

**FORMULASI DAN UJI ANTIOKSIDAN SERUM ANTI AGING
BERBASIS MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.)
MENGUNAKAN METODE DPPH
SKRIPSI**

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Mencapai
gelar Sarjana Sains (S.Si) pada Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia**



diajukan oleh:

ARLIN PRIMA CAHYA

No. Mahasiswa: 16612095

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA**

2020

**FORMULASI DAN UJI ANTIOKSIDAN SERUM ANTI AGING
BERBASIS MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.)
MENGUNAKAN METODE DPPH
SKRIPSI**

Oleh :

ARLIN PRIMA CAHYA

No. Mahasiswa: 16612095

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Skripsi

Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

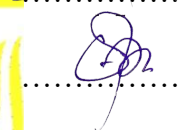
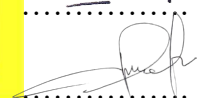
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 11 September 2020

Dewan Penguji

1. Dr. Noor Fitri, M.Si.
2. Amri Setyawati, M.Sc.
3. Dr. Habibi Hidayat, M.Si.

Tanda Tangan

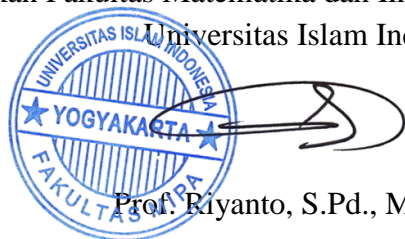


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Arlin Prima Cahya

NIM : 16612095

Program Studi : Kimia

Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dengan Ini Menyatakan Bahwa Skripsi Saya Dengan Judul Formulasi Dan Uji Antioksidan Serum *Anti Aging* Berbasis Minyak Jintan Hitam (*Nigella Sativ L.*) Menggunakan Metode DPPH bersifat asli dan tidak berisi material yang telah diterbitkan sebelumnya kecuali referensi yang disebutkan didalam skripsi ini. Apabila terdapat kontribusi dari penulis lain, maka penulis tersebut secara eksplisit telah disebutkan didalam skripsi ini. Apabila kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan penuh tanggung jawab.

Yogyakarta, 23 Oktober 2020

Yang Menyatakan,



Arlin Prima Cahya

NIM. 16612095

HALAMAN PERSEMBAHAN



**“Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi
Maha Penyayang“**

Alhamdulillahirabbil alamin atas rahmat-Nya skripsi ini dapat terselesaikan, sebuah karya ini saya persembahkan untuk

**Kedua orang tua saya yaitu Bapak Waluyo dan Ibu Erna Susanti
Kakak saya Dika Fajar Pratama Setiadi, S.T dan
berserta keluarga besar.**

Terima kasih untuk segala pengorbanan baik moril, maupun materil.

Terima kasih untuk segala doa yang tiada henti tercurahkan.

Terima kasih untuk segala semangat dan Semoga Allah membalas kebaikan dan senantiasa memberikan Rahmat-Nya untuk kedua orang tua saya beserta keluarga besar.

MOTTO

*“Janganlah kamu khawatir, sesungguhnya Aku bersama kamu berdua,
Aku mendengar dan melihat”*

(QS. Taha : 46)

“Jika kamu berbuat baik (maka) kamu berbuat baik bagi dirimu sendiri”

(QS. Al-Isra : 7)

“Karunia Allah yang paling lengkap adalah kehidupan yang didasarkan
pada ilmu pengetahuan”

-Ali bin Abi Thalib –

“Semua berproses dengan tantangan dan cara penyelesaian yang berbeda”

-Lina Sholawati-

“Small progress is still progress ☺”

KATA PENGANTAR



Assalamualaikum Wr. Wb.

Puji syukur senantiasa penulis panjatkan atas kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga skripsi yang berjudul “FORMULASI DAN UJI ANTIOKSIDAN SERUM *ANTI AGING* BERBASIS MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella Sativa L.*) MENGGUNAKAN METODE DPPH” ini dapat terselesaikan tepat waktu. Shalawat serta salam semoga senantiasa tercurahkan kepada junjungan Nabi Muhammad SAW yang dinantikan syafa’atnya di yaumul akhir nanti.

Skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa adanya bantuan dari berbagai pihak, baik berupa material maupun non material, pada kesempatan ini penulis ucapkan beribu terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Fathul Wahid, S.T., M.Sc., Ph.D. selaku Rektor Universitas Islam Indonesia.
2. Bapak Prof. Riyanto, S.Pd., M.Si., Ph.D. selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
3. Ibu Prof. Dr. Is Fatimah, S.Si, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
4. Bapak Dr. Dwiarso Rubiyanto, S.Si., M.Si selaku Ketua Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
5. Ibu Dr. Noor Fitri, M.Si, selaku Dosen pembimbing Skripsi yang senantiasa meluangkan waktu untuk membimbing, mengarahkan, dan menerima keluh kesah penulis selama melakukan perencanaan, penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini.

6. Ibu Amri Setyawati, M.Sc. beserta Bapak Dr. Habibi Hidayat, S.Pd., M.Si selaku Dosen penguji Skripsi yang telah memberikan saran dan masukan. Terima kasih saya ucapkan untuk seluruh Dosen Kimia, staff pengajar, laboran, dan karyawan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.
7. Kedua Orang Tua saya yang tanpa henti senantiasa mendoakan dan memberikan semangat baik moril maupun materil. Semoga Allah senantiasa menjaga Kedua Orang Tua saya dalam lindungan dan Keberkahan Nya.
8. Terima kasih saya ucapkan untuk kakak ipar saya Romantika Kusuma, S.Pi dan keponakan saya Rafinza dan Rafinka yang selalu memberikan dukungan selama kuliah hingga saat ini.
9. Seluruh tim riset Ibu Noor Fitri dan rekan-rekan sahabat saya, serta teman-teman yang senantiasa membantu, yang tidak bisa saya tuliskan satu persatu nama nya di sini, semoga Allah memudahkan jalan kita semua dalam meniti karir kesuksesan.
10. Terima kasih Bukan jam kantor atau si bungsu (Lina Sholawati, Irfansyah) yang sudah saling bertukar cerita tentang kehidupan dan mendengarkan keluh kesah penulis selama penelitian hingga terselesaikannya skripsi ini. Terima kasih atas nongkrong yang serba mendadak dan terima kasih sudah mengajarkan banyak hal tentang cara memperlakukan orang yang benar serta membuka pikiran untuk kehidupan kedepannya.
11. Terima kasih Rifaldi Lutfi Fahmi, Tegar Ramadhan, Ryan Ady Putera E, dan Salma Nurul Hamidah, atas hiburan dan liburan singkat dikala menyusun skripsi.
12. Terima kasih Fitriana Harjati, Sinta Nofita, Suci Ramadhanti dan Sekar Asmara Jati atas dukungan dan motivasi yang diberikan selama kuliah hingga proses skripsi.
13. Dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Grup Santuy (Yanti Apriani, Nuke Sulis), LJ Squad (Nada, Sekar, Faldi, Fitri, Astri, Teguh)

Kontrakan Squad (Choerul , Ilham, Ulul, Armyn), The Jenong (Anna, Roofi), Kimia B 2016 , Kimia angkatan 2016, rekan-rekan yang telah membantu serta seluruh mahasiswa/I Kimia UII terimakasih yang sebesar-besarnya karena telah mewarnai hari-hariku selama masa perkuliahan ini. Semoga kesuksesan selalu menyertai kita semua Aamiin.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna, baik dari segi penyusunan maupun penyajian yang disebabkan keterbatasan pengalaman dan pengetahuan penulis. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat diharapkan guna peningkatan kualitas penulis yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat terkhusus bagi penulis dan pembaca.

Yogyakarta, September 2020

Arlin Prima Cahya



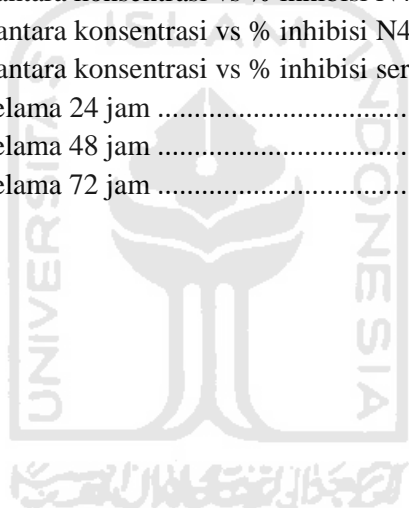
DAFTAR ISI

Halaman Sampul	1
Halaman Pengesahan	ii
Pernyataan Keaslian Tulisan	iii
Halaman Persembahan	iv
Kata Pengantar	vi
Daftar Isi.....	ix
Daftar Gambar.....	xi
Daftar Tabel	xii
Intisari	xiii
Abstract	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
2.1 Tinjauan Pustaka.....	4
BAB III DASAR TEORI	8
3.1 Minyak Atsiri.....	8
3.2 Jintan Hitam.....	8
3.3 Minyak Jintan Hitam.....	10
3.4 Ekstraksi.....	10
3.5 Antioksidan	11
3.6 Aktivitas antioksidan	11
3.7 <i>Anti Aging</i> (Anti Penuaan)	12
3.8 Metode DPPH.....	13
3.9 Serum	14
3.10 Spektrotometri UV-Vis.....	15
3.11 GC-MS	15

3.12 Uji Iritasi	17
3.13 Uji Hedonik.....	17
3.14 Uji Homogenitas	18
BAB IV METODOLOGI PENELITIAN	19
4.1 Bahan	19
4.2 Alat.....	19
4.3 Cara Kerja	19
4.3.1 Pembuatan Minyak Jintan Hitam.....	20
4.3.2 Uji kualitatif minyak atsiri	20
4.3.3 Uji karakterisasi	20
4.3.4 Pembuatan Serum	22
4.3.5 Ethical clearance	23
4.3.6 Uji Hedonik (Uji Aroma).....	23
4.3.7 Uji Antioksidan Dengan Metode DPPH (Kuantitatif)	24
4.3.8 Uji Homogenitas	25
4.3.9 Uji Iritasi	26
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN.....	29
5.1 Preparasi Ekstrak Biji Jintan Hitam.....	29
5.2 Uji Karakterisasi pada Minyak Jintan Hitam.....	30
5.2.1 Uji GC-MS pada Minyak Jintan Hitam dan Minyak Nilam	32
5.3 Hasil Pemilihan Serum Anti aging berdasarkan Uji Hedonik	38
5.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Serum <i>Anti aging</i> berbasis minyak jintan hitam.....	39
5.5 Uji Homogenitas pada Serum Formula.....	44
5.6 Hasil Uji Iritasi Serum Formula.....	45
BAB VI KESIMPULAN dan SARAN	47
6.1 Kesimpulan	47
6.2 Saran	47
DAFTAR PUSTAKA	48
LAMPIRAN.....	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Biji Jintan Hitam	9
Gambar 2. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan	13
Gambar 3. Diagram Alir Penelitian	19
Gambar 4. Ekstrak Biji Jintan Hitam	30
Gambar 5. Kromatogram minyak jintan hitam proses distilasi.....	33
Gambar 6. Struktur γ - Terpinene	34
Gambar 7. Kromatogram minyak jintan hitam (cold press)	35
Gambar 8. Struktur Thymoquinone	37
Gambar 9. Kromatogram minyak nilam	37
Gambar 10. Struktur Patchouli Alkohol	38
Gambar 11. Grafik hubungan antara konsentrasi vs % inhibisi N2J3	40
Gambar 12. Grafik hubungan antara konsentrasi vs % inhibisi N4J3	41
Gambar 13. Grafik hubungan antara konsentrasi vs % inhibisi N4J3 M.....	41
Gambar 14. Grafik hubungan antara konsentrasi vs % inhibisi serum komersil	42
Gambar 15. Hasil perlakuan selama 24 jam	45
Gambar 16. Hasil perlakuan selama 48 jam	46
Gambar 17. Hasil perlakuan selama 72 jam	46



DAFTAR TABEL

Tabel 1. Formula serum antioksidan.....	22
Tabel 2. Hasil Karakterisasi Minyak Jintan Hitam	31
Tabel 3. Senyawa dalam minyak jintan hitam (Distilasi)	33
Tabel 4. Senyawa dalam minyak jintan hitam (<i>cold press</i>)	35
Tabel 5. Senyawa dalam minyak nilam	37
Tabel 6. Uji hedonik serum anti aging berbasis minyak jintan hitam.....	39
Tabel 7. Perbandingan Nilai IC ₅₀ dari formulasi serum.....	43
Tabel 8. Hasil pangamatan uji homogenitas	44



**FORMULASI DAN UJI ANTIOKSIDAN SERUM ANTI AGING
BERBASIS MINYAK JINTAN HITAM (*Nigella sativa L.*) MENGGUNAKAN
METODE DPPH**

ARLIN PRIMA CAHYA

16612095

INTISARI

Kulit akan mengalami proses penuaan seiring dengan bertambahnya usia. Radikal bebas dan sinar matahari dapat menjadi pemicu terjadinya proses penuaan. Proses penuaan dapat dicegah dengan penggunaan antioksidan. Antioksidan alami dapat ditemukan pada tumbuhan, salah satunya pada minyak jintan hitam. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui formulasi serum *antiaging* berbasis minyak jintan hitam (*Nigella sativa L.*) dan uji antioksidan menggunakan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Prosedur penelitian yang dilakukan adalah: ekstraksi minyak jintan hitam secara destilasi air dan *cold press*; karakterisasi fisika kimia minyak jintan hitam; formulasi 16 serum *antiaging* dari minyak jintan hitam (*cold press*) dan 1 formulasi serum *antiaging* dari minyak jintan hitam (distilasi); pengujian serum *antiaging* meliputi uji hedonik, uji iritasi, dan uji aktivitas antioksidan. Hasil karakterisasi minyak jintan hitam (*cold press*) adalah minyak jintan hitam berwarna coklat pekat, berat jenis 0,914 gram/mL, indeks bias 1,4755, pH 5 dan bilangan asam 19,32. Kandungan senyawa kimia dalam minyak jintan hitam ditentukan menggunakan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS). Hasil uji GC-MS menunjukkan minyak jintan hitam hasil distilasi mengandung 15 senyawa dengan 5 senyawa utama yaitu *p-Cymene* (70,44%), *Longifolene* (8,49%), α -*Thujene* (7,39%), 2- β -*Pinene* (3,12%) dan γ -*Terpinene* (2,45%) sedangkan minyak jintan hitam hasil *cold press* mengandung 4 senyawa yaitu 9,12-*Octadecadienoic acid* (98,87%), *Hexadecanoic acid* (0,82%), *Thymoquinone* (0,18%), dan *Linoleic acid* (0,12%). Berdasarkan uji hedonik terpilih dua formula serum *anti aging* minyak jintan hitam (*cold press*) terbaik adalah N2J3 dan N4J3. Hasil uji iritasi menunjukkan serum aman digunakan. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan N2J3, N4J3 dan N4J3D memiliki aktivitas antioksidan yang lemah karena nilai IC_{50} diatas 2557,3 ppm, 1142,8 ppm dan 1844,9 ppm. Formula serum *antiaging* minyak jintan hitam yang paling optimal adalah N4J3.

