

AKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lam.) SEBAGAI PENGHAMBAT ENZIM TIROSINASE

Surya Ningsi^{*1}, Afrisusnawati Rauf², Achsanul Husna³

Jurusan Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Jln. HM. Yasin Limpo No.36 Samata Gowa Sulse, Indonesia, Telp/Fax 0411- 841879/8221400
Email: surya.ningsi@uin-alauddin.ac.id

ABSTRAK

Tirosinase adalah enzim regulator multifungsi utama yang mengandung tembaga yang bertanggung jawab atas biosintesis melanin yang menentukan warna kulit. Penghambatan terhadap enzim tirosinase dapat digunakan untuk mengatasi masalah hiperpigmentasi pada kulit. Kelor (*Moringa oleifera* Lam.) adalah salah satu spesies keluarga Moringaceae yang paling luas. Hampir setiap bagian pohon ini memiliki khasiat yang sangat besar dalam nutrisi, obat, atau keperluan industri lainnya. Daun kelor juga diketahui memiliki aktivitas antioksidan yang tinggi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) sebagai penghambat enzim tirosinase. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah eksperimental laboratorium. Sampel berupa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) yang dibuat dengan konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm serta asam kojat sebagai kontrol positif. Penentuan aktivitas penghambatan dilakukan dengan cara menghitung nilai IC_{50} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa terdapat aktivitas penghambatan enzim tirosinase pada ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) yang dapat dilihat dari nilai yang diperoleh dari hasil deret konsentrasi berturut-turut yaitu 30,31%, 35,63%, 44,46%, 46,80%, dan 53,08%. Sehingga diperoleh nilai IC_{50} sampel yaitu 88,00 $\mu\text{g/mL}$ sedangkan nilai IC_{50} asam kojat sebagai kontrol positif yaitu 65,34 $\mu\text{g/mL}$. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) memiliki aktivitas yang kuat sebagai penghambat enzim tirosinase.

Kata Kunci : Daun kelor, *Moringa oleifera* Lam., Enzim tirosinase, IC_{50}

PENDAHULUAN

Tirosinase adalah enzim multifungsi yang tersebar luas di alam (bakteri, jamur, tumbuhan dan hewan). Dalam tubuh manusia, ia bertanggung jawab untuk pembentukan melanin, pigmen biologis yang ditemukan di rambut, kulit dan bagian mata yang berwarna. Tirosinase mengkatalisis hidroksilasi tirosin menjadi L-3,4-dihydroxyphenylalanine (L-DOPA), yang

selanjutnya teroksidasi menjadi o-dopaquinone yang sesuai, yang mengarah ke pembentukan dari melanin (Aumeeruddy-Elalf, 2016).

Melanin, pigmen utama yang terutama bertanggung jawab pada kulit, rambut dan pigmentasi mata manusia, diproduksi oleh melanosit melalui melanogenesis. Melanogenesis dan pigmentasi kulit adalah faktor fotoprotektif terpenting dalam menanggapi radiasi ultraviolet yang merusak dari sinar matahari dan fotokarsinogenesis kulit (Samaneh Zolghadri, 2019). Melanin disintesis dalam melanosit di organel khusus yang disebut melanosom, yang kemudian ditransfer ke keratinosit dan memainkan sebuah peran penting dalam perlindungan terhadap stres oksidatif. Melanogenesis diatur oleh berbagai faktor biokimia lingkungan dan faktor genetik, termasuk paparan ultraviolet (UV), hormon penstimulasi melanosit (α -MSH), reseptor melanokortin-1 (MC1R) aktivasi, dan *agouti-related protein* (Le'ocadie Kamagaju, 2013). Namun, peningkatan jumlah melanin menyebabkan gangguan pigmen kulit dan terjadi sebagai akibat dari faktor genetik dan lingkungan (Souza, 2012). Reaksi pencokelatan oleh tirosinase dapat dihambat oleh suatu penghambatan reaksi enzimatik berupa ion atau molekul yang disebut inhibitor tirosinase. Beberapa inhibitor tirosinase diantaranya adalah arbutin, asam kojat, merkuri, dan hidrokuinon (You J., 2005).

