

## VITAMIN C, VITAMIN A AND ALPHA HYDROXY ACID IN BENGKOANG (*Pachyrhizus Erosus*)

### KANDUNGAN VITAMIN C, VITAMIN A DAN ALPHA HYDROXY ACID DALAM BENGKOANG (*Pachyrhizus Erosus*)

Ardian Widyatmoko, Dwi Hastutik, Ari Sudarmanto, Endang Lukitaningsih\*  
Faculty of pharmacy, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta

#### ABSTRACT

*Bengkoang or Pachyrhizus erosus has been used as a traditional cosmetic material since many years ago. Until now, many cosmetic preparations using bengkoang as a main material have been produced by cosmetic industries, mainly for skin care, whitening and sunscreen preparation. However, content of vitamin A, vitamin C and alpha hydroxyl acid has not been discovered yet. These compounds are essential in skin care process because of their activities in cell regeneration, antioxidant as well as peeling of dead skin cell layer. The aim of this research is to provide information about the content of three compounds in bengkoang. Vitamin A has been analysed by spectrophotometer, vitamin C analysed using titration method and alpha hydroxyl acid analysed using gas chromatography. The result showed that concentrations of vitamin A and vitamin C are  $179.21 \pm 8.19$  ppm and  $0.31 \pm 0.06$  %, respectively. Meanwhile the content of alpha hydroxyl acid was  $0.80 \pm 0.01$ % (measured as glycolic acid).*

**Key words:** bengkoang, vitamin A, vitamin C, alpha hydroxyl acid

#### ABSTRAK

*Bengkoang atau Pachyrhizus erosus telah lama digunakan sebagai bahan kosmetika tradisional sejak puluhan tahun yang lalu. Bahkan sampai sekarang banyak diproduksi sediaan kosmetik terutama untuk perawatan kulit, pemutih serta tabir surya menggunakan bahan dasar bengkoang. Namun demikian, informasi kandungan vitamin A, vitamin C dan alpha hydroxyl acid (AHA) yang ada dalam bengkoang belum dipublikasikan. Senyawa-senyawa tersebut sangat bermanfaat dalam perawatan kulit karena memiliki aktivitas sebagai pemacu regenerasi sel, antioksidan dan peeling sel kulit yang mati. Penelitian ini bertujuan untuk memberikan informasi ketiga kandungan senyawa tersebut. Dalam penelitian ini, vitamin A dianalisis secara spektrofotometri, vitamin C secara titrasi dan AHA dianalisis menggunakan kromatografi gas. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan vitamin A dan vitamin C dalam bengkoang berturut-turut  $179,21 \pm 8,19$  ppm dan  $0,31 \pm 0,06$  %, sedangkan kandungan alpha hydroxyl acid adalah  $0,80 \pm 0,01$  % (dihitung sebagai asam glikolat).*

**Kata kunci:** bengkoang, vitamin A, vitamin C, alpha hydroxyl acid

#### PENDAHULUAN

Bengkoang telah digunakan oleh nenek moyang selama berpuluh-puluh tahun sebagai bahan kosmetika tradisional seperti bedak dingin masih banyak dijumpai hingga saat ini. Kandungan senyawa esensial bagi kulit seperti vitamin C, vitamin A dan AHA dalam bengkoang belum pernah diteliti, meskipun informasi tentang metabolit sekunder di dalamnya telah dilaporkan. Beberapa metabolit sekunder dalam bengkoang berikut aktivitasnya telah diteliti. Lukitaningsih dan Holzgrave (2014) menyatakan bahwa bengkoang gandung senyawa golongan

isoflavin yaitu daidzein, daidzein-7-o- $\beta$ -glukopiranosida, 5-OH-daidzein-7-o- $\beta$ -glukopiranosida dan 8,9-furanyl-pterocarpin-3-ol. Senyawa tersebut juga telah diteliti aktivitasnya meliputi aktivitas menyerap sinar UV, antioksidan dan penghambatan enzim tyrosinase (Lukitaningsih et al., 2013). Kandungan fitosterol utama dalam umbi bengkoang juga telah diketahui yaitu mengandung  $\beta$ -sitosterol dan stigmasterol dengan konsentrasi sekitar 0,02 % per berat kering bengkoang atau sekitar 2,76 % dalam ekstrak petroleum eter bengkoang (Lukitaningsih et al., 2012). Aktivitas ekstrak bengkoang sebagai agent kemopreventif juga telah dilaporkan oleh Nurrochmad et al (2013).

