

## POTENSI ANTIOKSIDAN DAN ANTI-ELASTASE EKSTRAK DAUN KELOR (*MORINGA OLEIFERA*) TERHADAP ANTIAGING

Glorio Ias Natanael<sup>1</sup>, Gidion Franklin Simorangkir<sup>2</sup>, Nanda Parariski  
Purba<sup>3</sup>, Mardiana Putri Br. Tambunan<sup>4</sup>, Adek Amansyah<sup>5\*</sup>,  
Ali Napiah Nasution<sup>6</sup>

Fakultas Kedokteran

<sup>1,2,3,4,5,6</sup>Universitas Prima Indonesia, Medan, Indonesia

Email: glorio.glory@gmail.com

\*Corresponding Author: adek\_amansyah@yahoo.com

### ABSTRACT

*Skin aging caused by oxidative stress that leads to the formation of wrinkles, pigmentation, and asteatosis. On the other hand, the elastase enzyme also can influence the elasticity of the skin that leads to sagging. Moringa leaves (*Moringa oleifera* Lamk) has been reported contain some active compounds like flavonoid that has antioxidant and anti-aging potential. This study was presented to determine the potential of moringa leaves extract (MLE) in scavenging DPPH radicals and inhibiting the elastase enzyme. MLE was obtained by using maceration methods. The potential of MLE in scavenging DPPH radicals and inhibiting elastase enzyme was determined using spectrophotometric methods. MLE has IC50 value of DPPH scavenging activity also elastase inhibitory activity at  $109.67 + 0.83 \mu\text{g/mL}$  and  $159.67 + 7.95 \mu\text{g/mL}$ . MLE has antioxidant and anti-aging potential as indicated by DPPH scavenging activity and elastase inhibitory. However, MLE has moderate DPPH scavenging activity and low elastase inhibitory activity.*

**Keywords:** *Antiaging, Antioxidant, Moringa Leaves*

### PENDAHULUAN

Suatu proses penurunan kemampuan fungsi jaringan yang membawa pengaruh bagi semua organ baik organ dalam maupun luar seperti kulit disebut sebagai penuaan (Tobin, 2017). Gangguan di mana kulit tidak dapat mempertahankan integritas fisiologis dan strukturalnya disebut penuaan kulit (Girsang & Lister, 2019). Dalam proses penuaan kulit, paparan sinar matahari yang mengandung sinar UV menjadi faktor ekstrinsik utama, sehingga sering disebut dengan photoaging (Ahmad & Damayanti, 2018). Paparan sinar UV

yang berlebihan menyebabkan terbentuknya radikal bebas dalam sel yang dapat merusak komponen sel, yang dapat menyebabkan kulit menjadi kering, keriput, dan kusam (Masaki, 2010). Selain itu sinar UV juga mempengaruhi elastisitas kulit yang terdegradasi oleh enzim elastase dalam matriks ekstraseluler yang menyebabkan timbulnya kerutan. Enzim inilah yang berperan dalam mendegradasi elastin yang juga memiliki peran masing-masing dalam keterlibatan mereka dalam proses penuaan (G.N. et al., 2013; Pittayapruek et al., 2016). Maka upaya

untuk mencegah dan mengatasi hal tersebut diperlukan senyawa seperti antioksidan dan anti elastase.

Daun kelor juga mengandung vitamin dan berbagai metabolit sekunder seperti fenolik, flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, dan terpenoid (Sankhalkar & Vernekar, 2016) yang pada akhirnya menarik minat pada flavonoid dan fenolat khususnya karena sifat antioksidan dan antioksidan radikal bebas, baik in vitro maupun in vivo (Sankhalkar & Vernekar, 2016).

Oleh karena itu, penelitian ini disajikan untuk mengetahui potensi antioksidan dan anti-etilase ekstrak daun kelor (EDK) DPPH terhadap antiaging.

## **METODE**

### *Pembuatan ekstrak daun kelor (EDK)*

Penelitian ini menggunakan daun kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) Dari PT. Moringa Organik Indonesia, Blora, Jawa Tengah, Indonesia. Dan teridentifikasi di Sekolah Tinggi Ilmu Hayati (STIH), Institut. Teknologi Bandung. (ITB), Bandung, Jawa Barat, Indonesia. Ekstrak diperoleh dengan menggunakan metode maserasi. Daun sebanyak 600 g dikeringkan, dihaluskan, kemudian direndam dengan etanol 70%. per 24 jam. Proses ini diulangi sampai filtrat menjadi tidak berwarna, kemudian dikonsentrasikan dengan evaporator

zhengzhou RE 201D hingga ekstrak daun kelor (EDK) terkumpul dan disimpan pada suhu -20 °C (Vrianty et al., 2019; Widowati et al., 2016).