Kata kunci : Serum *anti aging*, minyak jintan hitam, uji iritasi dan DPPH

**FORMULATION AND ANTIOXIDANT TEST ANTI AGING SERUM
BASED ON BLACK SEED OIL (*Nigella sativa L.*) USING
DPPH METHOD**

ARLIN PRIMA CAHYA

16612095

ABSTRACT

Human skin undergoes aging process as they are getting older. The aging process is caused by some factors such as free radical and sun exposure, moreover, these things is a cause of skin damage as well. The aging proses can be prevented by using antioxidant. Natural antioxidant can be found in plant such as black seed. This research aims to formulate black seed oil (*Nigella sativa L.*) based anti-aging serum and its antioxidant test using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. The experimental procedure was: the extraction of blackseed oil using distillation and cold press methods; physical and chemical characterization of blackseed oil: 16 formulations of blackseed oil based anti aging serum (cold press) and 1 formulation of oil obtained by distillation; the serum tests were hedonic test, irritation test and antioxidants activity tets. The cold pressed black seed oil has dark brown color and its density, refractive index, pH and acid value were 0.914 g/mL, 1.4755, 5 and 19.32 respectively. The component of black seed oil was determined using Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). The oil obtained by distillation contains 15 compounds with 5 major compounds that were *p- Cymene* (70.44%), *Longifolene* (8.49%), *α-Thujene* (7.39%), *2- β - Pinene* (3.12%) and *γ-Terpinene* (2.45%) whereas the cold pressed oil contains 4 compounds that were *9,12-Octadecadienoic acid* (98.87%), *Hexadecanoic acid* (0.82%), *Thymoquinone* (0.18%), and *Linoleic acid* (0.12%). The best formulas from hedonic test were N2J3 and N4J3. The irritation test showed the serum is safe to be used. The antioxidant test showed that N2J3, N4J3 and N4J3D had low antioxidant activity because its IC₅₀ value exceeded 2557.3 ppm, 1142.8 ppm and 1844.9 ppm. The most optimum formula of antiaging serum was N4J3

Keywords : *Anti aging serum, black seed oil, irritants test and DPPH.*

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Seiring dengan bertambahnya usia kulit akan mengalami proses penuaan. Penuaan disebabkan oleh berbagai faktor baik dari dalam (internal) maupun dari luar (eksternal) tubuh. Penyebab utama ialah faktor internal seperti kesehatan, daya tahan tubuh, stress dan perubahan hormon, proses alamiah tersebut tidak mungkin dihindari oleh manusia tetapi dapat dikurangi efeknya dengan cara perawatan wajah yang tepat, rutin dan lembut, serta mengurangi stress. Penyebab yang lain ialah faktor eksternal yang meliputi radikal bebas, dan sinar matahari yang dapat menyebabkan kulit menjadi rusak (Maysuhara,2009).

Dari semua faktor diatas, teori radikal bebas ialah teori yang sering dikaitkan sebagai faktor-faktor penuaan dini. Radikal UV merupakan pemicu dalam pembentukan radikal bebas ROS (*Reactive Oxygen Species*) pada kulit (Masaki,2010). Radikal bebas adalah atom atau elektron yang tidak berpasangan dan sangat reaktif. Pada umumnya, semua sel jaringan organ tubuh dapat menangkal serangan radikal bebas, tetapi karena paparan radikal bebas yang semakin meningkat, sehingga tubuh tidak dapat menetralkan semua radikal bebas. Radikal bebas dapat merusak jaringan secara perlahan-lahan (Rahmi dan Ratih, 2011). Untuk mencegah atau mengurangi efek negatif dari radikal bebas diperlukan antioksidan dan anti aging (anti penuaan).

Antioksidan juga berfungsi menetralsir radikal bebas sehingga diharapkan dengan pemakaian produk yang mengandung antioksidan dapat menghambat dan mencegah terjadinya kerusakan tubuh dari timbulnya penyakit degeneratif. Jika ketersediaan antioksidan dalam tubuh tidak memadai, maka daya tahan tubuh akan menurun dan proses penuaan dini akan terjadi. Oleh karena itu, ketersediaan antioksidan dalam

tubuh harus dipertahankan dan ditingkatkan untuk dapat menangkal radikal bebas (Kurniati, 2011). Salah satu sumber antioksidan alami adalah minyak jintan hitam.

Jintan hitam merupakan salah satu bahan alami yang telah lama digunakan sebagai bahan peningkatan sistem kekebalan oleh masyarakat di negara Timur Tengah (Al-Saleh dkk, 2006). Selain itu jintan hitam juga dapat digunakan untuk pengobatan kanker, AIDS, dan penyakit lain yang berhubungan dengan penurunan tingkat kekebalan tubuh (Luetjohann, 1998). Kandungan kimia yang ada pada biji tanaman jintan hitam adalah minyak atsiri, minyak lemak, saponin, melantin, nigellein, zat samak, nigellon, thymoquinone, dithymoquinone, hymohydroquinone, thymol, dan komponen gizi seperti karbohidrat, lemak, vitamin, unsur unsur mineral, protein, asam amino esensial, monosakarida dalam bentuk glukosa, rhamnosa, xylose, dan arabinose (Mohammad dkk., 2009).

Biji jintan hitam memiliki fungsi sebagai antioksidan, antimikroba, aktivitas anti kanker, penumbuh rambut sehingga biji jintan hitam mulai banyak digunakan untuk bahan utama kosmetik. Pada saat ini banyak berkembangnya produk-produk kosmetik yang mengandung antioksidan. Produk antioksidan berfungsi melindungi kulit dari proses penuaan dan meremajakan kembali sel - sel kulit wajah (Hamid dkk, 2010). Penggunaan senyawa kimia sintetis untuk wajah atau kulit dapat menyebabkan iritasi dan penyakit kelainan kulit. Oleh karena itu, inovasi produk serum antioksidan yang berbahan dasar alami sangat diperlukan. Dalam penelitian ini akan dikembangkan serum antioksidan dan anti aging berbasis minyak atsiri jintan hitam.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah maka dirumuskan suatu permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana formula serum minyak jintan hitam sebagai antioksidan dan *anti aging* yang optimal dan yang paling disukai ?
2. Bagaimana efektivitas antioksidan serum *anti aging* berbasis minyak jintan hitam ?

3. Bagaimana perbandingan hasil serum *anti aging* minyak jintan hitam dari hasil metode *cold press* dan distilasi ?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, didapatkan tujuan dari penelitian sebagai berikut :

1. Mengetahui formulasi sediaan serum terhadap aktivitas minyak jintan hitam sebagai antioksidan dan anti aging dengan metode pengujian DPPH (2,2-difenil- 1- pikrilhidrazil).
2. Mengetahui efektivitas antioksidan serum *anti aging* berbasis minyak jintan hitam.
3. Mengetahui perbandingan hasil serum *anti aging* minyak jintan hitam dari hasil metode *cold press* dan distilasi.

1.4 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah dapat mengetahui formula antioksidan yang berbasis minyak jintan hitam dalam sediaan serum memiliki daya hambat penuaan/teroksidasi pada kulit wajah.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Pustaka

Penuaan merupakan proses fisiologis kompleks yang disertai dengan terjadinya kehilangan memori progresif, demensia, disfungsi kognitif, skizofrenia, Parkinson, dan penyakit Alzheimer (Lan dkk., 2012). Salah satu penyebab terjadinya proses penuaan pada kulit adalah radikal bebas. Radikal bebas memiliki molekul reaktif yang sangat tinggi dengan elektron tak berpasangan, sehingga mengakibatkan kerusakan struktur membran seluler, lipid, protein, dan DNA. Pada saat ini, banyak berkembang produk kosmetik yang mengandung antioksidan untuk melindungi kulit dari proses penuaan dan meremajakan kembali sel - sel kulit wajah (Hamid dkk, 2010). Salah satu produk kosmetik yang mengandung antioksidan adalah serum wajah. Serum wajah mengandung formula dengan konsentrasi bahan aktif yang tinggi, sehingga dapat membantu mengatasi permasalahan kulit wajah secara spesifik. Molekul dalam serum wajah sangatlah kecil, sehingga mudah diserap bagi kulit wajah. Oleh karena itu, serum wajah dapat memberikan performa maksimal dalam melindungi dan membantu mengatasi berbagai permasalahan pada kulit wajah, mulai dari penuaan hingga corak wajah tidak merata (Kurniawati, 2018). Proses penuaan dapat dicegah dengan menggunakan produk yang mengandung senyawa antioksidan.

Senyawa antioksidan memiliki banyak manfaat untuk kesehatan kulit. Selain sebagai antipenuaan, antioksidan dapat melindungi kulit dari ROS (*reactive oxygen species*) akibat stress oksidatif serta melindungi kulit dari sinar UV. Senyawa antioksidan dapat diperoleh dari berbagai sumber baik secara alami atau sintesis. Penggunaan antioksidan sintetik dibatasi karena dapat menimbulkan efek samping. Oleh karena itu, diperlukan kajian lebih lanjut untuk menemukan antioksidan alami dari tanaman untuk mengendalikan stress oksidatif yang disebabkan oleh sinar matahari dan oksigen serta dapat menjadi sumber senyawa baru dengan aktivitas

antioksidan (Haerani, 2018). Antioksidan sintetik seperti BHA (*butylated hidroxy anisole*) dan BHT (*butylated hidroxy toluene*) diketahui berpotensi sebagai zat karsinogenik (Kesuma dkk, 2015). Antioksidan alami seperti flavonoid, tanin, kumarin, kurkumanoid, dan fenol yang dapat ditemukan di buah-buahan, daun-daunan, biji-bijian dan minyak, diketahui memiliki banyak manfaat termasuk sebagai antioksidan yang aktif (Babbar dkk, 2014). Antioksidan terbagi menjadi 2 yaitu jenis antioksidan enzim seperti (superoksida dismutase (SOD), katalase dan glutathion peroksidase (GSH.Prx) dan antioksidan vitamin seperti (vitamin E, β karoten dan vitamin C) yang banyak ditemukan pada tumbuhan dan hewan. Antioksidan alami dapat diperoleh dengan mengambil minyak atsiri dari bagian tumbuhan. Banyak penelitian tentang karakteristik antioksidan dari beberapa tanaman dan turunannya, seperti minyak atsiri (Ozcan, 2011).

Minyak atsiri memberikan aroma tertentu dan khas pada tumbuhan. Minyak atsiri banyak digunakan sebagai bahan dalam pembuatan parfum, kosmetik, antibiotik, antioksidan, imunostimulan, dan agen pembersih radikal bebas tumbuhan (Muchtari, 2015). Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap atau minyak terbang, merupakan campuran dari senyawa yang berwujud cairan yang diperoleh dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, daun, buah, biji, maupun dari bunga dengan cara penyulingan (Hardjono, 2004). Terdapat kurang lebih 45 jenis tanaman di Indonesia yang menjadi sumber minyak atsiri. Salah satu jenis tanaman penghasil minyak atsiri yang berada di Indonesia adalah *Nigella Sativa L.* Pada penelitian ini digunakan biji jintan hitam (*Nigella sativa L.*) sebagai sumber antioksidan alami karena memiliki potensi aktivitas antioksidan yang cukup tinggi (Heri Suseno, 2013). Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti metode lipid peroksida, tiobarbiturat, malonaldehid, 8-karoten bleaching, tiosinat dan DPPH. Pada penelitian ini menggunakan metode DPPH. Metode DPPH dilakukan berdasarkan reduksi DPPH yaitu sebuah radikal bebas yang stabil. Radikal bebas DPPH dengan jumlah elektron ganjil memberikan hasil serapan maksimum pada 517 nm (menghasilkan warna ungu). Ketika antioksidan bereaksi dengan DPPH, yang

merupakan radikal bebas yang stabil akan menjadi berpasangan karena adanya donor hidrogen dari antioksidan yang nantinya akan mereduksi DPPH dan mengakibatkan nilai absorbansi dari DPPH berkurang.