\*Correspondence author: Endang Lukitaningsih  
Email: lukitaningsih\_end@ugm.ac.id

Ketiga senyawa (vitamin C, vitamin A dan kandungan senyawa AHA) sangat diperlukan dalam perawatan kulit. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian untuk menetapkan kandungannya dalam bengkoang untuk menambah saintifikasi penggunaan bengkoang sebagai bahan kosmetika maupun suplemen perawatan kulit.

Vitamin C telah dikenal sebagai antioksidan potensial yang mampu menangkap radikal bebas dalam tubuh serta mencegah hiperpigmentasi. Radikal bebas dalam tubuh sendiri dapat meningkat pada kondisi tubuh yang telah tua maupun karena paparan sinar matahari yang berlebihan. Dalam jumlah yang cukup, sinar matahari bermanfaat untuk mengubah provitamin D menjadi vitamin D (Juzenene dan Moah, 2012). Namun dalam jumlah yang berlebih, menurut Povillot dkk. (2011) sinar matahari mampu menghasilkan spesies radikal yang dapat berupa radikal hidrogen peroksida, superoksida anion, maupun radikal oksigen (American Cancer Society, 2014). Di samping itu, sinar UV juga mampu mengaktifasi sel-sel melanosit (Walters, 1997; Matsuura, 2006; Standring, 2008) dan merusak inti sel keratinosit dengan cara pengaktifan p53 (Juzeniene dan Moan, 2012). Senyawa vitamin C, vitamin E dan derivat fenol dan flavonoid dalam banyak tumbuhan juga memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Carocho, dkk., 2013; Kim *et al.* 2004) sekaligus mencegah hiperpigmentasi melalui penghambatan tyrosinase. Oleh karena itu senyawa ini banyak digunakan sebagai bahan kosmetika alami (Wang *et al.* 2006; Sandler 2005; Sudjaroen *et al.* 2005).

Disamping kedua efek di atas, paparan sinar matahari yang berlebihan juga dapat menyebabkan kerusakan lapisan kolagen kulit, sehingga kulit kehilangan elastisitasnya dan kelihatan menua. Penuaan dini dapat dihambat oleh senyawa-senyawa *alpha hydroxyl acid (AHA)* yang banyak ditemukan dalam buah-buahan segar. AHA beraktivitas mempercepat pergantian kulit atau peremajaan sel kulit, sehingga kulit tampak segar dan tidak berkerut (Draeos and Thaman, 2006). Nutrisi esensial lain bagi kulit adalah vitamin A yang berfungsi menjaga kesehatan kulit serta memperbaiki permukaan kulit yang kasar dan berkerut (Draeos and Thaman, 2006).

## METODOLOGI

### Alat dan bahan

Bengkoang (diambil di daerah Prembun, Jawa Tengah pada musim kering Juli-Agustus). Larutan penyari petroleum eter dan etanol

(berderajat teknis), asam metafosfat, asam asetat, 2,6-diklorofenolindofenol, heksan, standard asam glikolat, standard asam askorbat, aquades, kalium hidroksida, standar vitamin A palmitat, metanol. Kecuali larutan penyari, bahan standard, aquades dan sampel, bahan kimia tersebut berderajat pro analisis (Merck, Darmstad, Jerman).

