

AKTIVITAS PENGHAMBATAN TIROSINASE DAN ANTIOKSIDAN SERBUK RUMPUT LAUT DARI *Sargassum plagyophyllum* SEGAR DAN KERING

Ayun Erwina Arifanti^{*1}, Effionora Anwar¹, Nurjanah²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia, Kampus UI Depok, Telepon (021) 7270031, 78849001-3,
Faks. (021) 7863433 Depok 16424 Jawa Barat.

²Departemen Teknologi Hasil Perairan, Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan, Institut Pertanian Bogor,
Kampus IPB Darmaga, Jalan Agatis, Telepon (0251) 8622909-8622906, Faks. (0251) 8622915,
Bogor 16680 Jawa Barat

*Korespondensi: *ayun.arifanti@gmail.com*

Diterima: 29 Agustus 2017 / Disetujui: 4 Desember 2017

Cara sitasi: Arifanti AE, Anwar E, Nurjanah. 2017. Aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan serbuk rumput laut dari *Sargassum plagyophyllum* segar dan kering. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 20(3): 488-493.

Abstrak

Sargassum plagyophyllum salah satu spesies dari genus *Sargassaceae* memiliki berbagai senyawa bioaktif. Salah satunya adalah florotanin yang dilaporkan sebagai antioksidan dan penghambat tirosinase. Aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan dari serbuk rumput laut yang berasal dari sediaan bubur belum pernah dilaporkan. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan serbuk *S. plagyophyllum* yang optimal dari segi penghambatan tirosinase dan antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai zat aktif dalam formula kosmetik pencerah kulit. *S. plagyophyllum* disiapkan dalam bentuk segar dan kering. Bubur rumput laut dari *S. plagyophyllum* dibuat dari campuran rumput laut dengan akademinalisata. Bubur tersebut kemudian dikeringkan dengan metode kering-beku sehingga dihasilkan serbuk rumput laut. Aktivitas antioksidan diukur dengan metode peredaman radikal bebas 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan dengan mengukur hasil reaksi enzimatis menggunakan L-tirosin sebagai substrat. Nilai IC₅₀ aktivitas antioksidan asam askorbat adalah 0,0035 mg/mL, bubur segar 27,31 mg/mL, bubur kering 41,13 mg/mL, serbuk segar 2,21 mg/mL dan serbuk kering 13,18 mg/mL. Nilai IC₅₀ penghambatan tirosinase 0,0076 mg/mL, asam kojat serbuk segar 4,97 mg/mL dan asam kojat serbuk kering 11,35 mg/mL. Hasil terbaik aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan didapatkan dari serbuk rumput laut segar *S. plagyophyllum* sehingga berpotensi dikembangkan lebih lanjut menjadi zat aktif formula kosmetik pencerah kulit.

Kata kunci: *Sargassum plagyophyllum*, bubur rumput laut, serbuk rumput laut, antioksidan, penghambat tirosinase

Tyrosinase Inhibitor and Antioxidant Activity of Seaweed Powder from Fresh and Dried Sargassum plagyophyllum

Abstract

Sargassum plagyophyllum from *Sargassaceae* family contains various bioactive compounds, namely phlorotannin which is reported as an antioxidant and tyrosinase inhibitor. Tyrosinase inhibitor and antioxidant activity from seaweed powder that obtained from seaweed's slurry have not been reported. Thus, this study was aimed to obtain the best seaweed slurry and powder from *Sargassum plagyophyllum* based on tyrosinase inhibitor and antioxidant activity, so it can be used as active substance in skin lightening cosmetic formula. *Sargassum plagyophyllum* which prepared fresh and dried was processed into seaweed slurry and lyophilization to form powder. Antioxidant activity which was determined by 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging method found the IC₅₀ values of ascorbic acid was 0.0035 mg/mL; fresh slurry 27.31 mg/mL; dried slurry 41.13 mg/mL; fresh powder 2.21 mg/mL; and dried powder 13.18 mg/mL. Moreover, the tyrosinase inhibitory activity which was measured by enzymatic reaction with L-tyrosine as substrate found IC₅₀ values kojic acid 0.0076 mg/mL; fresh powder 4.97 mg/mL;

and dried powder 11.35 mg/mL. Seaweed powder obtained from fresh ingredient is the most optimal result based on its tyrosinase inhibitor and antioxidant activity, thus potential to be developed further as active substance for lightening cosmetic formula.