Senyawa aktif antioksidan dalam minyak jintan hitam dapat diketahui menggunakan kromatografi gas spektrometri massa. Islam dkk, 2012 menyatakan bahwa Senyawa kimia dalam minyak jintan hitam berdasarkan analisis GC MS ialah *p-cymene* (36.2%), *thymoquinone* (11.27%), *α -thujene* (10.03%), *longifolene* (6.32%), *β -pinene* (3.78%), *α -pinene* (3.33%), *carvacrol* (2.12%). *Thymoquinone* dalam minyak atsiri jintan hitam merupakan senyawa yang memiliki sifat antioksidan (Halim, 2014). Penelitian lain menyebutkan bahwa kandungan *thymoquinone* dalam minyak atsiri jintan hitam sekitar 1,65% (Claudia dkk, 2010).

Dalam studi lain disebutkan bahwa formula serum wajah berbasis minyak yang terdiri dari zat aktif, minyak pembawa (carrier oil) dan minyak pengikat. Minyak pembawa yang dapat digunakan adalah minyak zaitun, sedangkan minyak pengikat zat aktif dapat digunakan minyak atsiri nilam (Fitri, dkk, 2017). Dalam studi lain disebutkan bahwa identifikasi aktivitas antioksidan minyak jintan hitam dengan metode DPPH, menunjukkan hasil kekuatan antioksidan dengan IC_{50} 0.056 mg/mL (Lette, 2016). Identifikasi aktivitas antioksidan minyak jintan hitam dengan metode DPPH, hasil menunjukkan kekuatan antioksidan dengan IC_{50} 12.256 mg/mL (Mammad, 2017). Identifikasi aktivitas antioksidan minyak jintan hitam dengan metode DPPH, hasil menunjukkan kekuatan antioksidan sebesar IC_{50} 1,1 mg/mL (Islam, dkk, 2012). Identifikasi aktivitas antioksidan minyak jintan hitam dengan metode DPPH, hasil menunjukkan kekuatan antioksidan dengan IC_{50} 2.30mg/mL (Khairullah, 2016). Kandungan antioksidan dalam serum *green tea* (*camellia sinensis L.*) telah di evaluasi sebagai anti aging (Riona, 2017). Serum ekstrak *green tea* memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat diketahui dari nilai IC_{50} sebesar 1,899 ppm. Metode *cold press* dapat digunakan untuk mengetahui nilai kandungan Vitamin C dalam serum wajah buah malaka (Noor dkk, 2020). Sehingga diketahui bahwa serum wajah buah

malaka berpotensi sebagai antioksidan karena memiliki kandungan vitamin C sebesar 2264,1 mg / kg.



BAB III

DASAR TEORI

3.1 Minyak Atsiri

Minyak atsiri merupakan minyak yang mudah menguap atau biasa disebut dengan minyak terbang, campuran dari minyak atsiri yang berbentuk cairan tersebut berasal dari bagian tanaman, akar, kulit, batang, bunga, daun, dan bunga dengan cara penyulingan (Hardjono, 2004). Indonesia merupakan salah satu negara penghasil minyak atsiri, tercatat kurang lebih 45 jenis tanaman. Minyak atsiri juga disebut dengan essential oil (dari kata *essence*) karena memiliki bau khas yang berasal dari tanaman penghasilnya, minyak tersebut juga mudah menguap karena memiliki titik uapnya rendah. Umumnya larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air.

Minyak atsiri banyak digunakan sebagai bahan baku untuk industri parfum, industri kosmetik, bahan pewangi (*frangrances*), aroma (*flavor*), farmasi, aromaterapi, produk makanan dan minuman. Minyak atsiri sebagai pengikat aroma pada industri kosmetik, parfum dan farmasi, serta minyak atsiri sebagai pemberi rasa pada makanan dan minuman.

3.2 Jintan Hitam

Jintan hitam atau yang dikenal dengan nama *black cumin* dan habbatussauda merupakan tanaman yang berasal dari Eropa selatan dan banyak ditemukan di India (Luetjohann, 1998). Tanaman jintan hitam merupakan salah satu jenis tanaman rempah yang tergolong dalam famili Ranunculaceae. Tanaman ini tumbuh di bergai daerah, khususnya di negara-negara Timur Tengah (Nergiz dan Otles, 1993).

Jintan hitam termasuk dalam marga *Nigella* dengan nama latin *Nigella sativa* Linn. Secara sistematis klasifikasi jintan hitam dapat dituliskan sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta

Subdivisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Ranunculales
Suku : Ranunculaceae
Marga : Nigella
Jenis : *Nigella sativa* Linn



Gambar 1. Biji Jintan Hitam

Jintan hitam merupakan tanaman herbal berbunga tahunan, dan tanaman ini merupakan tanaman semak dengan tinggi kurang lebih 30 cm (Luetjohann, 1998). Tanaman jintan hitam banyak berada di berbagai negara seperti Mesir, Turki, India, Pakistan, Iran, dan Irak. Pembudidayaan tanaman ini sudah menyebar di berbagai belahan dunia, seperti di dunia Asia, Afrika, serta beberapa daerah di benua Eropa, budidaya tanaman jintan hitam dilakukan dengan biji (Hutapea, 1994; Schleiche dan Saleh, 2000).

Menurut Hutapea (1994), jintan hitam merupakan tanaman dengan batang berwarna hijau kemerahan, tegak, lunak, beralur, berusuk, dan berbulu kasar rapat dan jarang, dan disertai dengan adanya bulu-bulu yang berkelenjar. Tanaman ini berdaun

tunggal dan lonjong dengan panjang 1.5-2 cm serta ujung pangkalnya meruncing, tepi berigi berwarna hijau, pertulangan menyirip dengan tiga tulang daun yang berbulu. Kelopak bunganya kecil berjumlah lima, berbentuk bulat telur sampai agak tumpul, pangkal mengecil membentuk sudut yang pendek dan besar. Mahkota berjumlah 8 berwarna putih kekuningan dengan benang sari yang banyak dan berwarna kuning. Biji tanaman ini berbentuk bulat, kecil, jorong bersusut 3 tidak beraturan, dan sedikit berbentuk kerucut dengan panjang 3 mm. Buah termasuk dalam jenis polong, bulat panjang, dan coklat kehitaman, serta memiliki akar tunggang berwarna coklat.

3.3 Minyak Jintan Hitam

Minyak jintan hitam adalah minyak atsiri yang berasal dari biji jintan hitam yang didapatkan dari ekstraksi biji jintan hitam. Minyak atsiri jintan hitam memiliki warna hijau dengan bau aromatik yang kuat. Komposisi kimia pada minyak jintan hitam ialah *Thymoquinone*, *Nigellimine-N-oxide*, *Nigellicine*, *Nigellidine*, *Nigellone*, *Dithymoquinone*, *Thymohydroquinone*, *Thymol*, *Arvacrol*, *6-methoxy-coumarin*, *7-hydroxy-coumarin*, *Oxycoumarin*, *Alpha-hedrin*, *Steryl-glucoside*, *Tannins*, *Flavinoids*, *Essential fatty acids*, *Essential amino acids*, *Ascorbic acid*, *Iron and calcium* (Sudhir, 2016).

3.4 Ekstraksi

Ekstraksi merupakan teknik pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang saling bercampur. Pada umumnya zat terlarut yang diekstraksi memiliki sifat yang tidak larut atau sedikit larut sedangkan zat pelarut yang diekstraksi memiliki sifat yang mudah larut dengan pelarut lain (Harborne, 1996). Salah satu metode ekstraksi adalah destilasi. Destilasi merupakan salah satu teknik pemisahan yang berdasarkan perbedaan titik didih dari masing-masing zat penyusun dari campuran homogen. Proses destilasi diawali dengan pemanasan, sehingga zat yang memiliki titik didih lebih rendah akan menguap. Uap tersebut bergerak menuju kondenser yaitu pendingin, proses pendinginan terjadi karena

kita mengalirkan air kedalam dinding (bagian luar condenser), sehingga uap yang dihasilkan akan kembali cair. Proses ini berjalan terus menerus dan akhirnya kita dapat memisahkan seluruh senyawa-senyawa yang ada dalam campuran homogen tersebut.

3.5 Antioksidan

Antioksidan adalah molekul yang dapat menghambat oksidasi molekul lain. Antioksidan juga dapat melindungi kulit dari berbagai kerusakan sel akibat radiasi UV, antipenuaan dan perlindungan dari ROS (Haerani, 2018). Antioksidan juga merupakan senyawa yang sangat penting bagi kesehatan kulit manusia. Zat ini berfungsi untuk menangkal radikal bebas yang dapat merusak jaringan kulit. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menunda, mencegah serta menghambat oksidasi lipid atau molekul lain dengan menghambat inisiasi atau propagasi dari reaksi rantai oksidatif (Javanmardi dkk, 2003). Senyawa ini mempunyai berat molekul kecil namun mampu menginaktivasi reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal (Winarsi, 2007). Antioksidan adalah zat yang dapat memberikan perlindungan endogen dan tekanan oksidatif eksogen dengan menangkap radikal bebas (McGrath, 2017; Baumann, 2008). Mekanisme pertahanan antioksidan pada kulit dapat dipengaruhi oleh ROS; ketika mekanisme pertahanan tidak seimbang, stress oksidatif dapat merusak membrane sel, protein, karbohidrat, dan asam nukleat yang memicu oksidasi (Galvez, 2010; Reis Mansur dkk, 2016)

Pembentukan radikal bebas adalah mekanisme penting yang diterima secara luas yang menyebabkan penuaan kulit. Radikal bebas memiliki molekul reaktif yang sangat tinggi dengan electron tak berpasangan yang dapat secara langsung merusak berbagai truktur membran seluler, lipid, protein, dan DNA (Baumann, 2008).

3.6 Aktivitas antioksidan

Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui nilai aktivitas hambatan terhadap radikal bebas dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) dan sebagai pembanding adalah vitamin C. Metode DPPH ini dipilih karena memiliki beberapa

keunggulan antara lain sederhana, mudah, cepat, peka serta memerlukan sampel sedikit. Parameter yang digunakan untuk mengetahui nilai aktivitas antioksidan adalah IC_{50} yang didefinisikan sebagai konsentrasi senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50 % aktivitas DPPH (Molyneux, 2004). DPPH merupakan senyawa radikal bebas yang stabil sehingga apabila digunakan sebagai pereaksi dalam uji penangkapan radikal bebas cukup dilarutkan dan bila disimpan dalam keadaan kering dengan kondisi penyimpanan yang baik dan stabil selama bertahun-tahun. Nilai absorbansi DPPH berkisar antara 515-520 nm. (Vanselow, 2007). Ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bertemu dengan antioksidan alami maka DPPH akan tereduksi yang menyebabkan warna ungu memudar dan membentuk warna kuning (Prayoga, 2013).

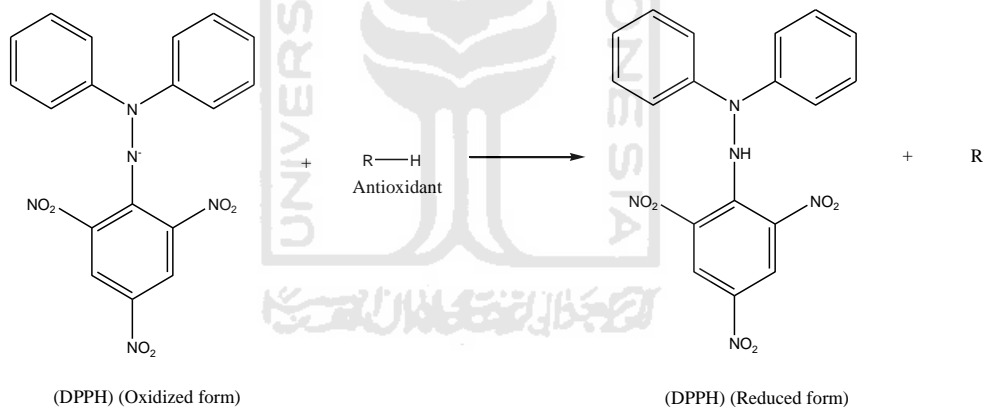
3.7 Anti Aging (Anti Penuaan)

Proses penuaan dapat dilihat dari perubahan beberapa organ terutama kulit. Seiring bertambahnya usia, fungsi kulit ikut menurun. Sel kulit yang mati melekat lebih lama di lapisan terluar sehingga kulit menjadi kering, kusam dan terasa kasar. Proses penuaan pada setiap orang tidak sama, ada orang yang mengalami proses penuaan lebih cepat dibandingkan dengan orang lain (Wittenauer dkk, 2015). Paparan kronis terhadap radiasi UV banyak menimbulkan efek samping pada kulit seperti penuaan dini, kanker kulit dan penurunan pada kemampuan respon imun. Masalah kesehatan ini secara langsung berkaitan dengan pembentukan spesies oksigen reaktif (ROS) oleh radiasi UV (Jain, 2010).