Kromatografi Gas (Shimadzu tipe QP2010S) yang dilengkapi dengan detektor *flame ionized detector* (FID), rotary evaporator (Heidolph WB 2000), spektrofotometer uv-vis (Spectronic Genesys 10), neraca analitik, blender, pompa vakum, oven, alat gelas

### Jalannya Penelitian

#### Determinasi kandungan AHA

Bengkoang dikupas kulitnya, dicuci dan dipotong kecil-kecil kemudian diblender. Bagian air dipisahkan dari bagian ampas dengan penyaringan. Residu kemudian diekstraksi berturut-turut menggunakan eter dan etanol. Ekstrak eter dan etanol dikumpulkan secara terpisah, dipekatkan dan dianalisis. Air perasan bengkoang, ekstrak etanol dan eter dari bagian residu perasan bengkoang ditetapkan kandungan asam glikolatnya menggunakan kromatografi gas. Masing-masing komponen sampel ini dianalisis sebanyak tiga kali replikasi.

Dibuat seri konsentrasi baku asam glikolat dengan rentang konsentrasi 2,50 – 20,00 mg/mL), kemudian masing-masing diinjeksikan sejumlah 1,0 µl ke dalam kromatografi gas. Kurva hubungan antara berat asam glikolat yang diinjeksikan versus luas area puncak kromatogram dibuat untuk menghitung konsentrasi asam glikolat dalam sampel bengkoang.

Kromatografi gas dikondisikan sebagai berikut: Kolom : kolom kapiler Rtx-5 MS, panjang 30 meter, diameter dalam 0,25 mm; Fase gerak : gas helium dengan kecepatan alir total 30 ml/menit; Detektor : FID dengan suhu 300°C, tekanan gas hidrogen dan tekanan gas oksigen masing-masing 1kgf

Pengaturan temperatur kolom : suhu diatur 80°C selama 5 menit, kemudian dinaikkan hingga mencapai suhu 290°C pada menit ke-10. Suhu dipertahankan hingga menit ke-34.

Suhu injektor diatur 300°C.

#### Determinasi kandungan vitamin C

Sebanyak 200,0 gram bengkoang diblender dalam pelarut asam metafosfat, dan diperas. Bagian air perasan kemudian difraksinasi berturut-turut menggunakan heksan dan eter. Fraksi air bebas material non polar selanjutnya ditetapkan kandungan vitamin C nya dengan metode sebagai berikut. Diambil 25,0 ml fraksi air

dan dititrisi dengan larutan 2,6-diklorofenolindofenol 0,025% yang telah distandarisasi menggunakan baku asam askorbat. Titrisi dihentikan sampai terbentuk warna merah keunguan sebagai titik akhirnya. Volume titran dicatat sebagai  $V_1$ . Analisis dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan. Diambil 100 ml fraksi air dan ditambah 5 gram norit ke dalamnya. Larutan selanjutnya disaring secara kuantitatif dan volume titran ditambah dengan aquades hingga volumenya 100,0 ml. Diambil sebanyak 25,0 ml filtrat dan dititrisi dengan larutan 2,6-diklorofenolindofenol 0,025% hingga warna merah keunguan. Volume titran dicatat sebagai  $V_2$ . Analisis dikerjakan sebanyak 5 kali pengulangan. Kadar vitamin C dinyatakan dengan perhitungan:

$$\text{Vitamin C} = \frac{(V_1 - V_2) \times fp \times \text{faktor kesetaraan}}{b} \times 100\% \text{ b/b}$$

Keterangan :  $fp$ =faktor pengenceran;  $B$ =bobot penimbangan sampel (gram)

#### Determinasi kandungan vitamin A

Dibuat seri konsentrasi larutan vitamin A dalam pelarut etanol. Serapan masing-masing larutan baku dibaca pada panjang gelombang 332 nm menggunakan spektrofotometer. Kurva baku vitamin A selanjutnya dibuat dengan menghubungkan konsentrasi baku versus absorbansi.

Lima kilogram sampel bengkoang diblender halus kemudian diperas dan diambil filtratnya. Filtrat yang diperoleh secara kuantitatif dimasukkan dalam corong pisah dan diekstraksi dengan petroleum eter. Fraksi petroleum eter yang diperoleh dikumpulkan secara kuantitatif kemudian diuapkan dengan rotary evaporator hingga volume 50,0 mL. Bagian ampas dimaserasi berturut-turut menggunakan eter dan etanol. Fraksi eter dan etanol dikumpulkan secara terpisah dan dipekatkan. Diambil masing-masing sejumlah 50,0 mL fraksi eter air perasan, ekstrak eter dan etanol ampas bengkoang kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer yang berisi 50 ml etanol. Campuran segera direfluks di atas penangas air selama 30 menit menggunakan 5 ml larutan KOH 50% yang dibuat baru. Setelah dingin, selanjutnya hasil refluks dipartisi menggunakan aquades dan petroleum eter. Fase petroleum eter dikumpulkan, dihilangkan tapak-tapak air dengan natrium sulfat anhidrat, dipekatkan dan selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 332 nm. Kadar vitamin A dalam sampel dihitung menggunakan kurva baku yang telah disiapkan.