Keywords: *Sargassum plagyophyllum*, seaweed slurry, seaweed powder, antioxidant, tyrosinase inhibitor

PENDAHULUAN

Indonesia sebagai negara yang berada di sekitar garis ekuator memiliki iklim tropis yang dikarakterisasi dengan suhu tinggi dan radiasi sinar ultraviolet (UV) pada level tertinggi (Ezzedine *et al.* 2007). Kulit terbakar sinar matahari dan kulit kecokelatan merupakan efek cepat yang biasa terjadi akibat dari paparan radiasi sinar UV yang berlebihan (WHO 2002). Wanita-wanita Asia secara umum lebih menyukai kulit putih daripada kulit cokelat sehingga produk pencerah kulit menjadi segmen terbesar dan terus berkembang pada pasar perawatan kulit (Sanjewa *et al.* 2016) karena kulit yang cerah diasumsikan dengan indikasi terlihat lebih muda dan cantik (Smit *et al.* 2009).

Sargassum plagyophyllum memiliki potensi untuk mengatasi masalah tersebut karena mengandung polifenol florotanin sebagai antioksidan yang dapat mengantisipasi oksidasi kulit oleh radiasi sinar UV (Heffernan *et al.* 2015) dan sebagai penghambat tirosinase (*Chan et al.* 2011). *S. plagyophyllum* merupakan salah satu jenis rumput laut cokelat yang banyak terdapat di perairan Indonesia (Sahat 2013). Beberapa penelitian telah dilakukan terkait potensi *Sargassum* sp. sebagai bahan baku kosmetik pencerah kulit. Ekstrak etanol dari *S. polycystum* dilaporkan memiliki aktivitas penghambatan tirosinase sebesar 97,78% pada konsentrasi 100 µg/mL enzim tirosinase jamur (*Chan et al.* 2011). Ekstrak metanol dari *Sargassum* sp. dilaporkan dapat menghambat enzim tirosinase dengan IC₅₀ 13,43 µg/mL pada reaksi monofenolase (Indriani 2014).

Penggunaan metode selain ekstraksi seperti pembuatan bubur rumput laut masih belum banyak dilaporkan. Bubur rumput laut campuran *Euchema cottonii* dan *Sargassum* sp. dilaporkan dapat digunakan sebagai formula krim tabir surya (*Luthfiyana et al.* 2016). Penggunaan

bubur rumput laut *Sargassum* sp. tunggal sebagai penghambat tirosinase belum pernah dilaporkan. Pembuatan serbuk dari sediaan bubur rumput laut pun belum pernah dilaporkan. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan bubur dan serbuk *Sargassum* sp. yang optimal dari segi penghambatan tirosinase dan antioksidan sehingga dapat digunakan sebagai zat aktif dalam formula kosmetik pencerah kulit.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah rumput laut *Sargassum plagyophyllum*; akuademineralisata (Brataco); natrium hidroksida (Merck); kalium dihidrogen fosfat (Merck); asam askorbat (Sigma-Aldrich); 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) (Sigma-Aldrich); enzim tirosinase dari jamur (EC 1.14.18.1) (Sigma-Aldrich); L-tirosin (Sigma-Aldrich); asam kojat (Sigma-Aldrich); dapar fosfat (pH 6,5); dan etanol p.a. (Merck).

Alat utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Sartorius), blender (Kris), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), *microplate reader* (Vera Max Molecular Devices), alat pengering-beku (Eyela FDU-1200), vorteks (Vortex Mixer-300), dan alat sentrifugasi (Kubota 5100).

Metode Penelitian Pengambilan Sampel

Sampel rumput laut segar *Sargassum* sp. diperoleh dari pantai Pasauran, Serang, Banten. Sampel segar disortir dari epifit yang menempel lalu dicuci dengan air laut untuk menghilangkan kotoran dan benda asing yang menempel. Sampel segar dipisahkan menjadi 2 bagian untuk diberikan perlakuan yaitu langsung diolah menjadi bubur dan dilakukan pengeringan secara metode kering

angin (Masduqi *et al.* 2014). Sampel segar dan kering masing-masing dimasukkan ke dalam kemasan plastik tertutup.