Penuaan kulit disebabkan oleh dua faktor yaitu faktor intrinsik dan ekstrinsik. Faktor intrinsik merupakan hal yang normal karena usia yang mengakibatkan penuaan pada jaringan tubuh. Permukaan kulit menjadi kasar, adanya kerutan halus di wajah dan menipisnya lapisan epidermis kulit sebagai akibat hilangnya kolagen dan elastin karena faktor usia. Sedangkan faktor ekstrinsik terjadi karena adanya paparan sinar ultraviolet, inframerah, polusi, dan merokok. Jika terjadi terus menerus akan mengakibatkan keriput yang lebih dalam dan juga terjadi perubahan pigmen pada kulit (Trojahn, 2015).

3.8 Metode DPPH

Pengukuran aktivitas antioksidan dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti metode lipid peroksida, tiobarbiturat, malonaldehid, 8-kareton bleaching, DPPH, dan tiosinat. Metode DPPH merupakan metode untuk menguji aktivitas antioksidan dengan cepat, praktis, mudah, mudah dan sederhana. Metode DPPH dilakukan berdasarkan reduksi DPPH yaitu radikal bebas yang stabil. Radikal bebas Radikal bebas DPPH dengan jumlah elektron ganjil memberikan hasil serapan maksimum pada 517 nm (menghasilkan warna ungu). Apabila DPPH bereaksi dengan antioksidan, yang merupakan radikal bebas yang stabil akan menjadi berpasangan karena adanya donor hidrogen dari antioksidan yang nantinya akan mereduksi DPPH dan mengakibatkan warna larutan berubah menjadi warna kuning serta nilai absorbansi dari DPPH berkurang.



Gambar 2. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan

DPPH adalah radikal bebas yang stabil dalam larutan metanol. DPPH memiliki panjang maksimum disekitar 515-520 nm (Bandoniene dkk. 2002, Pavlov dkk. 2002, dan Gazi dkk. 2004). Nilai konsentrasi efektif merupakan bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (mikrogram/mililiter) yang mampu menghambat 50% oksidasi. Perhitungan nilai konsentrasi efektif atau IC_{50} menggunakan rumus (1) sebagai berikut:

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{(A_o - A)}{A_o} \times 100\%$$

Keterangan : A_0 = Nilai absorbansi kontrol

A = Nilai absorbansi sampel

Nilai IC_{50} diperoleh dari perpotongan garis antara daya hambatan dan sumbu konsentrasi, kemudian ditemukan persamaan garis antara daya hambatan dan sumbu konsentrasi, kemudian dimasukkan kedalam persamaan $y = a + bx$, dimana $y = 50$ dan nilai x menunjukkan IC_{50} (Hanani dkk, 2005). Suatu senyawa dikatakan sebagai antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} kurang dari 50, kuat (50-100), sedang (100- 150), dan lemah (151-200). Semakin kecil nilai IC_{50} semakin tinggi aktivitas antioksidan (Badarinath, 2010).

3.9 Serum

Serum memiliki konsentrasi yang tinggi dan viskositas yang rendah, zat aktifnya dihantarkan dengan membentuk film tipis pada permukaan kulit (Draelos, 2010). Serum dapat diolah menggunakan dua basis yaitu berbasis air dan berbasis minyak. Serum mengandung lebih banyak zat aktif alami yang baik dibandingkan dengan krim wajah atau produk-produk kulit yang lain. Serum bekerja pada bagian tubuh manusia seperti wajah, leher, dan kelopak mata. Serum dapat digunakan oleh berbagai usia dari anak muda hingga orang tua (Kumar, 2013).

Produk kosmetik seperti serum, lotion, dan foundation lebih baik dikemas dalam botol kosmetik yang kedap udara atau airless dispensers. Botol yang kedap udara dapat meminimalisasi terjadinya proses oksidasi, karena oksidasi dapat menyebabkan produk kosmetik lebih cepat rusak, dan oleh sebab produk kosmetik yang dikemas dengan botol kedap udara akan memiliki kualitas produk yang lebih tahan lama, dan juga botol kosmetik kedap udara dapat berfungsi untuk produk kemasan yang sensitif terhadap bahan kimia atau serangan mikroba (Shivsharan, 2014).

3.10 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri adalah suatu metode pengukuran energi radiasi atau intensitas sinar yang terserap oleh larutan. Spektrofotometri UV-Vis merupakan salah satu bentuk spektrofotometri absorpsi. Pada cara ini, cahaya atau gelombang cahaya elektromagnetik (Sinar UV-Vis) berinteraksi dengan zat dan dilakukan pengukuran besarnya cahaya (Gelombang elektromagnetik) yang diabsorpsi (Sastrohamidjojo, 2004). Berdasarkan panjang gelombang spektrofotometri dibagi dua yaitu spektrofotometri ultraviolet dengan panjang gelombang 200-400 nm digunakan untuk senyawa yang tidak berwarna dan spektrofotometri visibel (sinar tampak) dengan panjang gelombang 400-800 nm, digunakan untuk senyawa yang berwarna (Dachriyanus, 2004).

Penerapan spektrofotometri UV-Vis pada senyawa organik didasarkan pada transisi. Transisi ini terjadi dalam daerah spektrum sekitar 200 ke 800 nm yang digunakan dalam eksperimen dan karenanya memerlukan gugus kromofor dalam molekul itu (Kuntorini, 2010). Kromofor merupakan gugus tak jenuh kovalen yang dapat menyerap radiasi dalam daerah-daerah UV dan visible. Pada senyawa organik dikenal pula gugus aoksokrom yaitu gugus jenuh yang terikat pada kromofor. Terikatnya aoksokrom pada kromofor dapat mengubah panjang gelombang dan intensitas serapan maksimum (Sastrohamidjojo, 2001).

3.11 GC-MS

GC-MS adalah metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas (GC) untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit. Gas kromatografi ini digunakan untuk mengidentifikasi suatu senyawa yang terdapat pada campuran gas dan juga menentukan konsentrasi suatu senyawa dalam fase gas. Kromatografi gas ini memiliki prinsip kerja, kromatografi gas terkait dengan titik didih senyawa yang dianalisis serta perbedaan interaksi analit

dengan fase diam dan fase gerak. Senyawa yang lebih terikat dalam fase cair pada permukaan fase diam juga memiliki waktu retensi yang lebih lama (Clark, 2007). Sedangkan spektroskopi massa merupakan suatu metode untuk mendapatkan berat molekul dengan cara mencari perbandingan massa terhadap muatan dari ion yang muatannya diketahui dengan mengukur jari-jari orbit yang melingkar pada medan magnetik seragam. Spektroskopi massa memiliki prinsip kerja yaitu menembak bahan yang sedang dianalisis dengan berkas elektron dan secara kuantitatif mencatat hasilnya sebagai suatu spektrum fragmen ion positif.

GC-MS digunakan untuk mengidentifikasi komponen dari minyak jintan hitam. Spektroskopi massa digunakan untuk mengetahui Rumus Molekul tanpa melalui analisis unsur. Setelah diketahui rumus empirisnya, yakni $(C_xH_yO_z)_n$, kemudian baru ditentukan BM-nya. Komputer pada alat GC-MS dapat langsung diketahui rumus molekulnya. GC-MS hanya dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa yang mudah menguap (Agusta, 2000).

Secara umum, GC-MS memiliki 3 komponen utama yaitu GC, konektor, dan MS. Prinsip kerja GC-MS berdasarkan pada perbedaan kepolaran dan massa molekul sampel yang dapat diuapkan. Sampel yang berupa cairan atau gas akan langsung diinjeksikan kedalam injektor sedangkan sampel yang berbentuk padatan akan dilarutkan terlebih dahulu menggunakan pelarut yang dapat diuapkan. Aliran gas yang mengalir akan membawa sampel yang teruapkan untuk masuk ke dalam kolom. Komponen-komponen yang ada pada sampel akan dipisahkan berdasarkan partisi diantara fase gerak (gas pembawa) dan fase diam (kolom). Hasilnya berupa molekul gas yang kemudian akan diionisasikan pada spektrofotometer massa sehingga molekul gas itu akan mengalami fragmentasi yang berupa ion-ion positif. Ion akan memiliki spesifik antara massa dan muatannya (Karliawan, 2009).

3.12 Uji Iritasi

Iritasi merupakan suatu reaksi kulit terhadap zat kimia, misalnya alkali kuat, asam kuat, pelarut dan detergen. Iritasi adalah salah satu reaksi buruk yang terjadi pada kulit, yang dapat disebabkan oleh beragam faktor diantaranya lama pemberian, luas area pemberian, tingkat penetrasi dan ketoksikan dari bahan yang diaplikasikan (More, 2013). Munculnya iritasi dapat terjadi setelah beberapa waktu dari pengaplikasian sediaan, ditandai dengan beberapa gejala seperti kulit akan mengering terasa nyeri, mengalami perdarahan, dan pecah-pecah. Iritasi yang terjadi pada kulit ditandai dengan adanya eritema dan edema, dimana eritema atau kemerahan terjadi karena dilatasi pembuluh darah pada daerah yang teriritasi, sedangkan pada udema terjadi perbesaran plasma yang membeku pada daerah yang terluka (Irsan dkk, 2013).

Pada industri kosmetik, evaluasi terjadinya potensi potensi yang dapat dialami oleh kulit dari bahan atau zat-zat kimia dan formulasi yang dibuat adalah satu kebutuhan. Hal tersebut harus dilakukan uji iritasi karena adanya kontak langsung antara suatu senyawa dengan kulit manusia (More BH,2013). Hewan uji pilihan yang biasa digunakan untuk mengidentifikasi adanya iritasi dari suatu zat kimia yaitu kelinci, marmot putih, dan mencit putih. Jika adanya suatu zat kimia yang diaplikasikan pada kulit secara berulang-ulang maka tujuan dari uji iritasi yang dilakukan yaitu untuk mendeteksi baik untuk efek topikal maupun efek sistemik.

3.13 Uji Hedonik

Uji hedonik (uji kesukaan) adalah pernyataan kesan baik tentang baik atau buruknya mutu suatu produk. Uji kesukaan meminta penulis untuk harus memilih satu pilihan di antara lain. Maka itu, produk yang dipilih dapat menunjukkan bahwa produk tersebut disukai atau tidak disukai (Setyaningsih, 2010). Tingkat-tingkatnya atau skala kesukaannya. Misalnya dalam hal “suka”, mempunyai skala hedonik seperti : agak suka, suka, suka sekali. Sebaliknya untuk skala hedonik tidak suka seperti : agak tidak suka, tidak suka, sangat tidak suka.

Uji hedonik biasa digunakan untuk menilai komoditi sejenis atau produk pengembangan secara organoleptik. Jika uji perbedaan banyak digunakan dalam program pengembangan hasil - hasil baru atau hasil bahan mentah maka uji hedonik banyak digunakan untuk menilai hasil akhir dari suatu produk. Uji hedonik memiliki tujuan yaitu untuk mengetahui respon penelis terhadap sifat mutu yang umum, seperti warna, aroma, testur, dan lain-lain. Sedangkan uji mutu hedonik ingin mengetahui respon penelis terhadap sifat-sifat produk yang lebih spesifik, misalnya aroma wangi pada serum.

3.14 Uji Homogenitas

Stabilitas pada sediaan serum merupakan salah satu pengujian yang penting, salah satunya dengan cara mengetahui pengaruh suhu terhadap stabilitas. Uji stabilitas bertujuan untuk mengetahui kualitas produk yang telah diluluskan dan beredar di pasaran. Dengan uji stabilitas dapat diketahui pengaruh faktor lingkungan seperti suhu dan kelembapan terhadap parameter-parameter stabilitas produk seperti uji homogenitas (Farmawati, 2014). Uji homogenitas merupakan salah satu pengujian dalam menentukan stabilitas melalui pengamatan secara langsung. Pengamatan yang dilakukan meliputi ada atau tidaknya gumpalan atau endapan yang terbentuk pada larutan (Dewi dkk, 2017)

BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

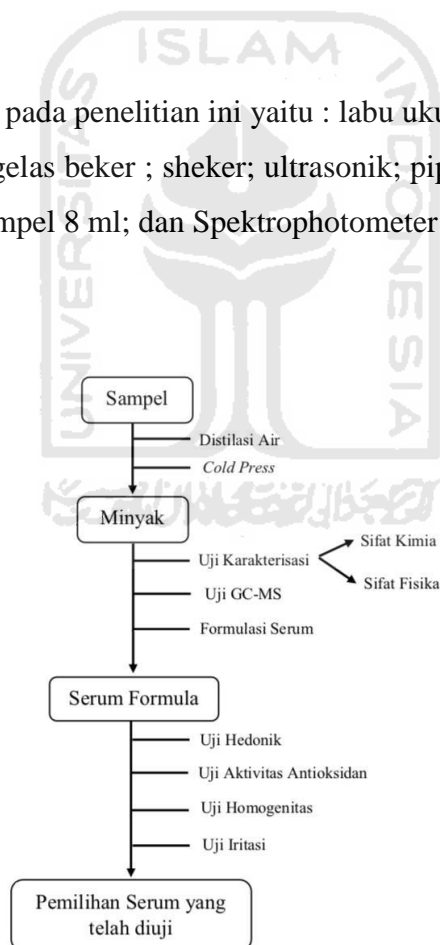
4.1 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu biji jantan hitam, olive oil; minyak atsiri jantan hitam ; minyak nilam ; KOH ; Asam oksalat ; indikator fenolftalein ; kontrol positif (serum komersial); DPPH (*2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl hydrate*); etanol p.a; etanol 95% dan kelinci jantan umur ± 2 bulan.