### *Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH*

Proses ini dilakukan dengan menggunakan metode fotometri. Daun kelor yang digunakan terdiri dari beberapa konsentrasi yaitu 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25 dan 3.13 µg/mL yang dilarutkan pada larutan DMSO 10% (Merck, 1029522500) kemudian ditambahkan kedalam 96 *Well-Plate* sebanyak 50 µL. dan ditambahkan 0,077 mmol DPPH (Sigma, D9132) dalam larutan metanol sebanyak 200 µL.

Campuran tersebut kemudian diinkubasi pada suhu kamar di ruang gelap selama 30 menit. Pembaca microplate seperti Spektrofotometer Microplate, Thermo Scientific digunakan untuk membaca perubahan warna pada 517 nm. kemudian aktivitas antioksidan DPPH dihitung dengan rumus sebagai berikut (Girsang et al., 2020; Lister et al., 2019).

$$\% \text{ Scavenging} = \frac{C-S}{C} \times 100\%$$

C: Aktivitas absorbansi tanpa EDK

S: Aktivitas absorbansi dengan EDK

### *Pengujian Anti-Etilase*

Pengujian ini diukur dengan Sigma Aldrich dan Thring *et al* dengan sedikit modifikasi (Thring et al., 2009). EDK

dengan konsentrasi akhir 666.67; 333.33; 166.67; 83.33; 41.67 and 20.83 µg/mL ditambahkan sebanyak 10 µL yang di campurkan dengan enzim elastase dari pancreas babi (0.0033 U/mL, Sigma, 45124) sebanyak 5 µL serta buffer tris (100 mM, pH 8, Phamacia Biotech 17-1321-01) sebanyak 125 µL.

Kemudian campuran diinkubasi selama 15 menit pada suhu kamar. Setelah itu, Kandungan N-Sucanyl- Ala-Ala-Ala-p-Nitroanilide (SucAla3- pNA) ditambahkan dan diinkubasi lagi selama 15 menit pada kondisi yang sama. Absorbansi langsung terbaca pada panjang gelombang 410 nm dan Aktivitas penghambatan diukur menggunakan rumus sebagai berikut. (Girsang, Bethasari et al., 2020; Widowati et al., 2017).

$$\% \text{ inhibitory} = \frac{C-S}{C} \times 100\%$$

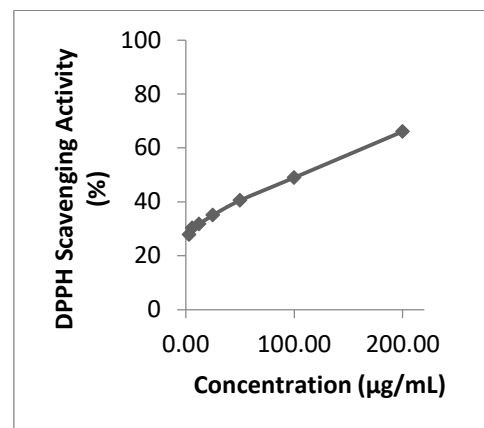
C: Aktivitas absorbansi tanpa EDK

S: Aktivitas absorbansi dengan EDK

## HASIL DAN PEMBAHASAN

*Aktivitas antioksidan DPPH pada EDK*

Gambar 1 menampilkan aktivitas antioksidan DPPH pada EDK pada berbagai kondisi. Aktivitas tertinggi dari EDK dijumpai pada nilai 200 µL/mL (66.08 ± 0.5%), sementara aktivitas yang paling rendah dari EDK ditemukan pada nilai 3.13 µL/mL (27.8 ± 1.97%). Selanjutnya, nilai IC<sub>50</sub> dari aktivitas antioksidan pada EDK didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa yang digunakan untuk mengikat 50% radikal DPPH yang terkandung di dalam larutan dan ditentukan dengan analisis regresi linier. Regresi linier untuk EDK berada pada Tabel 1, pada Tabel 1 diketahui bahwa IC<sub>50</sub> untuk EDK berada pada nilai 109.67 µg/mL.