Pemanfaatan ekstrak tumbuhan dan fitokonstituen turunannya memiliki kemungkinan masa depan untuk pengendalian hiperpigmentasi. Banyak bukti telah dieksplorasi untuk mendukung penggunaan tanaman sebagai cara alternatif untuk pemanfaatannya dalam pengendalian hiperpigmentasi, yakni tanaman yang memiliki aktivitas sebagai inhibitor tirosinase (Pulok K. Mukherjee, 2018).

Kelor (*Moringa oleifera*) yang termasuk dalam famili Moringaceae ini adalah tanaman yang efektif untuk mengatasi malnutrisi. Kelor kaya akan nutrisi karena adanya berbagai fitokimia penting yang ada di daun, polong dan bijinya. Faktanya adalah, kelor diketahui mengandung vitamin C 7 kali lebih banyak dari jeruk, 10 kali lipat lebih banyak vitamin A dari wortel, kalsium 17 kali lebih banyak dari susu, Protein 9 kali lebih banyak dari yoghurt, 15 kali lebih banyak kalium dari pisang dan 25 kali lebih banyak zat besi dari bayam (Lakshmi Priya Gopalakrishnan, 2016). Semua bagian tanaman ini telah dilaporkan memiliki berbagai macam aktivitas biologis seperti mengurangi hiperglikemia (Dolly Jaiswal, 2009), antifungi (Chuang, 2007), antibakteri (Ehab Ali Fouad, 2019), antioksidan dan antiinflamasi (Xu, 2019), antioksidan dan antidiabetes (Gupta, 2011), antioksidan dan antikanker (Al-Asmar, 2015). Bagian tanaman yang paling banyak digunakan adalah daun, yang kaya vitamin, karotenoid, polifenol, asam fenolik, flavonoid, alkaloid, glukosinolat, isotiosianat, tanin dan saponin (Leone, 2015).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) dalam menghambat aktivitas enzim tirosinase sehingga dapat digunakan sebagai kandidat pemutih kulit alami dan aman untuk digunakan dalam sediaan kosmetika.

METODE PENELITIAN

Prosedur Penelitian.

Ekstraksi Sampel

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi. Sampel daun kelor yang telah kering ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian ditambahkan pelarut etanol hingga terendam seluruhnya. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 3 x 24 jam di tempat yang terlindung dari sinar matahari langsung sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring, dipisahkan antara ampas dan filtrat. Filtrat etanol yang diperoleh kemudian dikumpulkan dan diuapkan cairan penyaringnya dengan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak etanol kental.

Uji Kadar Air Simplisia

Cawan penguap dikeringkan pada suhu 105° selama 30 menit kemudian capor didinginkan dalam eksikator ± 15 menit lalu ditimbang. Sebanyak 3 gram sampel dimasukkan ke dalam cawan penguap didinginkan di eksikator lalu ditimbang. Prosedur ini dilakukan berulang hingga diperoleh bobot tetap. Kadar air sampel ditentukan dengan persamaan.

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{x_1 - y}{X} \times 100\%$$

Dengan : X = Bobot sampel awal (g)

x₁ = Bobot cawan + sampel (sebelum pemanasan) (g)

y = Bobot cawan + sampel (setelah pemanasan) (g)

Identifikasi Golongan Senyawa

Alkaloid, ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) 0,5g dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 2 ml HCl 2N panaskan selama 2-3 menit, didinginkan dan ditambahkan NaCl kemudian disaring. Ditambahkan 2 ml HCl 2N ke dalam filtrat. Dibagi menjadi 3 bagian dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Tabung reaksi (I) ditambahkan dragendorf menghasilkan endapan merah jingga, tabung reaksi (II) ditambahkan mayer menghasilkan endapan putih kekuningan, dan tabung reaksi (III) ditambahkan wagner menghasilkan endapan coklat.

Flavonoid, Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) 0,5g ditambahkan aquades dan ditambahkan heksan dan dikocok. Kemudian akan terpisah menjadi 2 lapisan dimana ekstrak etanol dalam air akan berada dibawah dan lapisan heksan akan berada di atas. Lapisan heksan dipisahkan sementara lapisan air ditambahkan etanol kemudian dipisahkan menjadi 2 bagian.