4.2 Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu : labu ukur 10 mL; labu ukur 5 mL; pipet tetes; pipet micro; gelas beker ; sheker; ultrasonik; pipet ukur 5 mL; kasa steril; plaster; gunting; botol sampel 8 ml; dan Spektrophotometer Uv-vis Hitachi UH5300.

4.3 Cara Kerja



Gambar 3. Diagram Alir Penelitian

4.3.1 Pembuatan Minyak Jintan Hitam

4.3.1.1 Destilasi

Proses pembuatan minyak jintan hitam menggunakan metode destilasi air. Diambil biji jintan hitam sebanyak 1 kg kemudian ditumbuk dan dimasukkan kedalam ketel. Selanjutnya ditambahkan dengan air secukupnya. Rangkaian alat destilasi dipasang dan air dialirkan melalui pendingin selama proses destilasi. Biji jintan hitam dipanaskan dengan kompor gas sampai minyak keluar dan tertampung pada tempat penampung berskala. Destilasi dihentikan setelah tidak ada minyak yang tertampung pada tempat penampung berskala (\pm selama 6 jam). Minyak yang diperoleh dipisahkan dengan air menggunakan corong pisah, kemudian dimasukkan Na_2SO_4 eksikatus diatas corong pisah untuk mengikat sisa air. Minyak atsiri yang diperoleh disimpan dalam botol berwarna gelap dan ditutup rapat.

4.3.1.2 Cold Press

Proses pembuatan minyak jintan hitam menggunakan metode *cold press*. Diambil biji jintan hitam sebanyak 3 kg kemudian dit International Journal of Engineering Advanced Research e-ISSN: 2710-7167 | Vol. 1, No. 2 umbuk hingga halus. Kemudian serbuk biji jintan hitam dimasukkan pada alat press dan dilakukan pengepressan selama 1 hari. Selanjutnya minyak jintan hitam yang diperoleh disimpan dalam botol berwarna gelap dan ditutup rapat.

4.3.2 Uji kualitatif minyak atsiri

Beberapa minyak atsiri dianalisi menggunakan GC-MS untuk mengetahui kandungan dari komponen beberapa minyak atsiri.

4.3.3 Uji karakterisasi

4.3.3.1 Penentuan Berat Jenis

Piknometer dengan ukuran 5 mL digunakan untuk penentuan berat jenis minyak hasil ekstraksi biji jintan hitam. Piknometer kosong ditimbang terlebih dahulu

kemudian piknometer diisi dengan air suling sampai tidak terbentuk gelembung udara. Setelah ditutup dengan penutup piknometer, kemudian piknometer beserta isinya ditimbang. Kemudian piknometer diisi dengan minyak jintan hitam sampai tidak terbentuk gelembung udara. Setelah ditutup dengan penutup piknometer, kemudian piknometer beserta isinya ditimbang. Berat jenis minyak dapat dihitung dari persamaan berikut:

$$\frac{(\text{Berat piknometer} + \text{minyak}) - \text{berat piknometer kosong}}{\text{Berat air}}$$

4.3.3.2 Penentuan Indeks Bias

Pengukuran indeks bias dilakukan dengan cara satu tetes minyak diletakkan pada kaca prisma refraktometer, kemudian kaca prisma ditutup dan didiamkan selama 2 menit. Lampu refraktometer dinyalakan dan langsung dilihat pada skala pembacaan. Nilai indeks bias suatu jenis minyak atau lemak dipengaruhi oleh suhu.

4.3.3.3 Penentuan Bilangan Asam

Sebanyak 1 g minyak dimasukkan ke dalam gelas piala 200 mL, kemudian ditambahkan etanol 95% sebanyak 50 mL. Campuran tersebut dipanaskan pada suhu 65°C sambil diaduk sampai membentuk larutan. Larutan ini dititrasi dengan KOH 0,1 N dengan indikator fenolftalein 1% sampai terlihat warna merah jambu. Setelah itu, dilakukan perhitungan jumlah mg KOH yang digunakan untuk menetralkan asam lemak bebas dalam 1 g sampel minyak.

$$\text{Bilangan asam} = \frac{Vs \times N \times 56,107}{G}$$

Di mana:

V_s = jumlah mL KOH yang dibutuhkan untuk mentitrasi sampel

N = normalitas larutan KOH

G = berat sampel

56,107 = berat ekuivalen KOH

4.3.4 Pembuatan Serum

Pada formulasi serum antioksidan dan *anti aging* dibagi menjadi dua bagian yaitu 40% dari bahan utama berupa minyak jintan hitam dan nilam, dan 60% dari bahan pelarut berupa *olive oil*. Minyak jintan hitam dan minyak nilam dicampur terlebih dahulu dengan sesuai volume pada tabel 1. agar pencampuran merata, lalu dilakukan ultrasonik selama 1 jam. Setelah pencampuran dua minyak tersebut lalu ditambahkan *olive oil* sesuai tabel 1 di *shake* dengan 250 rpm selama 1 hari. Serum *anti aging* berbasis minyak jintan hitam akan dilanjutkan dengan beberapa tahapan uji untuk menentukan serum antioksidan dan *anti aging* yang paling optimal.

Tabel 1. Formula serum antioksidan

Formulasi Serum	Minyak Jintan Hitam (mL)	Minyak Nilam (mL)	Olive Oil (mL)
N1J1	1,1	0,1	1,8
N1J2	1,2	0,1	1,95
N1J3	1,3	0,1	2,1
N1J4	1,4	0,1	2,25
N2J1	1,1	0,15	1,875
N2J2	1,2	0,15	2,025
N2J3	1,3	0,15	2,175
N2J4	1,4	0,15	2,325

N3J1	1,1	0,2	1,95
N3J2	1,2	0,2	2,1
N3J3	1,3	0,2	2,25
N3J4	1,4	0,2	2,4
N4J1	1,1	0,25	2,025
N4J2	1,2	0,25	2,175
N4J3	1,3	0,25	2,325
N4J4	1,4	0,25	2,475
N4J3D	2,075	0,25	1.55

Formulasi serum antioksidan dan *anti aging* dilakukan uji hedonik, dimana antara 16 serum tersebut dipilih 5 serum antioksidan dan *anti aging* yang memiliki hasil terbaik berdasarkan uji hedonik. Cara kerja untuk uji hedonik dapat dilihat pada anak sub bab 4.3.6.

4.3.5 Ethical clearance

Ethical clearance atau kelayakan etik adalah keterangan tertulis yang diberikan oleh komisi etik penelitian untuk riset yang melibatkan makhluk hidup seperti manusia, hewan dan tumbuhan. Pada penelitian ini diperlukan *ethical clearance* guna memastikan bahwa manusia dan hewan uji mendapat perlakuan sesuai dengan prosedur yang benar. *Ethical clearance* diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.

4.3.6 Uji Hedonik (Uji Aroma)

Uji hedonik pada serum antioksidan dan *anti aging* dilakukan oleh 40 responden dimana 20 orang yang berumur 23-50 tahun dan 20 orang yang berumur 18-22 tahun. Masing – masing responden akan diberi 16 serum antioksidan dan *anti aging*, setiap responden akan memilih aroma yang disukai dengan cara mengisi kuesioner. Penelis memberikan penilaian terhadap 16 formulasi serum antioksidan dan *anti aging*

berdasarkan aroma, kekuatan wangi, warna dan kekentalan dengan kriteria (1) tidak suka, (2) kurang suka, (3) suka, dan (4) suka sekali. Dua teratas yang disukai aromanya akan diujikan ke tahap selanjutnya.

4.3.7 Uji Antioksidan Dengan Metode DPPH (Kuantitatif)

a. Pembuatan larutan DPPH 0,08 mM dalam etanol p.a

Sebanyak 1,57 mg serbuk DPPH dilarutkan dengan 50 ml etanol p.a pada labu ukur. Larutan disimpan dalam labu ukur yang dibungkus dengan *aluminium foil* agar terhindar dari degradasi oleh cahaya.

b. Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH

Larutan DPPH 0,04 mM diambil 5 mL dimasukkan dalam labu ukur 5 mL dan diinkubasi pada suhu ruang selama kurang lebih 30 menit. Kemudian diamati absorbansinya pada rentang panjang gelombang 400-800 nm, dimana etanol p.a berfungsi sebagai blanko. Panjang gelombang dengan absorbansi tertinggi yang diperoleh merupakan panjang gelombang maksimum.

c. Pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas pembanding (serum komersial)

Larutan serum komersial dengan konsentrasi 1000 ppm Larutan serum komersial dengan konsentrasi 1000 ppm dibuat dengan cara melarutkan sebanyak 1 mg serum komersial dengan 10 mL etanol p.a pada labu ukur selanjutnya di shaker hingga larut sempurna dan homogen. Kemudian dari larutan 1000 ppm ini dibuat larutan stok serum komersial dengan konsentrasi 100 ppm. Selanjutnya dari larutan stok serum komersial konsentrasi 100 ppm ini dibuat larutan dengan berbagai konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Selanjutnya dilakukan uji antioksidan dengan cara sebanyak 2.5 mL dari masing-masing konsentrasi ditambah dengan 2.5 mL larutan DPPH 0,08 mM dalam etanol p.a. Campuran larutan dihomogenkan kemudian diinkubasi pada ruang gelap dan pada

suhu ruang selama kurang lebih 30 menit lalu absorbansi dibaca dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 516 nm.

d. Pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas serum formula

Larutan sampel dari masing-masing 5 serum formula dibuat dalam berbagai konsentrasi 50, 100, 150, 200, dan 250 ppm sebanyak 5 mL. Sebanyak 2,5 mL larutan pada masing-masing konsentrasi serum formula ditambahkan dengan 2,5 mL larutan DPPH 0,08 mM. Kemudian campuran dihomogenkan dan diinkubasi pada suhu ruang dan gelap selama kurang lebih 30 menit. Serapan dibaca pada panjang gelombang 516 nm. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali pembacaan. Aktivitas antioksidan dihitung sebagai persentase inhibisi terhadap DPPH (persentase “scavenging effect”), yaitu :

$$\% \text{ Antioksidan} = \frac{(A_0 - A)}{A_0} \times 100\%$$

Keterangan : A_0 = Nilai absorbansi kontrol

A = Nilai absorbansi sampel

Nilai IC_{50} adalah konsentrasi sampel yang diperlukan untuk memberikan % inhibisi sebesar 50 %. Nilai IC_{50} dihitung berdasarkan persamaan yang diperoleh dari grafik antara aktivitas peredaman berbanding dengan konsentrasi sampel menggunakan Microsoft Excel.

4.3.8 Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan uji pengamatan terhadap suatu larutan untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan fase dan suatu gumpalan atau endapan pada larutan yang dilakukan diberbagai suhu. Uji homogenitas dilakukan dengan cara serum formulasi dimasukkan kedalam kulkas selama 5, 10, 15 dan 20 menit kemudian serum formulasi dicek suhu dan dilakukan pengamatan.

4.3.9 Uji Iritasi

a. Penanganan hewan uji

Uji iritasi dilakukan secara *in vivo* pada kelinci percobaan. Penelitian ini digunakan kelinci sebagai hewan uji karena memiliki luas permukaan punggung yang besar dan lebar sehingga dalam satu punggung dapat digunakan untuk lima perlakuan. Hewan uji yang digunakan adalah kelinci lokal jantan usia ± 3 bulan dengan berat badan ± 2 kg yang memiliki kondisi sehat dimana kelinci memiliki telinga tegak dan bersih, sepasang mata bulat dan bening, memiliki mulut dan hidung yang bersih dan kering, gigi kuat, bagian punggung terasa kenyal dan padat, kaki yang terlihat berisi dan tidak bengkok, ekor terlihat tegak mengarah ke atas dan merapat ke punggung bagian belakang dan dipelihara dalam kondisi baik dan dipelihara dalam kondisi baik. Alasan pemilihan kelinci jantan agar tidak terpengaruh pada hormonal dan kehamilan pada saat penelitian berlangsung. Pemilihan berat badan dilakukan untuk memastikan kelinci dalam keadaan fisik sehat, dan tidak terdapat infeksi pada kulit sebelum perlakuan. Usia yang dipilih ialah 3 bulan karena pada usia tersebut kelinci memiliki respon imunologis yang cepat dilihat. Sedangkan alasan menggunakan kelinci ialah kelinci memiliki luas area punggung yang lebih besar dari hewan coba yang lain sehingga lebih efisien.

b. Pengelompokan sampel pada hewan uji

Jumlah kelinci yang digunakan secara keseluruhan adalah 1 ekor (1 ekor untuk 2 perlakuan). Adapun pembagian sampel pada hewan uji adalah :

Punggung kanan kelinci : untuk sampel N2J3 dimana memiliki kandungan minyak jintan sebanyak 1.3 mL, sedangkan kandungan nilam 0.15 mL.