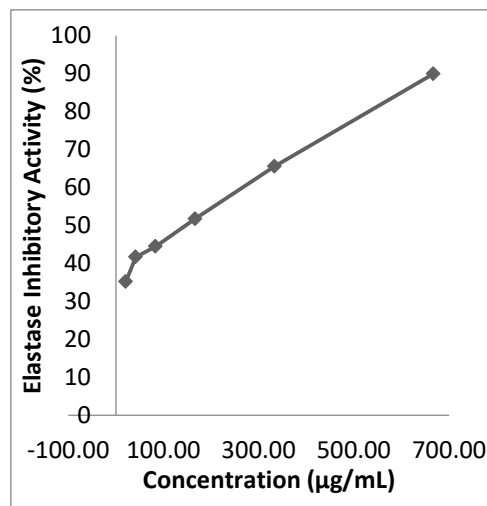
**Gambar 1.** Aktivitas antioksidan DPPH dari EDK dalam berbagai konsentrasi

**Tabel 1.** Persamaan regresi linier dan Nilai IC<sub>50</sub> aktivitas antioksidan DPPH EDK

Samples	Equation	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
EDK	y = 0.1827x + 29.853	0.99	110.27	
EDK	y = 0.1877x + 29.352	0.99	110.01	
EDK	y = 0.1926x + 29.059	0.98	108.73	
EDK (Average)	y = 0.1876x + 29.421	0.99	109.70	109.67 ± 0.83

*Aktivitas Anti-Elastase pada EDK*

Berdasarkan gambar 2, diketahui bahwa aktivitas tertinggi dari Anti-Elastase berada pada nilai 666.67 µg/mL (89.94 ± 0.72%) sementara itu untuk aktivitas paling rendah berada pada nilai 20.83 µg/mL (35.20 ± 0.24). Nilai IC<sub>50</sub> dari aktivitas anti-elastase juga ditentukan dengan cara analisis regresi linier yang dapat dilihat pada tabel 2. Hasil menunjukkan bahwa nilai IC<sub>50</sub> dari aktivitas anti-elastase berada pada nilai 159.67 ± 7.95 µg/mL.



**Gambar 2. Aktivitas anti-elastase dari EDK dalam berbagai konsentrasi**

**Tabel 2. Persamaan regresi linier dan Nilai IC<sub>50</sub> aktivitas anti-elastase dari EDK**

Samples	Equation	R <sup>2</sup>	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
EDK	y = 0.0804x + 37.065	0.98	163.99	
EDK	y = 0.0830x + 36.345	0.99	164.52	
EDK	y = 0.0795x + 38.036	0.97	150.49	
EDK (Average)	y = 0.0810x + 37.065	0.99	159.69	159.67 ± 7.95

**Pembahasan**

Protein struktural yang membentuk jaringan ikat kulit terdegradasi pada kulit yang menua, sebagai hasil dari regulasi beberapa jenis kolagenase dan elastasis (Girsang & Lister, 2019). Aktivitas enzim ROS dan elastase dikenal sebagai faktor penyebab penuaan kulit (Wilkerson, 2018).

Berdasarkan penelitian sebelumnya, daun kelor mengandung myrecytin, quercetrin, kaempferol, gallic acid, chlorogenic dan caffeic acid yang memiliki kandungan antioksidan serta anti penuaan (Liana et al., 2019;

Shervington et al., 2018). Senyawa fenolik mengandung aktivitas antioksidan dan dapat melindungi tubuh dari serangan ROS (Geeta et al., 2019).

DPPH, radikal bebas yang termasuk dalam kelompok radikal hydrogen yang sensitif terhadap cahaya, oksigen, dan pH. Meskipun terdapat dalam bentuk radikal tetapi sangat stabil sehingga bisa menjadi alat ukur aktivitas antioksidan yang cukup akurat. Radikal ini dapat menangkap atom hidrogen dari senyawa lain. Jadi ketika DPPH berinteraksi dengan sampel antioksidan maka akan terjadi penyusutan bentuk dan ditandai

dengan berkurangnya intensitas larutan DPPH ungu dengan serapan maksimum pada 517 nm. Proses perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning diindikasikan sebagai antioksidan yang menggeser atom elektron atau hidrogen menjadi DPPH untuk menangkal karakter radikal bebasnya (Widowati et al., 2018).