Pembuatan bubur dan serbuk rumput laut

Bubur rumput laut dibuat dengan 2 perlakuan berbeda yaitu dari sampel segar dan sampel kering. Bubur segar dibuat dengan cara mencuci sampel segar rumput laut *Sargassum* sp. dengan akuademineralisata lalu dipotong kecil. Potongan rumput laut tersebut ditambahkan akuademineralisata dengan perbandingan 1:1 lalu dihaluskan dengan blender selama 5 menit. Bubur kering dibuat dengan cara mencuci sampel kering rumput laut *Sargassum* sp. dengan akuademineralisata lalu direndam dengan air demineralisata selama 24 jam. Sampel rumput laut tersebut dipotong kecil lalu ditambahkan akuademineralisata dengan perbandingan 1:4 dan dihaluskan dengan blender selama 5 menit. Masing-masing massa yang dihasilkan disimpan dalam kemasan tertutup.

Pembuatan eerbuk rumput laut

Bubur rumput laut *Sargassum* sp. segar dan kering masing-masing dikeringkan dengan metode kering-beku (liopilisasi). Bubur dibekukan terlebih dahulu pada suhu -20°C selama 24 jam lalu dikeringbekukan pada suhu -49±2°C dengan tekanan vakum 11±2 Pa. Serbuk yang dihasilkan masing-masing diayak dengan mesh 80 dan disimpan dalam kemasan tertutup rapat di desikator.

Aktivitas antioksidan

Metode yang digunakan mengikuti Ye *et al.* (2009) dengan modifikasi. Larutan sampel (dengan konsentrasi berbeda sebanyak 1 mL ditambahkan 3 mL larutan DPPH-ethanol Pa segar. Campuran sampel-DPPH dihomogenkan dengan vorteks agar reaksi berjalan sempurna. Campuran larutan kemudian diinkubasi dalam vial tertutup rapat agar terlindung dari cahaya pada suhu ruang (27-30°C) selama 30 menit. Hasil inkubasi diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum. Perlakuan yang sama diberikan untuk blanko (3 mL larutan DPPH-ethanol dan 1 mL

akuademineralisata) dan kontrol positif (3 mL larutan DPPH-ethanol dan 1 mL larutan asam askorbat). Aktivitas inhibisi radikal bebas dikalkulasikan dengan rumus:

$$\% \text{ inhibisi} = \left[1 - \frac{(A_{\text{sampel}} - A_{\text{blanko}})}{A_{\text{blanko}}} \right] \times 100\%$$

Aktivitas anti-tirosinase

Penentuan inhibisi tirosinase dilakukan berdasarkan metode No *et al.* (1999) dengan modifikasi. Larutan dapar fosfat sebanyak 80 µL (50 mM; pH 6,5), larutan substrat (L-Tirosin) 40 µL, larutan enzim tirosinase 40 µL, dan 40 µL larutan sampel dimasukkan ke dalam plat mikro-96-sumuran. Campuran tersebut dihomogenkan dan diinkubasi pada waktu inkubasi optimum pada suhu 25-30°C dan selanjutnya diukur serapannya menggunakan microplate reader pada panjang gelombang maksimum. Perlakuan yang sama diberikan untuk kontrol blanko, blanko, kontrol sampel, dan kontrol positif asam kojat. Persentase aktivitas inhibisi tirosinase dihitung dengan rumus berikut:

$$\% \text{ inhibisi tirosinase} = \left[\frac{(A - B) - (C - D)}{(A - B)} \right] \times 100\%$$

Keterangan:

A = serapan larutan blanko

B = serapan larutan kontrol blanko

C = serapan larutan sampel

D = serapan larutan kontrol sampel

HASIL DAN PEMBAHASAN

Bubur dan Serbuk Rumput Laut

Hasil rumput laut cokelat yang diperoleh dari Pantai Pasauran, Serang, Banten setelah diamati memiliki ciri talus berwarna kecokelatan dengan bentuk seperti lembaran daun yang memiliki percabangan menyerupai tumbuhan tingkat tinggi yang dapat dilihat pada Gambar 1. Sampel tersebut kemudian diidentifikasi oleh Pusat Penelitian Oseanografi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Ancol sebagai *S. plagophyllum*.