Punggung kiri kelinci : untuk sampel N4J3 dimana memiliki kandungan minyak jintan sebanyak 1.3 mL, sedangkan kandungan nilam 0.25 mL.

c. Pencukuran hewan uji

Pencukuran hewan uji dilakukan pada daerah punggung. Bulu pada bagian punggung kelinci dicukur berukuran 1 x 1 inci dan dilakukan secara bertahap. Tahap pertama yaitu menggunting dengan gunting rambut, rambut kelinci digunting kira-kira 0,5 cm. Kemudian dilanjutkan tahap kedua dengan pencukuran bulu menggunakan alat cukur agar mendapatkan kulit kelinci yang bebas bulu. Pencukuran dilakukan sedemikian rupa agar tidak melukai kulit kelinci.

d. Pemberian serum uji dan pengamatan gejala toksik.

Pemberian serum uji diawali dengan mengambil serum sebanyak satu tetes, lalu serum tersebut dioleskan diatas punggung kelinci secara berhati-hati dan merata. Setelah pengolesan selesai, punggung kelinci yang diberikan perlakuan ditutupin dengan kasa steril, kemudian diberi plester. Apabila perlakuan telah selesai hewan uji dikembalikan lagi ke kandang. Keesokan harinya (selama 24 jam), kasa steril dibuka kemudian diamati gejala toksis seperti apa yang timbul. Gejala toksis tersebut diamati setelah 72 jam atau 3 hari berikutnya. Perlakuan ini diberikan untuk semua kelompok hewan uji iritasi primer. Pengamatan dilakukan dengan disertai foto pada setiap area (More BH, 2013).

e. Perawatan dan pengandangan hewan uji

Perawatan dan pengandangan hewan uji dengan cara kelinci diberi makan tepat waktu, diberi makanan dengan makanan khusus kelinci (pellet), porsi makan yang cukup. Kemudian kelinci diberikannya perlakuan yang baik agar tidak stress dengan cara kelinci diletakan pada kandang tidak terlalu besar atau kecil, diberikan kandang yang luas agar adanya tempat untuk bermain, dan juga dikeluarkan dari kandang dan

dilepaskan pada halaman luar, jangan sering digendong-gendong, dan dilakukannya pembersihan kandang setiap harinya agar kelinci merasa nyaman dan tenang pada saat didalam kandang. Memberikan penyediaan teman (binatang sejenis) agar tidak merasa sendiri, dan memastikan hewan coba bebas dari rasa takut dan seperti konflik dengan spesies lain dan gangguan dari predator. Jika hewan uji menunjukkan tanda-tanda sakit seperti diare, anoreksia, penurunan berat badan, gemetar dan perubahan tingkah laku maka penelitian dihentikan saat itu juga dan dilaporkan ke dokter hewan untuk pemeriksaan lebih lanjut dan dilakukannya perawatan lebih intens.



BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

Di dalam penelitian ini dibahas mengenai preparasi, karakterisasi minyak jintan hitam dan pembuatan serum *anti aging*. Biji jintan hitam (*Nigella Sativa*) memiliki fungsi sebagai antimikroba, antioksidan atau anti-aging, aktivitas anti kanker, penumbuh rambut sehingga jintan hitam mulai banyak digunakan untuk bahan utama kosmetik. Pada penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas antioksidan serum *anti aging* berbasis minyak jintan hitam dan mengetahui formulasi sediaan serum terhadap aktivitas minyak jintan hitam sebagai antioksidan dan *anti aging* dengan metode pengujian DPPH (2,2- difenil- 1- pikrilhidrazil).

5.1 Preparasi Ekstrak Biji Jintan Hitam

Preparasi sampel dalam penelitian ini yaitu ekstrak biji jintan hitam yang akan berfungsi sebagai bahan utama atau bahan aktif dalam pembuatan serum *anti aging*. Ekstraksi biji jintan hitam menggunakan 2 metode yaitu metode distilasi air dan *cold press* yang bertujuan untuk membandingkan hasil serum *anti aging* yang paling efektivitas antioksidannya. Pembuatan ekstrak biji jintan hitam diawali dengan menumbuk biji jintan hitam menjadi serbuk yang bertujuan agar luas permukaan dari biji jintan hitam semakin bertambah, karena semakin kecil ukuran material maka semakin besar luas permukaannya. Setelah biji jintan hitam ditumbuk maka dilakukan ekstrak biji jintan hitam dengan metode distilasi, 3 kg serbuk biji jintan hitam dimasukkan kedalam ketel. Selanjutnya ditambahkan dengan air secukupnya, rangkaian alat distilasi dipasang dan air dialirkan melalui pendingin selama proses distilasi. Biji jintan hitam dipanaskan dengan kompor gas sampai minyak keluar dan tertampung pada tempat penampung berskala. Distilasi dihentikan setelah tidak ada minyak yang tertampung pada tempat penampung berskala (selama 11 jam). Minyak yang diperoleh dipisahkan dengan air menggunakan corong pisah, kemudian

dimasukkan Na_2SO_4 eksikatus diatas corong pisah untuk mengikat sisa air. Hasil minyak sebanyak 7 mL yang didapat selama destilasi 5 jam.

Proses pembuatan minyak jintan hitam menggunakan metode *cold press*. Diambil biji jintan hitam sebanyak 3 kg kemudian ditumbuk hingga halus. Kemudian serbuk biji jintan hitam dimasukkan pada alat press dan dilakukan pengepressan selama 1 hari. Hasil minyak yang diperoleh sebanyak 60 mL dengan berat jenis sebesar 0,914 dan rendemen sebesar 2,742%. Pada penelitian El-Taher, dkk, (1993) menyatakan bahwa kandungan minyak atsiri jintan hitam sekitar 0,40-0,45 %.

Ekstrak biji jintan hitam yang diperoleh disajikan pada Gambar 4.



Minyak Jintan Hitam

Minyak Jintan Hitam

Distilasi

cold press

Gambar 4. Ekstrak Biji Jintan Hitam

5.2 Uji Karakterisasi pada Minyak Jintan Hitam

Pada awal penelitian dilakukan karakterisasi minyak jintan hitam hasil *cold press* meliputi warna, bilangan asam, pH, berat jenis, dan indeks bias untuk melihat kualitas serta mutu minyak yang digunakan. Hasil karakterisasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Karakterisasi Minyak Jintan Hitam

Parameter Karakterisasi	Hasil			
	Azzahra (2017)	Georlich (2007)	Nammer (2016)	Hasil Pengamatan
Warna	Kuning-coklat	Kuning kecoklatan	-	Kuning kecoklatan
Bilangan Asam	15,69	-	-	19,32084
pH	-	-	-	5
Berat Jenis	0,9183	0,916-0,924	-	0,914
Indeks Bias	1,4721	-	1,47	1,4755

Hasil karakterisasi minyak jintan hitam yang disajikan pada tabel 5. menunjukkan bahwa warna minyak jintan hitam yang dihasilkan adalah berwarna coklat pekat. Pengukuran berat jenis minyak jintan hitam bertujuan untuk mengetahui ukuran kerapatan massa pada setiap volume, pengukuran berat jenis ini menggunakan piknometer sehingga didapatkan nilai berat jenis minyak jintan hitam sebesar 0,914. Hasil ini menunjukkan bahwa nilai berat jenis yang diperoleh sesuai dengan nilai dari literatur menurut Azzahra (2017) yaitu 0,9183 dan menurut Georlich (2007) berat jenis minyak jintan hitam yaitu 0,916-0,924. Pengukuran indeks bias pada minyak jintan hitam ini menggunakan refraktometer, hasil indeks bias yang diperoleh pada minyak jintan hitam sebesar 1,4755. Hasil ini menunjukkan bahwa nilai berat jenis yang diperoleh sesuai dengan nilai dari literatur menurut Azzahra (2017) yaitu 1,4721 dan menurut Nammer (2016) yaitu 1,47.

Penentuan bilangan asam pada minyak jintan hitam memiliki prinsip yaitu sejumlah tertentu sampel yang mengandung asam lemak dilarutkan dalam alkohol netral kemudian dipanaskan sampai larut, kemudian ditambahkan indikator phenophtalein karena sampel dititrasi dengan larutan basa. Sampel yang telah larut tersebut dititrasi menggunakan basa alkali (KOH). Penambahan KOH berfungsi untuk menetralkan asam lemak bebas yang terdapat dalam sampel minyak. Dari percobaan, bilangan asam yang didapatkan dari sampel minyak jintan hitam yaitu 19,32084 mg

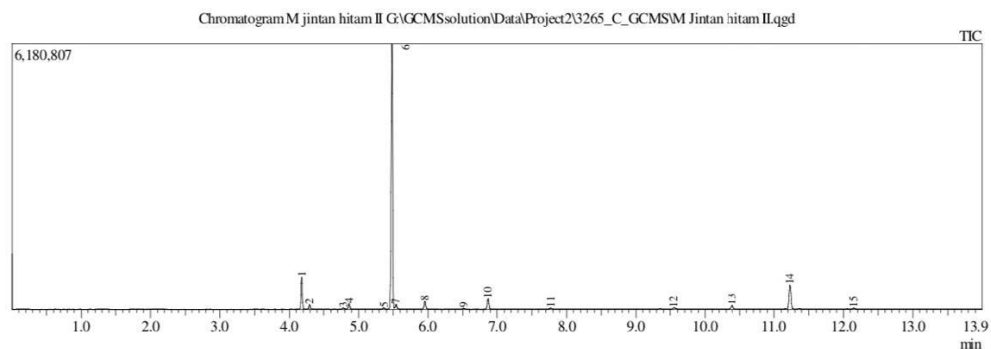
KOH/gram dan minyak jintan hitam memiliki pH 5 dapat disimpulkan minyak jintan hitam ini bersifat asam.

5.2.1 Uji GC-MS pada Minyak Jintan Hitam dan Minyak Nilam

Pada penelitian ini digunakan minyak atsiri jintan hitam dari hasil distilasi dan *cold press*, dimana hasil dari keduanya memiliki perbedaan dari segi warna minyak dan senyawa didalam minyak jintan hitam. Pada proses ditilasi, minyak jintan hitam yang dihasilkan berwarna coklat pekat kehitaman dengan aroma yang khas dan tajam, sedangkan pada proses *cold press* menghasilkan minyak jintan hitam yang berwarna kuning kecoklatan dan memiliki aroma yang khas dan tajam. Minyak jintan hitam berfungsi sebagai bahan utama atau bahan aktif dalam pembuatan serum *anti aging*.

Pada pembuatan serum *anti aging* juga digunakan minyak nilam dan minyak *olive oil*. Minyak nilam berfungsi sebagai bahan pencampur dan fiksatif yang dapat mengikat wangi serum antioksidan atau dapat mengikat senyawa lainnya. Pada penelitian ini juga digunakan minyak nilam, hasil dari minyak nilam memiliki warna kuning kecoklatan dan memiliki aroma khas dan tajam. Sedangkan minyak *olive oil* berfungsi sebagai pelarut yang memiliki aroma ringan.

Pada peneltian ini dilakukan uji GC-MS pada minyak jintan hitam dan minyak nilam. GC-MS adalah metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas (GC) untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit. Hasil kromatogram minyak jintan hitam proses distilasi disajikan pada Gambar 5.