Bagian pertama ditambahkan 0,5 ml HCl pekat, kemudian dipanaskan di atas penangas selama 15 menit. Positif bila berwarna merah terang atau violet. Bagian kedua ditambahkan 0,5 ml HCl pekat kemudian ditambahkan 3 - 4 potong magnesium, amati perubahan warna yang terjadi pada tiap lapisan. Jika warna merah berarti positif mengandung flavonoid. Merah pucat-merah tua mengandung flavon.

Glikosida, ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) 0,2 g diuapkan di atas penangas air, lalu ditambahkan 3 ml asam asetat dengan sedemikian pemanasan, kemudian didinginkan. Selanjutnya, larutan ini ditambah larutan besi (III) klorida 0,3M, lalu dengan hati-hati ditambahkan campuran 3 ml asam sulfat dan 1 tetes besi (III) klorida 0,3M terbentuk cincin warna merah coklat pada batas cairan. Setelah beberapa menit di atas cincin akan berwarna biru hijau, adanya glikosida dan glikon gula 2-deoksi.

Saponin, ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) sebanyak 0,5 g ditambahkan 10 ml air panas kemudian didinginkan, selama 10 detik larutan dikocok dengan kuat kemudian didiamkan selama 10 detik. Terbentuk buih setinggi 1-10 cm dan buih tidak hilang bahkan setelah penambahan 1 tetes HCl 2N jika ekstrak positif mengandung saponin.

Terpenoid, ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) sebanyak 0,5 g ditambah 5 ml larutan eter kemudian diuapkan. Selanjutnya ditambahkan 2 tetes asam asetat anhidrat ke dalam residu, asam sulfat pekat 1 tetes. Ketika filtrate menghasilkan warna merah-hijau atau violet-biru maka ekstrak positif mengandung terpen.

Fenol, ekstrak sampel sebanyak 0,2 gram ditambahkan dengan larutan FeCl_3 1%. Hasil ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau, merah, ungu, biru tua, biru, biru kehitaman, atau hijau kehitaman.

Prosedur uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase

Pembuatan larutan Dapar Fosfat.

Ditimbang sebanyak 2,7 g KH_2PO_4 dan dilarutkan dalam air suling, sedikit demi sedikit hingga mencukupi volume 400 mL. Kemudian pH larutan diukur dengan menggunakan pH meter. Ditimbang 5,6 g KOH dan larutkan dalam 100 mL air suling. Larutan KOH ditambahkan kedalam larutan KH_2PO_4 hingga mencapai pH 6,8. Larutan dapar fosfat disimpan pada lemari pendingin.

Pembuatan larutan L- Tirosin

Sebanyak 18,2 mg L-Tirosin dimasukkan kedalam labu tentukur 100 mL, ditambahkan dapar fosfat sedikit demi sedikit, dan dihomogenkan. Volumennya dicukupkan hingga 100 mL dengan larutan dapar fosfat.

Pembuatan larutan Enzim Tirosinase

Sebanyak 1 mg enzim tirosinase dimasukkan kedalam labu tentukur 10 mL dilarutkan dalam 10 mL larutan dapar fosfat yang telah didinginkan. Larutan enzim tirosinase diletakkan pada wadah yang berisi es agar suhu enzim tetap stabil pada suhu dingin saat pengerjaan.

Pembuatan larutan uji ekstrak etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam)

Ekstrak daun kelor ditimbang sebanyak 5 mg kemudian dilarutkan dengan bantuan DMSO sebanyak 50 µl, dihomogenkan lalu ditambahkan dengan dapar fosfat sampai 1000 µl sehingga diperoleh larutan stok 1000 ppm. Larutan stok kemudian diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan, sehingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi masing-masing 100 ppm, 80 ppm, 60 ppm, 40 ppm, dan 20 ppm.

Pembuatan larutan kontrol positif asam kojat

Sebanyak 5 mg asam kojat dimasukkan kedalam tabung ependorf dan dilarutkan dalam 5 ml dari 50 mM larutan dapar fosfat (pH, 6,5). Kemudian larutan asam kojat diencerkan hingga diperoleh larutan asam kojat dengan konsentrasi yang sama dengan larutan uji.