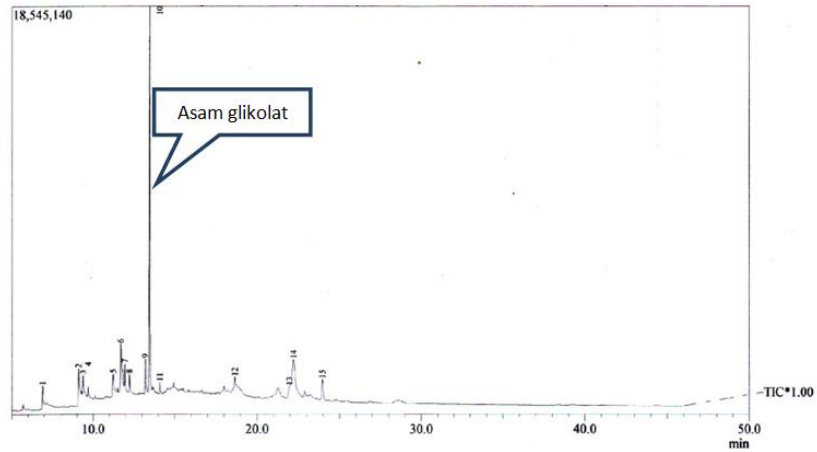
#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis *alpha hydroxyl acid* yang diekspresikan sebagai asam glikolat telah dilakukan menggunakan kromatografi gas yang telah dioptimasi. Senyawa glikolat termasuk senyawa sederhana dan volatil (Haynes, 2013) dapat dianalisis menggunakan gas kromatografi yang dilengkapi dengan kolom Rtx-5 MS yang berisi diphenyl dimethyl polysiloxane. Senyawa AHA jenis asam glikolat termasuk senyawa yang polar, sehingga banyak terdapat dalam air perasan dan ekstrak etanol, sedangkan dalam ekstrak eter diperkirakan praktis tidak mengandung asam glikolat. Gambar kromatogram standar asam glikolat dan sampel disajikan dalam Gambar 1 (gambar 1a dan b). Asam glikolat memiliki waktu retensi  $13,47 \pm 0,12$  menit. Persamaan kurva baku hubungan antara berat asam glikolat versus luas area kromatogram adalah

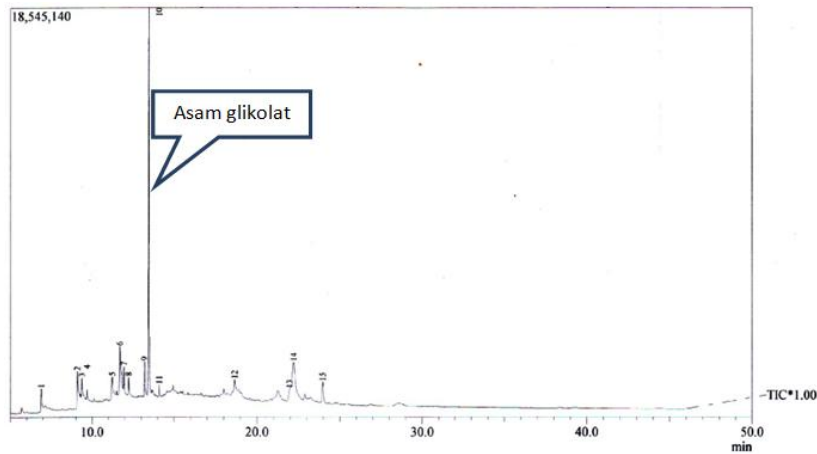
$$Y = (0,4385 \pm 0,28) X - (0,0617 \pm 0,0407)$$