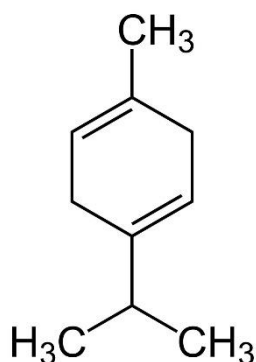
Gambar 5. Kromatogram minyak jintan hitam proses distilasi

Tabel 3. Senyawa dalam minyak jintan hitam (Distilasi)

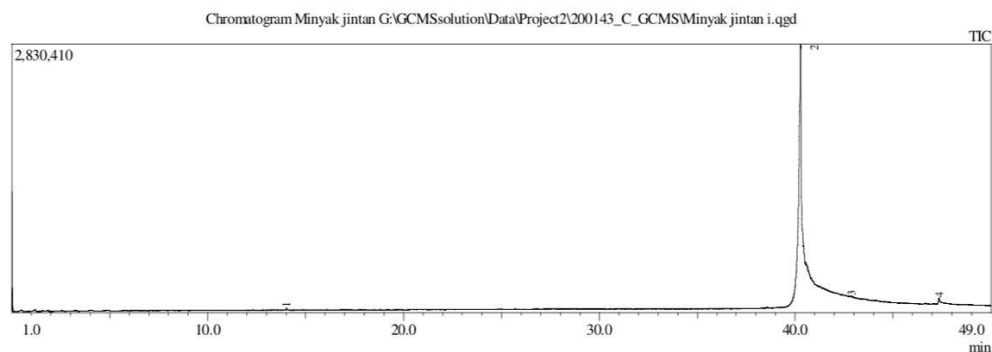
No Puncak	a. Senyawa dalam minyak jintan hitam Serum formula N4J3 M			b. Senyawa dalam minyak jintan hitam menurut Mahfur, (2018)		
	R Time	Area %	Senyawa	R Time	Area %	Senyawa
1	4.180	7.39	α - <i>Phellandrene</i>	2.684	5.58	α - <i>Thujene</i>
2	4.294	1.31	β - <i>Ocimene</i>	2.780	1.33	α - <i>Pinene</i>
3	4.782	0.45	<i>Bicyclo [3.1.0] hexane</i>	3.266	1.09	<i>Sabinene</i>
4	4.863	1.59	2- β - <i>Pinene</i>	3.335	2.53	2- β - <i>Pinene</i>
5	5.363	0.40	α - <i>Terpinene</i>	4.065	46.15	<i>p-Cymene</i>
8	5.484	70.44	<i>p-Cymene</i>	4.215	2.36	<i>Limonene</i>
7	5.540	1.34	<i>Cyclohexene</i>	5.697	0.89	<i>O-cimene</i>
9	5.956	2.45	γ - <i>Terpinene</i>	6.247	4.23	<i>Delta-3-carene</i>
	6.519	0.31	2- β - <i>Pinene</i>	7.190	2.45	<i>Cis-limonene oxide</i>
10	6.868	3.21	2- β - <i>Pinene</i>	7.626	0.99	<i>Terpinene-4-ol</i>
11	7.772	0.37	<i>Linalool, Bicyclo [3.1.0] hexane</i>	9.438	27.51	<i>Thymoquinone</i>
12	9.550	0.59	<i>Phenol</i>	11.535	0.82	<i>Karvakrol</i>
13	10.393	1.37	α - <i>Longipinene</i>	13.581	0.90	α - <i>Longipinene</i>
14	11.229	8.49	<i>Longifolene</i>	15.321	3.56	<i>Junipene</i>
15	12.147	0.31	<i>Tridecane</i>			

Hasil GC-MS pada minyak jintan hitam (Distilasi) yang digunakan dalam pembuatan formulasi serum *anti aging* memiliki 15 puncak senyawa, dimana puncak senyawa tertinggi pada puncak 6 yaitu *p- Cymene* (70.44%), kemudian *Longifolene* (8.49%), *α - Phellandrene* (7.39%), *2- β - Pinene* (3.12%) dan *γ - Terpinene* (2.45%). Sedangkan, hasil GC-MS menurut Mahfur (2018) memiliki 14 puncak senyawa, dimana puncak senyawa tertinggi pada puncak 5 yaitu *p- Cymene* (46.15%), kemudian *Thymoquinone* (27.51%), *α - Thujene* (5.58%), *Delta-3-carene* (4.23%) dan *Junipene* (3.56%). Hasil GC-MS yang diperoleh pada minyak jintan hitam ini mempunyai puncak lebih sedikit jika dibandingkan dengan hasil GC-MS minyak jintan hitam menurut Mahfur (2018) karena biji jintan hitam yang digunakan berbeda sehingga dapat mengakibatkan puncak senyawa atau kandungan senyawa didalam minyak jintan hitam berbeda. Dari kedua hasil GC-MS tersebut memiliki kandungan senyawa yang sama yaitu keduanya memiliki senyawa *p- Cymene*.

Senyawa *γ - Terpinene* merupakan salah satu komponen aktif utama minyak atsiri dan termasuk golongan terpinena serta memiliki aktivitas sebagai antioksidan. *γ - Terpinene* meleleh pada suhu 10 °C, mendidih pada suhu 183.0 °C, tidak larut dalam air, dan memiliki berat molekul 136.23 gram/mol. Senyawa yang memiliki nama IUPAC *1-methyl-4-propan-2-ylcyclohexa-1,4-diene*.



Gambar 6. Struktur γ - Terpinene

Gambar 7. Kromatogram minyak jintan hitam (*cold press*)Tabel 4. Senyawa dalam minyak jintan hitam (*cold press*)

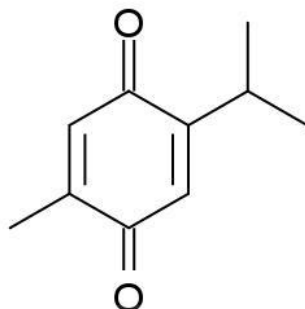
No	a. Senyawa dalam minyak jintan hitam Formulasi serum N2J3 dan N4J3			b. Senyawa dalam minyak jintan hitam menurut Nameer, (2016)		
Puncak	R Time	Area %	Senyawa	R Time	Area %	Senyawa
1	14.025	0.18	<i>Thymoquinone</i>	3.19	7.10	α - <i>Pinene</i>
2	40.279	98.87	Asam oktadekadieno at	3.29	2.21	3 – <i>Carene</i>
3	42.886	0.12	Asam linoleat	4.00	3.67	<i>Bicyclo</i> [2.2.1]heptane
4	47.355	0.82	Asam heksadekanoat	4.96	23.82	1,3,8- <i>p-</i> <i>Menthatriene</i>
5				5.64	2.82	ζ - <i>Terpinene</i>
8				7.05	7.30	<i>cis-4-Methoxy</i> <i>thujane</i>
7				8.41	0.41	<i>Limonene</i>
9				11.06	16.21	<i>Thymoquinone</i>
				11.77	0.21	<i>Butyl 9,12-</i> <i>octadecadieno</i> <i>ate</i>
10				13.46	3.90	<i>Carvacrol</i>
11				13.67	0.82	<i>Ylangene</i>
12				15.37	4.49	<i>Longifolene</i>
13				20.91	0.14	1- <i>Heptatriacotan</i> <i>ol</i>

14		30.91	1.54	2,3- <i>Dihydrofarnesyl acetate</i>
15		31.65	0.77	<i>Hexadecanoic acid</i>
16		33.84	8.12	4,8- <i>Decadienal, 5,9-dimethyl</i>
17		34.95	2.15	<i>Ascorbic acid</i>
18		35.45	7.85	Asam oktadekadienoat
19		37.66	0.25	<i>Cyclopropanecarboxylic acid</i>

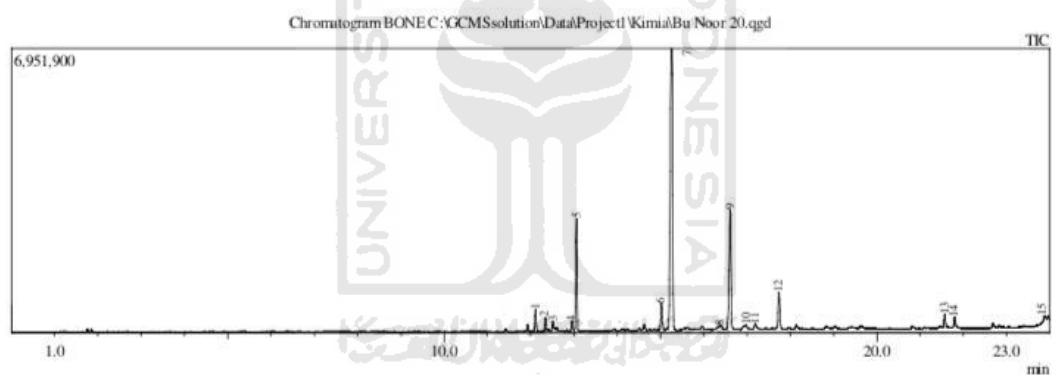
Hasil GC-MS pada minyak jintan hitam (*cold press*) yang digunakan dalam pembuatan formulasi serum *anti aging* memiliki 4 puncak senyawa, dimana puncak senyawa tertinggi pada puncak 2 yaitu Asam oktadekadienoat (98.87%), kemudian Asam heksadekanoat (0.82%), *Thymoquinone* (0.18%), dan Asam linoleat (0.12%). Sedangkan, hasil GC-MS menurut Nameer (2016) memiliki 19 puncak senyawa, dimana puncak senyawa tertinggi pada puncak 4 yaitu *1,3,8-p-Menthatriene* (23.82%), kemudian *Thymoquinone* (16.21%), *4,8-Decadienal, 5,9-dimethyl* (8.12%) dan Asam oktadekadienoat (7.85%). Hasil GC-MS yang diperoleh pada minyak jintan hitam ini mempunyai puncak lebih sedikit jika dibandingkan dengan hasil GC-MS minyak jintan hitam menurut Nameer (2016) karena biji jintan hitam yang digunakan berbeda sehingga dapat mengakibatkan puncak senyawa atau kandungan senyawa didalam minyak jintan hitam berbeda. Dari kedua hasil GC-MS tersebut memiliki kandungan senyawa yang sama yaitu keduanya memiliki senyawa *Thymoquinone* dan memiliki kandungan senyawa Asam oktadekadienoat.

Senyawa *Thymoquinone* merupakan salah satu komponen aktif utama pada minyak jintan hitam, serta memiliki aktivitas sebagai antioksidan. *Thymoquinone* meleleh pada suhu 45,5 °C, mendidih pada suhu 232 °C, tidak larut dalam air, dan

memiliki berat molekul 164,2 gram/mol. Senyawa yang memiliki nama IUPAC 2-methyl-5-propan-2-ylcyclohexa-2,5-diene-1,4-dione.



Gambar 8. Struktur Thymoquinone



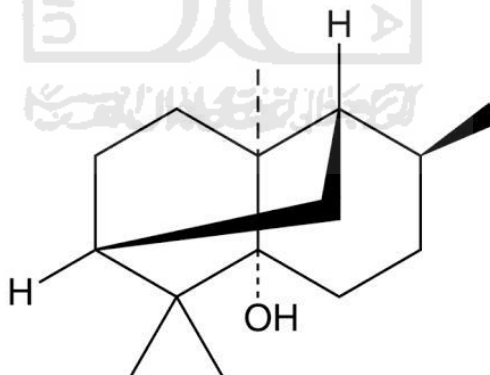
Gambar 9. Kromatogram minyak nilam

Tabel 5. Senyawa dalam minyak nilam

Puncak	R Time	Area %	Senyawa
1	12.111	2.25	<i>Pantchoulane</i>
2	12.342	1.52	<i>Cyclobuten</i>
3	12.513	1.2	<i>Alpha Sinensal</i>
4	12.952	1.17	<i>Cyclohexane</i>
5	13.058	10.52	<i>Delta-Guaiene</i>
6	15.023	3.2	<i>Delta-Guaiene</i>
7	15.262	51.54	<i>Patchouli Alcohol</i>
8	16.369	0.88	<i>Caryophyllene Oxide</i>
9	16.611	17.2	<i>Cycloprop</i>

10	16.975	1.33	<i>Cycloprop</i>
11	17.188	0.93	<i>Beta-Citronello</i>
12	17.739	4.51	<i>Veridiflorol</i>
13	21.566	1.53	Tak ditemukan
14	21.796	1.4	Tak ditemukan
15	23.879	0.83	Tak ditemukan

Hasil GC-MS pada minyak nilam yang digunakan dalam pembuatan formulasi serum *anti aging* memiliki 15 puncak senyawa, dimana puncak senyawa tertinggi pada puncak 7 yaitu senyawa *Patchouli Alcohol* (51.54%), kemudian *Cycloprop* (17,2%), *Delta-Guaiene* (10,52%), dan *Veridiflorol* (4,51%). *Patchouli alcohol* merupakan senyawa utama penyusun minyak nilam yang termasuk golongan sesquiterpen. *Patchouli alcohol* meleleh pada suhu 55-580 °C, mendidih pada suhu 2870 °C, tidak larut dalam air, larut dalam alkohol, eter, dan pelarut organik lainnya. Senyawa yang memiliki nama IUPAC (1R,4S,4aS,6R,8aS)-Octahydro-4,8a,9,9-tetramethyl-1,6-methanonaph-thalen-1(2H)-ol ini merupakan senyawa trisiklik tersier sesquiterpen alkohol (*tricyclic tertiary sesquiterpene alcohol*).



Gambar 10. Struktur Patchouli Alkohol

5.3 Hasil Pemilihan Serum Anti aging berdasarkan Uji Hedonik

Uji hedonik dilakukan oleh 40 responden dimana 20 orang yang berumur 23-50 tahun dan 20 orang yang berumur 18-22 tahun. Masing – masing responden akan diberi 16 serum *anti aging*, setiap responden akan memilih aroma, kekuatan wangi,

warna, kekentalan yang disukai dengan cara mengisi kuesioner yang telah disediakan. Kemudian dua teratas yang disukai aromanya akan diujikan ke tahap selanjutnya. Hasil uji hedonik dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Uji hedonik serum anti aging berbasis minyak jintan hitam

Serum yang paling disukai (kode)	Jumlah Menyukai kategori 1 (18-22 tahun)	Jumlah Menyukai kategori 2 (23-50 tahun)	Jumlah keseluruhan yang Menyukai
N4J3	253	258	511
N2J3	239	255	494

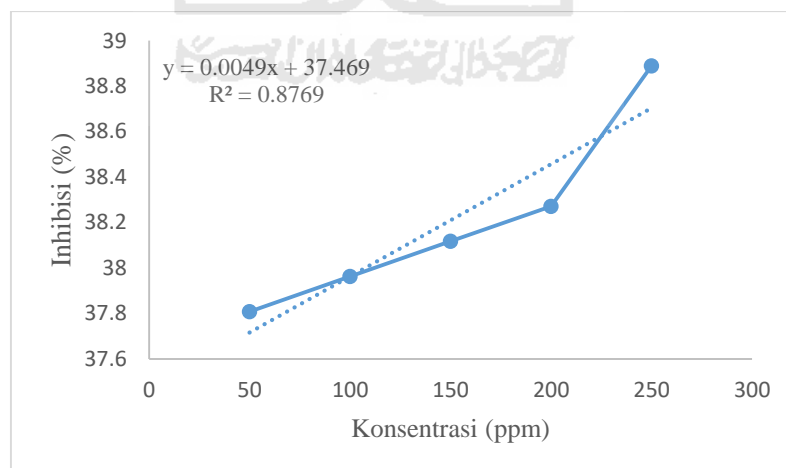
Hasil uji hedonik yang disajikan pada tabel 6 menunjukkan respon dari responden bahwa serum *anti aging* dengan kode N4J3 dan N2J3 lebih disukai oleh responden hal tersebut karena memiliki aroma jintan hitam yang dominan, kekentalan yang bagus, kekuatan wangi yang lebih *soft* dan warna serum yang lebih jernih dibandingkan dengan formulasi serum *anti aging* yang lainnya.