Berdasarkan hasil, EDK mempunyai nilai  $IC_{50}$   $109.67 \pm 0.83 \mu\text{g/mL}$  untuk aktivitas antioksidan DPPH yang menunjukkan adanya aktivitas yang cukup (range: 100-150  $\mu\text{g/mL}$ ) (Jusri et al., 2019). Namun hasil yang didapat masih lebih tinggi daripada aktivitas antioksidan yang dilakukan oleh Hasanah dkk begitu juga dengan hasil  $IC_{50}$  dari hasil ekstrak daun kelor menggunakan etanol 70% yaitu 363.75  $\mu\text{g/mL}$  (Hasanah & Waluyo, 2017). Aktivitas tersebut disebabkan oleh kandungan metabolit sekundernya Seperti flavonoid yang diantaranya ada myrecytrin, quercetrin, dan kaempferol yang berfungsi sebagai antioksidan untuk melepaskan oksidasi sel tubuh yang dapat mencegah peroksidasi lemak. Sedangkan pada senyawa fenol didasarkan dengan adanya gugus hidroksil pada senyawa fenol sehingga dapat mendonasikan atom hydrogen (Mahadi et al., 2019). Perbedaan hasil aktivitas antioksidan DPPH daun kelor kemungkinan dapat disebabkan oleh

tingkat kekeringan pada saat proses evaporasi, suhu evaporasi, lama waktu maserasi, pelarut yang digunakan sewaktu pengujian dan konsentrasi DPPH radikal yang digunakan.

Kulit pada dasarnya menghasilkan enzim pengurai matriks seperti elastase. Elastase adalah protease kimotripsin yang berperan dalam degradasi elastin. ROS atau paparan sinar matahari yang berlebihan dapat mempercepat aktivasi enzim elastase yang menyebabkan enzim untuk menyerang semua protein matriks jaringan ikat utama termasuk elastin dan kolagen yang memicu pembentukan kerutan pada kulit (Wilkerson, 2018).

Metode yang digunakan ialah dengan mengukur kadar SucAla3 (N-Succinyl-Ala-Ala-Ala). Terjadinya perubahan warna kuning merupakan indikator terjadinya reaksi. Semakin tinggi kemampuan sampel untuk menghambat aktivitas elastase, maka SucAla3 yang terbentuk akan semakin rendah (warna yang kuning sedikit / bening) (Juliana et al., 2020). Berdasarkan hasil penelitian didapatkan nilai  $IC_{50}$  untuk aktivitas anti-elastase sebesar  $159.67 \pm 7.95 \mu\text{g} / \text{mL}$  yang mengindikasikan aktivitas penghambatan yang lemah (range: 150-200  $\mu\text{g} / \text{mL}$ ) (Jusri et al., 2019). Namun masih lebih tinggi dari  $IC_{50}$  daun kelor yang diekstraksi menggunakan etanol 50% ( $6444 \pm 314.51 \mu\text{g} / \text{mL}$ ) yang

dilaporkan oleh Alimsyah (Goleman et al., 2019). Akan tetapi penelitian dari Pientaweeratch *et al.* (2016) menemukan bahwa tanaman sapotta walaupun memiliki kandungan total fenolik dan flavonoid rendah, ternyata memiliki aktivitas anti-elastase tinggi (Pientaweeratch et al., 2016). Hal tersebut kemungkinan disebabkan oleh kandungan senyawa bioaktif tertentu pada tanaman sapotta yang berperan sebagai inhibitor kuat pada enzim elastase. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui total fenol, total flavonoid dan komponen komponen spesifik apa saja yang terdapat pada ekstrak daun kelor untuk mengetahui lebih lanjut mengenai mekanisme anti-aging tanaman ini.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### Kesimpulan

Ekstrak etanol daun kelor memiliki nilai IC50 sebesar 109,67 + 0,83 µg / mL untuk aktivitas antioksidan DPPH dan 159,67 + 7,95 µg / m untuk anti-elastase.

### Saran

Bagi peneliti selanjutnya untuk dilakukan pengukuran total fenolik, flavonoid dan aktivitas enzimatik lainnya seperti kolagenase, tirosinase, hyaluronidase untuk mengetahui potensi anti-aging pada daun kelor.