$Y$  adalah luas area (mAU.sec),  $X$  adalah berat standar asam glikolat ( $\mu\text{g}$ ), harga  $R^2$  adalah 0,9992. Berdasarkan persamaan kurva baku dalam Gambar 2, dapat dihitung harga *limit of detection* (LOD) untuk menentukan perkiraan konsentrasi minimal asam glikolat yang dapat dideteksi secara kuantitatif dengan reliabilitas yang tinggi. Harga LOD yang diperoleh adalah  $2,26 \mu\text{g}$ , yaitu tiga kali dari noise yang dalam hal ini diekspresikan dari tiga kali simpangan baku intersep ( $A$ ). Kandungan asam glikolat total dalam bengkoang kering adalah  $0,80 \pm 0,01 \%$  yang terdistribusi sesuai data dalam Tabel I. Berdasarkan hasil tersebut, maka bengkoang dapat dikembangkan sebagai bahan kosmetika *exfoliant* dengan efek meremajakan kulit.

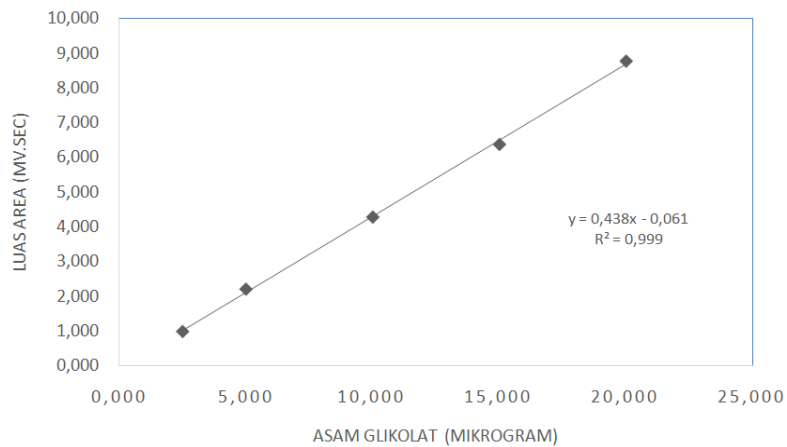
Kandungan vitamin C dalam bengkoang telah dilakukan dengan titrisi menggunakan 2,6-diklorofenolindofenol (DCIP) dan diperoleh hasil  $0,31 \pm 0,06\%$  berat kering sesuai dengan Tabel II, sedangkan reaksi kimia antara vitamin C dan pereaksi 2,6-diklorofenolindofenol disajikan dalam Gambar 3. Metode titrisi menggunakan 2,6-diklorofenolindofenol memiliki selektifitas rendah yaitu dapat bereaksi dengan reduktor selain vitamin C. Untuk meminimalisir interferensi reduktor lain, maka digunakan norit. Perendaman sampel dengan asam metafosfat bertujuan untuk mencegah kerusakan vitamin C oleh enzim pengoksidasi yang ada dalam sampel. Berdasarkan hasil penelitian ini, bengkoang memiliki kandungan vitamin C meskipun sangat rendah, sehingga pemanfaatan bengkoang sebagai antioksidan hanya berdasarkan kandungan vitamin C sangat kurang menguntungkan.



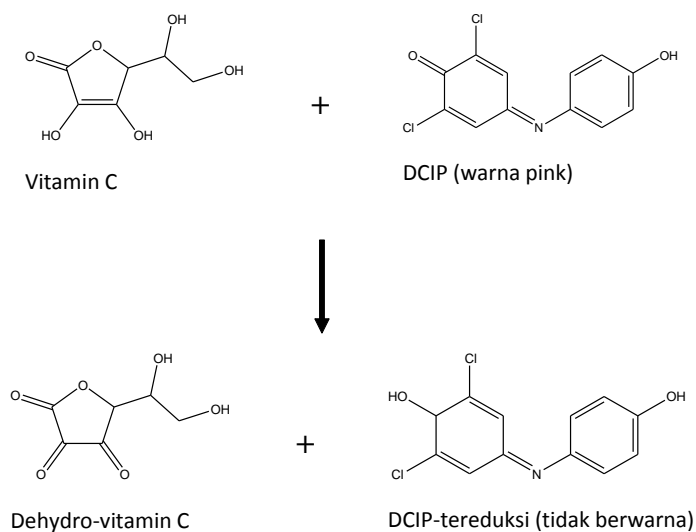
Gambar 1a. Kromatogram standard asam glikolat diamati secara gas kromatografi. Waktu retensi Asam glikolat = 13,470 min (puncak no 10)