Pengeringan rumput laut bertujuan untuk menghindari pembusukan selama penyimpanan. Masduqi *et al.* (2014) menyatakan bahwa metode kering angin



Gambar 1 *Sargassum plagyophyllum*

merupakan metode yang paling optimal dalam mendapatkan senyawa fenol dari *S. polycystum* sebesar 1.656,3 ppm dibandingkan dengan metode pengeringan lainnya yaitu menggunakan oven (1.274,4 ppm) dan pengeringan dibawah sinar matahari (1.178,7 ppm). Hal tersebut dikarenakan pengeringan dengan metode kering angin memiliki suhu yang lebih rendah dibandingkan pengeringan menggunakan oven dan di bawah sinar matahari.

Bubur dibuat sebagai bahan aktif pada penelitian ini dengan pertimbangan bahwa zat aktif yang terdapat di dalam rumput laut dapat dimanfaatkan tanpa ekstraksi dan potensinya sebagai tabir surya dengan nilai SPF 7 (Luthfiyana *et al.* 2016). Bubur pada penelitian tersebut menggunakan campuran bubur rumput laut antara *Sargassum* sp. dengan *Euchema cottonii*. Penggunaan bubur *Sargassum* sp. tunggal belum ada laporannya, di sisi lain bubur rumput laut cokelat tersebut tidak dapat disimpan sebagai bahan baku pembuatan sediaan farmasi sehingga pada penelitian ini bubur tersebut dikeringkan menjadi serbuk dengan metode kering-beku. Menurut Gumusay *et al.* (2015), metode kering-beku dilaporkan dapat menurunkan kehilangan komponen terkait aktivitas antioksidan dibandingkan dengan metode pengeringan lainnya yaitu pengeringan sinar matahari, oven, dan oven-vakum.

Serbuk segar berwarna cokelat yang lebih tua dibandingkan dengan serbuk kering (Gambar 2). Hal tersebut disebabkan karena serbuk segar dibuat dari bubur yang berasal dari rumput laut segar sehingga kandungan

pigmen cokelat belum hilang. Tekstur yang dihasilkan pun berbeda, serbuk segar memiliki tekstur yang lebih halus. Hal tersebut dikarenakan belum terjadi agregasi serat-serat yang terdapat pada rumput laut.

Aktivitas Antioksidan

Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan modifikasi dari metode Ye *et al.* (2009) dengan perbedaan jumlah sampel dan jenis pelarut yang digunakan. Asam askorbat digunakan sebagai kontrol positif untuk memastikan metode yang dipilih dapat digunakan. Nilai IC₅₀ dari asam askorbat yang didapatkan sebesar 0,0035 mg/mL. Bubur segar dan kering memiliki nilai IC₅₀ berturut-turut sebesar 27,31 mg/mL dan 41,13 mg/mL. Hasil tersebut menunjukkan bahwa bubur yang berasal dari rumput laut segar memiliki kandungan antioksidan 1,5 kali lipat lebih besar daripada serbuk rumput laut kering. Luthfiyana *et al.* (2016) melaporkan IC₅₀ bubur *Sargassum* sp. yang berasal dari Kepulauan Seribu sebesar 0,1196 mg/mL. Perbedaan hasil tersebut dapat disebabkan oleh beberapa faktor baik dari segi proses pembuatan maupun kondisi sampel *Sargassum* sp. Barrow dan Shahidi (2008) menyatakan bahwa komposisi proksimat pada spesies yang sama dapat bervariasi tergantung lokasi geografis dan waktu pengumpulan sampel, sedangkan menurut Balboa *et al.* (2013) umur dan faktor lingkungan juga berpengaruh.