## Ucapan Terima Kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada Seila Arumwardana, Hanna Sari Widya Kusuma, Jenifer Kiem Aviani, Rr. Anisa Siwianti Handayani, Dewani Tediana Yusepany, Dwi Surya Artie and Kamila Yashfa Gunawan dari Aretha Medika Utama, Pusat Penelitian Biomolekuler dan Biomedis untuk dukungan mereka.

## DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Z., & Damayanti. (2018). Penuaan Kulit: Patofisiologi dan manifestasi klinis. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin – Periodical of Dermatology and Venereology*, 30(03), 208–215. [http://download.garuda.ristekdikti.go.id/article.php?article=850430&val=7405&title=Penuaan Kulit: Patofisiologi dan Manifestasi Klinis](http://download.garuda.ristekdikti.go.id/article.php?article=850430&val=7405&title=Penuaan%20Kulit:Patofisiologi%20dan%20Manifestasi%20Klinis)
- G.N., N., G., F., W., C., V., S., & M., T. (2013). In vitro determination of the skin anti-aging potential of eleven South African plants. *Planta Medica*, 79(13). [http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L71353559;%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1055/s-0033-1352005;%5Cnhttp://sfx.ub.rug.nl:9003/sfx\\_local?sid=EMBASE&issn=00320943&id=doi:10.1055/s-0033-1352005&atitle=In+vitro+determination+of](http://www.embase.com/search/results?subaction=viewrecord&from=export&id=L71353559;%5Cnhttp://dx.doi.org/10.1055/s-0033-1352005;%5Cnhttp://sfx.ub.rug.nl:9003/sfx_local?sid=EMBASE&issn=00320943&id=doi:10.1055/s-0033-1352005&atitle=In+vitro+determination+of)
- Geeta, Widodo, W. S., Widowati, W., Ginting, C. N., Lister, I. N. E., Armansyah, A., & Girsang, E. (2019). Comparison of antioxidant and anti-collagenase activity of genistein and epicatechin. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(2), 111–117. <https://doi.org/10.7454/psr.v6i2.4510>
- Girsang, E., & Lister. (2019). Chemical

- constituents of snake fruit (*Salacca zalacca* (Gaert.) Voss) peel and in silico anti-aging analysis. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, 3(2), 122. <https://doi.org/10.21705/mcbs.v3i2.80>
- Girsang, E., Lister, I. N. E., Ginting, C. N., Bethasari, M., Amalia, A., & Widowati, W. (2020). Comparison of antiaging and antioxidant activities of protocatechuic and ferulic acids. *Molecular and Cellular Biomedical Sciences*, 4(2), 68. <https://doi.org/10.21705/mcbs.v4i2.90>
- Girsang, E., Lister, I. N. E., Ginting, C. N., Sholihah, I. A., Raif, M. A., Kunardi, S., Million, H., & Widowati, W. (2020). Antioxidant and antiaging activity of rutin and caffeic acid. *Pharmaciana*, 10(2), 147. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v10i2.13010>
- Goleman et al., 2019. (2019). *Journal of Chemical Information and Modeling*, 53(9), 1689–1699.
- Hasanah, Waluyo, N. (2017). *JGK-vol.9, no. 21 Januari 2017*. 9(21), 97–102.
- Juliana, C., Lister, I. N. E., Girsang, E., Nasution, A. N., & Widowati, W. (2020). Antioxidant and elastase inhibitor from black Soybean (*Glycine max L.*) and its compound (Daidzein). *Journal of Biomedicine and Translational Research*, 6(1), 11–14. <https://doi.org/10.14710/jbtr.v6i1.5540>
- Jusri, R., Widodo, W. S., Widowati, W., Armansyah, A., Sormin, D. E., Fachrial, E., & Lister, I. N. E. (2019). Comparison of antioxidant and anti-hyaluronidase potentials of pineapple core extract (*Ananas comosus* (L.) Merr.) and Luteolin. *Majalah Kedokteran Bandung*, 51(2), 63–69. <https://doi.org/10.15395/mkb.v51n2.1629>
- Liana, L., Rizal, R., Widowati, W., Fioni, F., Akbar, K., Fachrial, E., & Lister, I. N. E. (2019). Antioxidant and anti-hyaluronidase activities of dragon fruit peel extract and kaempferol-3-o-rutinoside. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*, 30(4), 247. <https://doi.org/10.21776/ub.jkb.2019.030.04.3>
- Lister, I. N. E., Ginting, C. N., Girsang, E., Armansyah, A., Marpaung, H. H., Sinaga, A. P. F., Handayani, R. A. S., & Rizal, R. (2019). Antioxidant properties of red betel (*Piper crocatum*) leaf extract and its compounds. *Journal of Natural Remedies*, 19(4), 198–205. <https://doi.org/10.18311/jnr/2019/23633>
- Mahadi, S. B., Anisa, R., Handayani, S., Widowati, W., Dewani, Y., Fachrial, E., & Lister, I. N. E. (2019). Antioxidant and anti-tyrosinase activities of aloe vera rind and gel extracts aktivitas antioksidan dan antityrosinase kulit dan daging lidah buaya (*Aloe vera*). *Antioxidant and Anti-Tyrosinase Activities of Aloe Vera Rind and Gel Extracts*, 7(1), 170–176.
- Masaki, H. (2010). Role of antioxidants in the skin: Anti-aging effects. *Journal of Dermatological Science*, 58(2), 85–90. <https://doi.org/10.1016/j.jdermsci.2010.03.003>
- Pientaweeratch, S., Panapisal, V., & Tansirikongkol, A. (2016). Antioxidant, anti-collagenase and anti-elastase activities of *Phyllanthus emblica*, *Manilkara zapota* and silymarin: an in vitro comparative study for anti-aging applications. *Pharmaceutical Biology*, 54(9), 1865–1872. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1133658>
- Pittayapruerk, P., Meehansan, J., Prapapan, O., Komine, M., & Ohtsuki, M. (2016). Role of matrix metalloproteinases in Photoaging and photocarcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6). <https://doi.org/10.3390/ijms17060868>
- Sankhalkar, S., & Vernekar, V. (2016). Quantitative and qualitative analysis