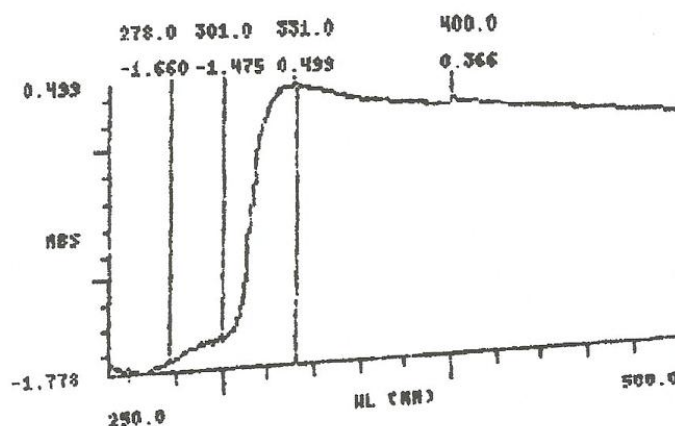
Gambar 1b. Kromatogram sampel bengkoang yang mengandung asam glikolat diamati secara gas kromatografi. Waktu retensi Asam glikolat = 13,456 min (puncak no 6)



Gambar 2. Kurva baku asam glikolat yang dianalisis menggunakan GC-FID



Gambar 3. Reaksi antara vitamin C dan 2,6 dikloroindolphenol (DCIP)



Gambar 4. Spektrogram standard Vitamin A

Penelitian lain oleh Lukitaningsih (2009) menyatakan bahwa bengkoang ternyata memiliki potensi antioksidan yang cukup besar, karena bengkoang memiliki senyawa flavonoid dan trilinolein yang terdapat dalam kandungan ekstrak etil asetat. Oleh karena itu bengkoang masih dapat dikembangkan sebagai bahan antioksidan dalam sediaan kosmetika dengan memanfaatkan kandungan antioksidan selain vitamin C.

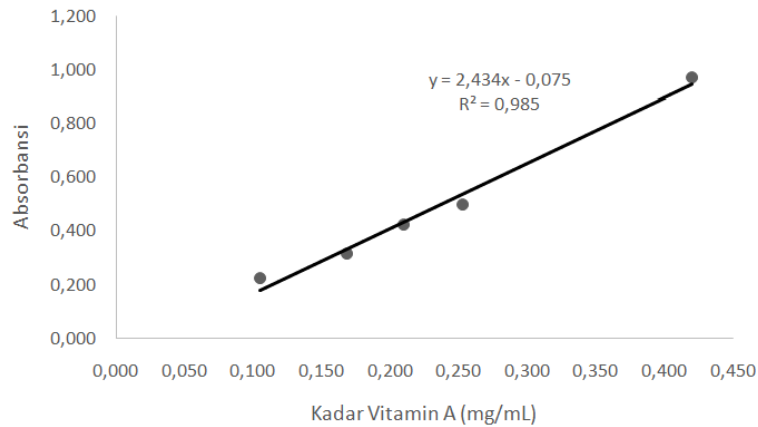
Kandungan vitamin A dalam bengkoang telah dianalisis menggunakan metode spektrofotometer pada panjang gelombang maksimum 332 nm (Gambar 4). Validasi metode analisis yang meliputi penetapan *recovery* dan batas deteksi analisis juga telah dilakukan

sebelumnya, dengan hasil *recovery*  $82,89 \pm 15,92$  % dan *limit of detection* 0,043 mg/ml. Oleh karena itu, metode ini dapat digunakan untuk analisis vitamin A dengan reliabilitas yang baik. Kurva baku hubungan konsentrasi vitamin A dan absorbansi telah ditentukan (Gambar 5), dengan persamaan regresi linear sebagai berikut:

$$Y = 2,4340 X - 0,0753;$$

*Y* adalah absorbansi, *X* adalah konsentrasi vitamin A (mg/ml), harga  $R^2$  adalah 0,9856