Serbuk segar memiliki kandungan antioksidan lebih besar 6,5 kali lipat daripada serbuk kering. Nilai IC₅₀ serbuk segar dan

kering berturut-turut sebesar 2,21 mg/mL dan 13,18 mg/mL. Bubur dan serbuk dari sampel segar menunjukkan kandungan antioksidan yang lebih tinggi daripada sampel kering. Menurut Jaya dan Das (2005) sampel dapat terpapar oleh kondisi tidak diinginkan seperti kelembaban, oksigen, cahaya, dan suhu selama proses penyimpanan sehingga dapat menyebabkan degradasi dan kehilangan antioksidan. Agustini *et al.* (2015) melaporkan bahwa sampel segar dari *Spirulina* sp. memiliki kandungan antioksidan fenol dan flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel kering, hal tersebut diduga disebabkan senyawa polifenol pada umumnya rentan terhadap oksidasi yang menyebabkan penurunan jumlah setelah pengeringan. Floroglusinol merupakan struktur dasar dari florotanin seperti fenol pada umumnya dapat teroksidasi menjadi senyawa benzokuinon (Uliana *et al.* 2008).

Aktivitas Penghambatan Tirosinase

Uji aktivitas penghambatan tirosinase dilakukan pada kondisi pengujian optimum yaitu panjang gelombang maksimum 475 nm, waktu inkubasi 90 menit, konsentrasi substrat L-tirosin 2 mM, konsentrasi enzim 350 U/mL, dan suhu 25-30°C. Larutan kontrol sampel dibuat pada setiap pengujian sebagai pembanding data serapan sampel dengan dan tanpa enzim, sedangkan larutan blanko dibuat sebagai faktor koreksi serta menggunakan asam kojat sebagai kontrol positif.

Hasil penghambatan tirosinase oleh baku pembanding asam kojat, sampel serbuk segar dan kering berturut-turut dinyatakan dengan nilai IC₅₀ 0,0076 mg/mL; 4,97 mg/mL; dan 11,35 mg/mL. Serbuk yang berasal dari rumput laut segar memiliki aktivitas penghambatan tirosinase 2 kali lipat lebih besar daripada rumput laut kering. Hasil tersebut sejalan dengan hasil pengujian kandungan antioksidan yang telah dilakukan sebelumnya. Antioksidan sebagai penangkap radikal bebas dapat menghambat aktivitas enzim tirosinase dan menghambat transkripsi gen tirosinase (Maack dan Pegard 2016).

S. plagyophyllum sebagai salah satu jenis rumput laut cokelat memiliki senyawa fenolik florotanin yang merupakan kelompok

oligomer atau polimer dari floroglusinol (1,3,5-trihidroksibenzen) dengan ikatan aril (fucol), eter (floretol, hidroksifloretol, fuhalol) atau keduanya (fucofloretol) atau dengan dibenzodioksin (eckol dan carmalol) (Balboa *et al.* 2013). Derivat floroglusinol dari *Ectonia stolonifera* telah dilaporkan dapat menghambat tirosinase dengan menerima radikal bebas yang dihasilkan selama siklus katalitik enzim (Kang *et al.* 2004).

KESIMPULAN

S. plagyophyllum dapat dibuat dalam bentuk sediaan bubur dan serbuk rumput laut sehingga dapat memperkaya bahan baku sediaan farmasi. Aktivitas antioksidan baik bubur maupun serbuk rumput laut segar lebih besar daripada rumput laut kering. Aktivitas penghambatan tirosinase serbuk rumput laut segar lebih besar 2 kali lipat daripada serbuk rumput laut kering. Hasil optimal aktivitas penghambatan tirosinase dan antioksidan diperoleh dari serbuk rumput laut segar *S. plagyophyllum* sehingga berpotensi dikembangkan lebih lanjut menjadi zat aktif formula kosmetik pencerah kulit.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Pengelola Dana Pendidikan (LPDP) yang telah membiayai penelitian dengan nomor kontrak PRJ-946/LPDP/2015.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustini TW, Suzery M, Sutrisnanto D, Ma'ruf WF, Hadiyanto. 2015. Comparative study of bioactive substances extracted from fresh and dried *Spirulina* sp. *Procedia Environmental Sciences*. 23(Ictcred 2014): 282–289.
 Balboa EM, Conde E, Moure A, Falqué E, Domínguez H. 2013. Review: In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. *Food Chemistry*. 138(2-3): 1764–1785.
 Barrow C, Shahidi F. 2008. Marine Nutraceuticals and Functional Foods. Boca Raton: CRC Press.
 Chan YY, Kim KH, Cheah SH. 2011. Inhibitory effects of *Sargassum polycystum* on tyrosinase activity and melanin formation