- of phenolic and flavonoid content in moringa oleifera lam and ocimum tenuiflorum L. *Pharmacognosy Research*, 8(1), 16–21. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.171095>
- Shervington, L. A., Li, B. S., Shervington, A. A., Alpan, N., Patel, R., Muttakin, U., & Mulla, E. (2018). A Comparative HPLC analysis of myricetin, quercetin and kaempferol flavonoids isolated from Gambian and Indian Moringa oleifera Leaves. *International Journal of Chemistry*, 10(4), 28. <https://doi.org/10.5539/ijc.v10n4p28>
- Thring, T. S. A., Hili, P., & Naughton, D. P. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 1–11. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-9-27>
- Tobin, D. J. (2017). Introduction to skin aging. *Journal of Tissue Viability*, 26(1), 37–46. <https://doi.org/10.1016/j.jtv.2016.03.002>
- Vrianty, D., Widowati, W., Fibrina, D., & Fachrial, E. (2019). *Extract and Luteolin compound perbandingan aktivitas antioksidan dan anti-tirosinase pada ekstrak bonggol nanas (Ananas comosus) dan Senyawa Luteolin*. 30(4), 240–246.
- Widowati, W., Fauziah, N., Herdiman, H., Afni, M., Afifah, E., Kusuma, H. S. W., Nufus, H., Arumwardana, S., & Rihibiha, D. D. (2016). Antioxidant and anti aging assays of Oryza sativa extracts, vanillin and coumaric acid. *Journal of Natural Remedies*, 16(3), 88–99. <https://doi.org/10.18311/jnr/2016/7220>
- Widowati, W., Rani, A. P., Amir Hamzah, R., Arumwardana, S., Afifah, E., Kusuma, H. S. W., Rihibiha, D. D., Nufus, H., & Amalia, A. (2017). Antioxidant and antiaging assays of Hibiscus sabdariffa extract and its compounds. *Natural Product Sciences*, 23(3), 192–200. <https://doi.org/10.20307/nps.2017.23.3.192>
- Widowati, W., Widya Janeva, B., Nadya, S., Amalia, A., Arumwardana, S., Kusuma, H. S. W., & Arinta, Y. (2018). Antioxidant and antiaging activities of Jasminum sambac extract, and its compounds. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 7(3), 270–285.
- Wilkerson, S. (2018). Reactive oxygen species (ROS): Mechanisms and role in health and disease. *Reactive Oxygen Species (ROS): Mechanisms and Role in Health and Disease, October*, 1–334.