Dari persamaan regresi linear diperoleh harga  $R^2$  yang relatif kurang bagus yaitu 0,9856. Hal ini dimungkinkan oleh adanya gangguan matriks selain vitamin A yang ikut terdeteksi.



Gambar 5. Kurva Baku Vitamin A yang ditetapkan secara spektrofotometri

Tabel I. Hasil perhitungan kadar asam glikolat dalam bengkoang

Bagian sampel		Kadar asam glikolat (%)	Kadar asam glikolat total (%)
Air perasan	Air perasan	0,46 ± 0,01	
	Ekstrak Etanol	0,21 ± 0,02	0,80 ± 0,01
Residu	Ekstrak Eter	0,13 ± 0,01	

Tabel II. Hasil Penetapan kadar vitamin C dalam bengkoang secara titrimetri menggunakan 2,6-diklorofenolindofenol

No	Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Replikasi	Volume titran (mL)		Kadar vit C dalam sampel kering (% b/b)
				Tanpa norit (V1)	Dengan norit (V2)	
1	240,1	20,90	1	11,20	0,350	0,40
			2	10,40	0,145	0,38
			3	9,60	0,125	0,35
			4	9,85	0,150	0,36
			5	8,90	0,130	0,32
2	243,17	21,23	1	7,35	0,160	0,26
			2	7,50	0,145	0,27
			3	6,95	0,155	0,25
			4	6,90	0,155	0,24
			5	6,85	0,150	0,24
Kadar Vitamin C Rata-Rata (%)						0,31 ± 0,06

Catatan:Konsentrasi larutan baku 2,6-diklorofenolindofenol adalah 0,025% dengan angka kesetaraan 0,076

Tabel III. Kadar Vitamin A dalam Bengkoang

Bagian yang dianalisis	Kandungan vitamin A (ppm berat kering)
Fraksi eter dari air perasan	97,95 ± 10,05
Ekstrak eter dari ampas	32,21 ± 2,79
Ekkstrak etanol dari ampas	49,05 ± 11,73
TOTAL	179,21 ± 8,19

Oleh karena itu disarankan untuk menggunakan sistem kromatografi yang memungkinkan terjadinya pemisahan komponen analit vitamin A dari senyawa pengganggu sebelum dideteksi oleh detektor spektrofotometer. Hasil analisis kandungan vitamin A disajikan dalam Tabel III.

Distribusi vitamin A terbanyak ditemukan dalam fraksi eter dari air perasan bengkoang. Berdasarkan hasil analisis ini, maka bengkoang dapat digunakan sebagai bahan kosmetika untuk menjaga kesehatan kulit dan memperbaiki

permukaan kulit yang kasar dan berkerut, sehingga kulit tampak halus dan berseri.

## KESIMPULAN

Bengkoang terbukti mengandung vitamin C ( $0,31 \pm 0,06$  %), vitamin A ( $179,21 \pm 8,19$  ppm) dan *alpha hydroxyl acid* ( $0,80 \pm 0,01$  % dihitung sebagai asam glikolat). Oleh karena itu bengkoang dapat digunakan sebagai bahan kosmetika untuk perawatan kulit terutama dalam pencegahan penuaan dini dan memacu regenerasi sel kulit.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih disampaikan kepada Universitas Gadjah Mada yang telah membiayai penelitian ini melalui program MAK 5250 ditujukan kepada Endang Lukitaningsih