Penentuan aktivitas penghambatan enzim tirosinase

Sebanyak 50 µl L-Tirosin 1 mM, 50 µl larutan dapar fosfat 50 mM (pH 6,8), 20 µl larutan enzim tirosinase dan 100 µl larutan sampel dimasukkan ke dalam sumuran pada *microplate*. Campuran tersebut diinkubasi selama 5 menit pada suhu kamar, kemudian diukur serapannya menggunakan *microplate reader* (ELISA) pada panjang gelombang 490 nm. Dilakukan pengujian blanko tanpa penambahan enzim yaitu digunakan Sebanyak 170 µl larutan dapar fosfat (pH 6,8), 50 µl L-Tirosin 1 mM. Kontrol negatif menggunakan campuran tersebut diatas tanpa penambahan sampel dan untuk kontrol positif menggunakan asam kojat sebagai pengganti sampel. Langkah-langkah tersebut diatas dilakukan secara triplo.

Penentuan persentase penghambatan aktivitas tirosinase berdasarkan rumus :

$$\% \text{ penghambatan Tirosinase} = \frac{A-B}{A} \times 100\%$$

Keterangan :

A = Absorbansi sampel tanpa penambahan inhibitor.

B = Absorbansi sampel dengan penambahan inhibitor.

Aktivitas penghambatan dari sampel uji ditentukan dengan IC₅₀ yaitu konsentrasi dimana sampel uji menghambat aktivitas tirosinase sebesar 50%. IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan regresi linier, log konsentrasi sampel sebagai sumbu x dan probit % inhibisi sebagai sumbu y, dari persamaan $y = bx \pm a$ dapat dihitung nilai IC₅₀.

Rumus IC₅₀ $y = ax + b$

$$x = (50 - a) : b$$

Keterangan:

a = slope

b = intersep

Nilai IC_{50} di bawah 100 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan aktivitas tirosinase yang paling kuat, nilai IC_{50} 100-450 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan yang kurang kuat, dan 450-700 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan aktivitas tirosinase sangat lemah.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Hasil Ekstraksi Daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan Metode Maserasi

Berat Simplisia yang diekstraksi	Jenis Ekstrak	Berat Ekstrak	Persen (%) Rendemen
250 gram	Ekstrak Kental	2,1982 gram	0,84 %

Tabel 2. Hasil Uji Kadar Air Simplisia Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) dengan Metode Gravimetrik

Bobot sampel awal (X)	Bobot cawan + sampel sebelum pemanasan (X_1)	Rata-rata bobot cawan + sampel setelah pemanasan (y)	Hasil
3 gram	42,7932 gram	42,7313 gram	2,06 %

Tabel 3. Hasil Identifikasi Golongan Senyawa Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam)

Golongan Senyawa	Ekstrak Etanol Daun Kelor (<i>Moringa oleifera</i> Lam)
Alkaloid	-
Flavonoid	+
Glikosida	-
Saponin	+
Fenol	+

Keterangan :

(+) Terdapat golongan senyawa tertentu

(-) Tidak terdapat golongan senyawa tertentu

Tabel 4. Hasil Persen Inhibitor Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam)

Sampel	Konsentrasi	Persen (%) penghambatan
Ekstrak Daun Kelor	20 ppm	30,31 %
	40 ppm	35,63 %
	60 ppm	44,46 %
	80 ppm	46,80 %
	100 ppm	53,08 %
	10 ppm	37,77 %

Asam kojat	20 ppm	38,88 %
	40 ppm	41,25 %
	80 ppm	56,27 %
	100 ppm	57,23 %

Hiperpigmentasi terjadi karena adanya pembentukan pigmen melanin di kulit melalui oksidasi tirosin yang dibantu oleh enzim tirosinase membentuk L-DOPA yang kemudian pada tahapan akhirnya akan membentuk pigmen melanin. Pada umumnya jumlah melanin pada kulit inilah yang akan menentukan warna kulit kita. Enzim tirosinase dapat digunakan untuk menghambat pembentukan melanin.