- in B16F10 murine melanoma cells. *Journal of Ethnopharmacology*. 137(3): 1183–1188.
- Ebanks JP, Wickett RR, Boissy RE. 2009. Mechanisms regulating skin pigmentation: the rise and fall of complexion coloration. *International Journal of Molecular Sciences*. 10(9): 4066–4087.
- Ezzedine K, Guinot C, Mauger E, Pistone T, Rafii N, Receveur MC, Galan P, Hercberg S, Malvy D. 2007. Expatriates in high-UV index and tropical countries: sun exposure and protection behavior in 9,416 French adults. *Journal of Travel Medicine*. 14(2): 85–91.
- Gumusay OA, Borazan AA, Ercal N, Demirkol O. 2015. Drying effects on the antioxidant properties of tomatoes and ginger. *Food Chemistry*. 173(April): 156–162.
- Heffernan N, Brunton NP, FitzGerald RJ, Smyth TJ. 2015. Profiling of the molecular weight and structural isomer abundance of macroalgae-derived phlorotannins. *Marine Drugs*. 13(1): 509–528.
- Indriani MD. 2014. Ekstraksi rumput laut cokelat *Sargassum* sp. (CP 02) dan pengujian ekstrak sebagai inhibitor tirosinase. [skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Jaya S, Das H. 2005. Accelerated storage, shelf life and color of mango powder. *Journal of Food Processing and Preservation*. 29(1): 45–62.
- Kang HS, Kim HR, Byun DS, Son BW, Nam TJ, Choi JS. 2004. Tyrosinase inhibitors isolated from the edible brown alga *Ecklonia stolonifera*. *Archives of Pharmacal Research*. 27(12): 1226–1232.
- Luthfiyana N, Nurjanah, Nurilmala M, Anwar E, Hidayat T. 2016. Rasio bubur rumput laut *Euchema cottonii* dan *Sargassum* sp. sebagai formula krim tabir surya. *Jurnal Pengolahan Hasil Perikanan Indonesia*. 19(3): 183–195.
- Maack A, Pegard A. 2016. *Populus nigra (Salicaceae)* absolute rich in phenolic acids, phenylpropanoids and flavonoids as a new potent tyrosinase inhibitor. *Fitoterapia*. 111: 95–101.
- Masduqi AF, Izzati M, Prihastanti E. 2014. Efek metode pengeringan terhadap kandungan bahan kimia dalam rumput laut. *Buletin Anatomi Dan Fisiologi*. 22(1): 1–9.
- No JK, Soung DY, Kim YJ, Shim KH, Jun YS, Rhee SH, Yokozawa T, Chung HY. 1999. Inhibition of tyrosinase by green tea components. *Life Sciences*. 65(21): PL241–PL246.
- Sahat HJ. 2013. Rumput laut Indonesia. Warta Ekspor Kementerian Perdagangan RI, (September), 1–20. Diambil dari <http://swa.co.id/business-strategy/rumput-laut-indonesia-rambah-eropa>.
- Sanjeeewa KKA, Kim EA, Son KT, Jeon YJ. 2016. Bioactive properties and potentials cosmeceutical applications of phlorotannins isolated from brown seaweeds: a review. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 162: 100–105.
- Smit N, Vicanova J, Pavel S. 2009. The hunt for natural skin whitening agents. *International Journal of Molecular Sciences*. 10(12): 5326–5349.
- Uliana MP, Vieira YW, Donatoni MC, Corrêa AG, Brocksom U, Brocksom TJ. 2008. Oxidation of Mono-Phenols to para-Benzoquinones: a Comparative Study. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. 19(8): 1484–1489.
- Ye H, Zhou C, Sun Y, Zhang X, Liu J, Hu Q, Zeng X. 2009. Antioxidant activities in vitro of ethanol extract from brown seaweed *Sargassum pallidum*. *European Food Research and Technology*. 230(1): 101–109.
- World Health Organization. 2002. Global Solar UV index: A Practical Guide.