-3675, Makassar; 2017.
 15. Ozer O., Mutlu B., and Kivcak B. Antityrosinase Activity of Some Plant Extracts and Formulation Containing Ellagic Acid. *Pharmaceutical Biology*, Vol. 2007;45(6): 519 – 524.
 16. Moon J, Y, Yim E,Y, Song G, Lee, N, H. Screening of Elastase and Tyrosinase Inhibitor activity from Jeju Island Plants. *Eur Asian Journal of BioSciences*. 2010.
 17. Toripah S, S, Abidjulu J, Wehantouw F. Aktivitas Antioksidan dan Kandungan Total Fenolik Ekstrak Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM). *Pharmacon Jurnal Ilmu Farmasi-UNSRAT*. 2014; 3(4) : 37- 43
 18. Stankovic M. S. Total Phenolic Content, Flavonoid Concentration and Antioxidant Activity of *Marrubium peregrinum* L. Extract. *Kragujevac Journal Science*. 2011;33: 63 – 72