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu maserasi. Metode maserasi digunakan karena metode ini merupakan metode yang mudah, murah dan efektif untuk menghindari kerusakan zat aktif yang termolabil. Ditimbang sebanyak 250 gram simplisia daun kelor, kemudian dimasukkan ke dalam toples. Masukkan pelarut etanol 96% sebanyak 3 liter. Pelarut etanol 96% digunakan karena pelarut ini merupakan pelarut universal yang dapat menarik hampir seluruh metabolit sekunder, baik yang bersifat polar, semi polar maupun non polar, juga memiliki kandungan air yang kecil sehingga mempercepat proses evaporasi serta terhindar dari tumbuhnya jamur. Proses ekstraksi dilakukan selama 3x24 jam. Hasil maserasi kemudian dipisahkan menggunakan alat *Rotary evaporator* dengan suhu 60°C dan kecepatan 65 rpm hingga diperoleh ekstrak etanol kental, ekstrak kental kemudian didididasi vakum selama 15 menit hal ini bertujuan untuk menarik sisa-sisa pelarut yang masih ada.

Kadar air dilakukan dengan metode pemanasan pada oven suhu 105°C yang dilakukan penimbangan secara triplo, simplisia daun kelor mengandung kadar air sebesar 2,06 % atau kurang dari 4% sehingga dapat disimpulkan bahwa daun kelor yang digunakan memenuhi persyaratan standar. Hasil tersebut sesuai dengan literatur Farmakope Indonesia karena telah memenuhi persyaratan range yang tertera 2 – 4 %.

Ekstrak etanol daun kelor yang telah diperoleh dilakukan pengujian golongan senyawa ekstrak etanol daun Kelor (*Moringa oleifera* Lam) tidak mengandung senyawa golongan alkaloid (-) pada ketiga reagen pereaksi yakni tidak terdapat endapan merah jingga pada pereaksi dragendorff, tidak terdapat endapan merah kekuningan pada pereaksi mayer dan tidak terdapat endapan coklat pada pereaksi wagner. Hasil (+) mengandung flavonoid setelah dilakukan pengujian diperoleh warna merah dari hasil reaksi tersebut yang menunjukkan adanya flavonoid, (-) tidak mengandung glikosida dari hasil pengujian tidak terbentuk cincin biru hijau, (+) mengandung saponin karena dari hasil uji diperoleh buih, bahkan buih tetap ada setelah

penambahan HCl 2N, (+) mengandung fenol karena dari hasil pengujian terbentuk warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya fenol dalam ekstrak daun kelor. Hasil uji identifikasi golongan dipertegas dengan penelitian Pratama Putra (2016) yaitu ekstrak etanol daun kelor mengandung senyawa flavonoid, fenolat, triterpenoid/steroid, dan tanin.

Pengujian penghambatan enzim tirosinase terhadap sampel daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) ini dilakukan dengan menggunakan *microplate reader* (ELISA). Metode ini dipilih karena sederhana, mudah digunakan dan menggunakan jumlah sampel yang sedikit. Penelitian ini menggunakan enzim tirosinase yang disintesis dari jamur dan L-tirosin sebagai substratnya. Kerja maksimum enzim tirosinase pada pH 6,8 sehingga didapar dengan dapar fosfat pH 6,8 yang telah didinginkan. Enzim tirosinase juga stabil pada suhu -20°C sehingga dalam penyimpanan dan proses pengerjaan enzim harus tetap berada pada wadah dingin.

Pengujian aktivitas penghambatan enzim tirosinase berdasarkan kemampuan enzim tersebut untuk mengkatalisis oksidasi L-Tirosin sebagai substrat menjadi L-DOPA. Proses oksidasi lanjutan terjadi dengan keberadaan enzim tirosinase dengan katalisator yang kemudian akan mengubah L-DOPA menjadi DOPAquinone. Selanjutnya DOPAquinone secara spontan akan bertautomerisasi menjadi menjadi DOPAchrome. Hasil akhir berupa DOPAchrome akan memberikan warna keunguan yang dapat menyerap energy sinar tampak pada panjang gelombang 490 nm.