## DAFTAR PUSTAKA

- American Cancer Society, 2014. Skin Cancer: Basal and Squamous Cell. (<http://www.cancer.org>, diakses pada 13 Maret 2015)
- Carocho, M., and Ferreira, I.C.F.R. 2013. A Review on Antioxidants, Prooxidants and Related Controversy: Natural and Synthetic Compounds, Screening and Analysis Methodologies and Future Perspectives. *Food Chem. Toxicol.* 51: 15–25.
- Haynes, W.M. (ed.). 2013. *Handbook of Chemistry and Physics*. 94<sup>th</sup> ed. CRC Press LLC, Boca Raton: Florida. pp. 3-284
- Juzeniene, A. and Moan, J. 2012. Beneficial Effects of UV Radiation Other Than Via Vitamin D Production, *Dermatoendocrinol.* 4(2): 109–117.
- Khatib, S., Nerya, O., Musa, R., Shmuel, M., Tamir, S., Vaya, J. 2005. Chalcones as potent tyrosinase inhibitors: the importance of a 2,4-substituted resorcinol moiety. *Bioorg. Med. Chem.* 13: 433-441.
- Kim, D., Park, J., Kim, J., Han, C., Yoon, J., Kim, N., Seo, J., Lee, C. 2006. Flavonoids as mushroom inhibitors: A Fluorescence quenching study. *J. Agric. Food Chem.* 54: 935-941
- Lukitaningsih, E. 2009. The exploration of whitening and sun screening compounds in bengkoang roots (*Pachyrhizus erosus*), *Dissertation*, Würzburg, Germany
- Lukitaningsih, E., Bahi, M., Holzgrabe, U. 2013. Tyrosinase Inhibition Type of Isolated Compounds Obtained from *Pachyrhizus erosus*. *Aceh Int. J. Sci. Technol.* 2 (3): 98-102.
- Lukitaningsih, E., Holzgrabe, U. 2014. Bioactive compounds in Bengkoang (*Pachyrhizus erosus*) as Antioxidant and Tyrosinase Inhibition Agents. *Indonesian J. Pharm.* 25(2): 68-75.
- Lukitaningsih, E. 2012. Phytosterol in Bengkoang. *Pharmacon.* 13(2): p 47-54.
- Matsuura, R., Ukeda, H., Sawamura, M. 2006. Tyrosinase inhibitory activity of Citrus essential oils. *J. Agric. Food Chem.* 54: 2309-2313.
- Nurrochmad, A., Lukitaningsih, E., Monikawati, A., Septhea, D.B., Meiyanto, E. 2013. Combination of low-concentration of novel phytoestrogen (8,9)-furanyl-pterocarpan-3-ol from *Pachyrhizus erosus* attenuated tamoxifen-associated growth inhibition on breast cancer T47D cells. *Asian Pac J Trop Biomed.* 3(11): 847-852.
- Pouillot, A., Polla, L.L., Tacchini, P., Neequaye, A., Polla, A., dan Polla, B. 2011. Natural Antioxidants and Their Effects on The Skin. in: *Formulating, Packaging, and Marketing of Natural Cosmetic Products*. John Wiley & Sons, Inc., pp 239 – 253.
- Sandler, J. A. 2005. The Phytochemical Extraction and analysis of new flavonoids and saponins from the genus *Silphium*, *Dissertation*, The University of Texas at Austin, pp 1-23.
- Standring, S. 2008. *Gray's Anatomy : The Anatomical Basis of Clinical Practice*, Churchill Livingstone, UK.
- Sudjaroen, Y., Haubner, R., Würtele, G., Hull, W. E., Erben, G., Spiegelhalter, B., Changbumrung, S., Bartsch, H., Owen, R. W. 2005. Isolation and structure elucidation of phenolic antioxidants from Tamarind (*Tamarindus indica* L.) seeds and pericarp, *Food Chem. Toxicol.* 43: 1673-1682.
- Walters, C., Keeney, A., Wigal, C.T., Johnston, C.R., and Cornelius, R. 1997. The spectrophotometric analysis and modelling of sunscreens. *J. Chem. Edu.* 74: 99-101.
- Wang, K.H., Lin, R.D., Hsu, F.L., Huang, Y.H., Chang, H.C., Huang, C.Y., Lee, M.H. 2006. Cosmetic applications of elected traditional Chinese herbal medicines. *J. Ethnopharmacol.* 106: 353-359.