Hasil uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) terhadap daya hambat dari beberapa konsentrasi 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm, berturut-turut adalah 30,31%, 35,63%, 44,46%, 46,80%, dan 53,08%. Hasil diperoleh dari perhitungan nilai absorbansi yang dilakukan secara triplo untuk setiap konsentrasi.

Hasil nilai IC_{50} dari uji aktivitas penghambatan enzim tirosinase menunjukkan nilai konsentrasi yang dapat menghambat 50% aktivitas enzim tirosinase (IC_{50}) yaitu 88,00 $\mu\text{g/mL}$. namun aktivitas penghambatan tirosinase dari sampel masih lebih rendah dibandingkan asam kojat sebagai kontrol positif yaitu menunjukkan potensi penghambatan aktivitas tirosinase yang lebih kuat dengan nilai IC_{50} 65,34 $\mu\text{g/mL}$, nilai IC_{50} kurang dari 100 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan yang kuat, nilai IC_{50} 100-450 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan yang kurang kuat, dan 450-700 $\mu\text{g/mL}$ menunjukkan potensi penghambatan aktivitas tirosinase sangat lemah.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) memiliki aktivitas sebagai penghambat enzim tirosinase.
2. Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) memiliki rata-rata persen penghambatan pada konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm) berturut-turut adalah 30,31%, 35,63%, 44,46%, 46,80%, dan 53,08%.
3. Ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lam) memiliki aktivitas kuat sebagai penghambat enzim tirosinase dengan nilai IC₅₀ 88,00 µg/mL.

KEPUSTAKAAN

- Al-Asmar, A. K. (2015). *Moringa oleifera* as an Anti-Cancer Agent against Breast and Colorectal Cancer Cell Lines. *PLOS One*.
- Aumeeruddy-Elalf, Z. (2016). Kinetic studies of tyrosinase inhibitory activity of 19 essential oils extracted from endemic and exotic medicinal plants. *South African Journal of Botany*, 103, 89-94.
- Chuang, P.-H. (2007). Anti-fungal activity of crude extracts and essential oil of *Moringa oleifera* Lam. *Bioresource Technology*, 98, 232–236.
- Dolly Jaiswal, P. K. (2009). Effect of *Moringa oleifera* Lam. leaves aqueous extract therapy on hyperglycemic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 123, 392-396.
- Ehab Ali Fouad, A. S. (2019). Antibacterial efficacy of *Moringa oleifera* leaf extract against pyogenic bacteria isolated from a dromedary camel (*Camelus dromedarius*) abscess. *Veterinary World*, 12, 802-808.
- Gupta, R. (2011). Evaluation of antidiabetic and antioxidant activity of *Moringa oleifera* in experimental diabetes. *Journal of Diabetes*, 4, 164–171.
- Lakshmipriya Gopalakrishnan, K. D. (2016). *Moringa oleifera*: A review on nutritive importance and its medicinal application. *Food Science and Human Wellness*, 5, 49-56.
- Le´ocadie Kamagaju, R. M. (2013). Tyrosinase modulation by five Rwandese herbal medicines traditionally used for skin treatment. *Journal of Ethnopharmacology*, 146, 824-834.
- Leone, A. (2015). Cultivation, Genetic, Ethnopharmacology, Phytochemistry and Pharmacology of *Moringa oleifera* Leaves: An Overview. *Int. J. Mol. Sci*, 16, 12791-12835.
- Pulok K. Mukherjee, R. B. (2018). Validation of Medicinal Herbs for Anti-tyrosinase. *Journal of Herbal Medicine*.
- Samaneh Zolghadri, A. B.-M.-C. (2019). A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 34(1), 279-309.

- Souza, P. M. (2012). Plants from Brazilian Cerrado with Potent Tyrosinase Inhibitory Activity. *Plos One*, 7(11).
- Xu, Y.-B. (2019). Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities of the Crude Extracts of *Moringa oleifera* from Kenya and Their Correlations with Flavonoids. *Antioxidants*, 8(296).
- You J., J. K. (2005). 4,4-Dihydroxybiphenyl as a New Potent Tyrosinase Inhibitor. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 28(2), 232-237.