5.4 Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Serum *Anti aging* berbasis minyak jintan hitam

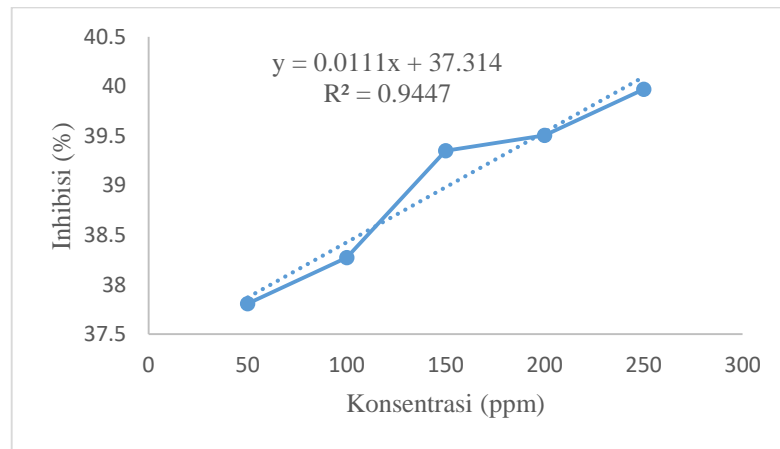
Uji aktivitas antioksidan terhadap serum *anti aging* menggunakan metode DPPH (*1,1-Diphenyl-2-Picrilhydrazyl*). Metode uji aktivitas antioksidan dengan DPPH dipilih karena sederhana, cepat dan tidak memerlukan banyak reagen (Juniarti, dkk, 2009). Metode DPPH memiliki prinsip yaitu ketika larutan DPPH yang berwarna ungu bereaksi dengan senyawa antioksidan yang terkandung dalam serum *anti aging* berbasis minyak jintan hitam maka DPPH akan tereduksi yang menyebabkan warna ungu memudar atau membentuk warna kuning serta ditandai dengan penurunan nilai absorbansi. Semakin besar konsentrasi sampel serum *anti aging* yang mengandung antioksidan maka semakin besar perubahan intensitas warna maupun penurunan nilai absorbansi.

Pada pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH didapatkan serapan tertinggi pada panjang gelombang 516 nm, sebelum dilakukan pengukuran serapan maka larutan sampel DPPH kontrol harus di inkubasi terlebih dahulu selama 30 menit yang bertujuan agar terjadi reaksi antara DPPH dengan sampel yang diuji. Larutan DPPH yang telah dibuat disimpan pada labu ukur yang dilapisi dengan *aluminium foil* dan disimpan pada tempat yang gelap bertujuan untuk menghindari kerusakan akibat terpapar sinar cahaya.

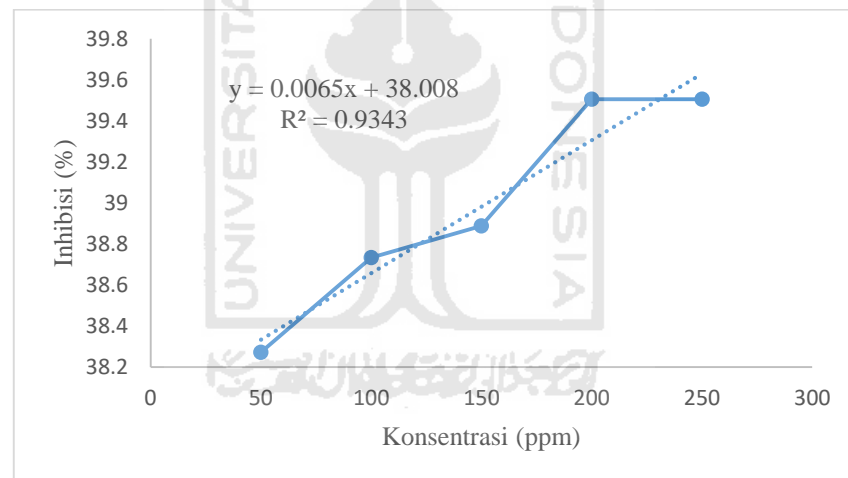
Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidasi pada 3 serum formula *anti aging* yaitu N2J3, N4J3 yang merupakan serum formula *anti aging* dari minyak jintan hitam (*cold press*), dan N4J3D yang merupakan serum formula *anti aging* dari minyak jintan hitam (distilasi) yang akan dibandingkan dengan serum komersil. Pengukuran absorbansi sampel serum formula *anti aging* dilakukan dengan beberapa seri konsentrasi yakni (50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 250 ppm) yang akan dibandingkan dengan serum komersil pada beberapa seri konsentrasi (10 ; 20 ; 30 ; 40 ; 50 ppm), kemudian diukur pada panjang gelombang 516 nm. Aktivitas antioksidan serum formula minyak jintan hitam dan serum komersil disajikan pada Gambar 11-14.



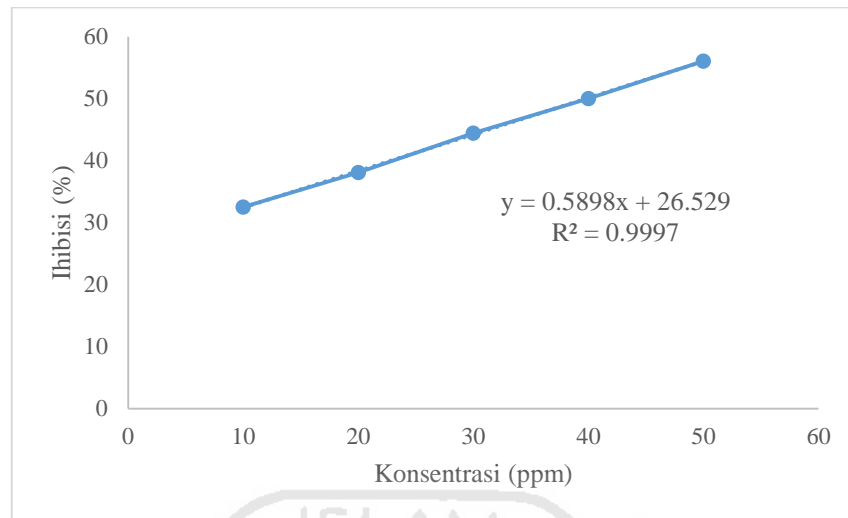
Gambar 11. Grafik hubungan antara konsentrasi vs % inhibisi radikal DPPH oleh serum formula N2J3



Gambar 12. Grafik hubungan antara konsentrasi vs % inhibisi radikal DPPH oleh serum formula N4J3



Gambar 13. Grafik hubungan antara konsentrasi vs % inhibisi radikal DPPH oleh serum formula N4J3 D



Gambar 14. Grafik hubungan antara konsentrasi vs % inhibisi radikal DPPH oleh serum komersil

Dari Gambar 11-14 dapat disimpulkan semakin tinggi konsentrasi sampel serum yang mengandung senyawa antioksidan maka akan terjadinya perubahan intensitas warna maupun penurunan nilai absorbansinya. Besarnya nilai aktivitas antioksidan ditandai dengan nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} ditentukan menggunakan persamaan regresi linier dari kurva hubungan antara konsentrasi sampel dengan % inhibisi. Perhitungan IC_{50} dapat dilihat pada lampiran 5. Pada serum formula N2J3 persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0049x + 37,931$ dengan $R^2 = 0,8769$ dan diperoleh IC_{50} 2557,346 ppm atau 2,55346 mg/mL, serum formula N4J3 persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0111x + 37,314$ dengan $R^2 = 0,9447$ dan diperoleh 1142,882 ppm atau 1,142882 mg/mL, dan serum formula N4J3D persamaan regresi linier yaitu $y = 0,0065x + 38,008$ dengan $R^2 = 0,9343$ dan diperoleh IC_{50} 1844,923 ppm atau 1,844923 mg/mL. Sedangkan persamaan regresi untuk serum komersil sebagai pembanding adalah $y = 0,5898x + 26,529$ dengan $R^2 = 0,997$ dan diperoleh IC_{50} 39,794 ppm atau 0,039794 mg/mL.

Pada penelitian ini menggunakan serum komersil yang berfungsi sebagai pembanding untuk uji aktivitas antioksidan karena serum komersil yang dipilih yaitu serum yang memiliki kandungan vitamin C serta sudah banyak diketahui memiliki potensi antioksidan.

Tabel 7. Perbandingan Nilai IC₅₀ dari formulasi serum dengan serum komersil

Sampel	IC ₅₀
Serum Formula N2J3	2557,346 ppm
Serum Formla N4J3	1142,882 ppm
Serum Formula N4J3 D	1844,923 ppm
Serum Komersil	39,794 ppm
Vitamin C	

Hasil uji aktivitas antioksidan dinyatakan dengan nilai IC₅₀, yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi serum (ppm) yang mampu meredam DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC₅₀ suatu sampel maka semakin tinggi daya aktivitas antioksidan yang dimiliki senyawa tersebut dan begitu juga sebaliknya, semakin tinggi nilai IC₅₀ suatu sampel maka semakin kecil daya aktivitas antioksidan yang dimiliki. Suatu sampel dikatakan memiliki daya antioksidan yang sangat kuat jika nilai IC₅₀ < 50 ppm, kuat jika nilai IC₅₀ 50-100 ppm, sedang nilai IC₅₀ 101-150 ppm, dan lemah nilai IC₅₀ >150 ppm. Tujuan perbandingan nilai IC₅₀ antara serum formula dengan serum komersil yaitu untuk mengetahui aktivitas antioksidan mana yang lebih kuat antara serum formula jintan hitam dengan serum komersil.

Hasil nilai IC₅₀ yang disajikan pada tabel 7. menunjukkan bahwa serum formula N2J3, N4J3 dan N4J3D memiliki aktivitas antioksidan lemah dibandingkan dengan aktivitas antioksidan yang dimiliki serum komersil. Serum komersil memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat karena memiliki nilai IC₅₀ 39,794 ppm, sedangkan serum

formula jintan hitam secara berurutan memiliki nilai IC_{50} sebesar 2557,346 ppm, 1142,882 ppm, dan 1844,923 ppm. Perbedaan nilai IC_{50} N4J3 dengan N4J3D diakibatkan karena adanya senyawa atau bahan tambahan lain di dalam sediaan serum *anti aging* tersebut sehingga mampu meningkatkan nilai IC_{50} pada sediaan serum *anti aging*. Bahan tambahan lain atau senyawa yang diduga memiliki aktivitas antioksidan yang lebih kuat dalam serum formula *anti aging* salah satunya adalah senyawa *Thymoquinone*. Menurut Azim, dkk (2014) fungsi dari *Thymoquinone* adalah sebagai antioksidan yang dapat mengurangi dampak stres oksidatif akibat radikal bebas. Sehingga dapat disimpulkan dari ketiga serum formula anti aging tersebut yang memiliki aktivitas antioksidan yang bagus ialah serum formula N4J3 yang merupakan serum formula *anti aging* dari minyak jintan hitam (*cold press*).

5.5 Uji Homogenitas pada Serum Formula

Uji homogenitas merupakan salah satu pengujian dalam menentukan stabilitas melalui pengamatan secara langsung. Pengamatan yang dilakukan meliputi ada atau tidaknya gumpalan atau endapan yang terbentuk pada larutan dan bertujuan untuk mengetahui kualitas serum formula yang sudah dibuat dan disimpan kurang lebih 3 bulan. Hasil yang diperoleh dari uji homogenitas dapat dilihat pada tabel dibawah ini.

Tabel 8. Hasil pengamatan uji homogenitas

Waktu	Suhu	Pengamatan
5 menit	23 °C	Homogen
10 menit	19 °C	Homogen
15 menit	15 °C	Homogen
20 menit	11 °C	Homogen

Hasil pengamatan uji homogenitas yang disajikan pada tabel 8 menunjukkan bahwa serum formula memiliki homogenitas yang baik, dibuktikan dengan tidak adanya pemisahan fase minyak dan endapan dalam serum formulasi tersebut.

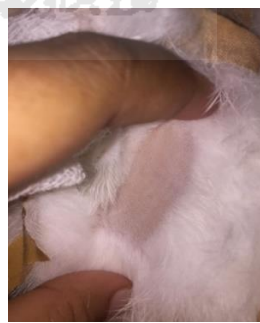
5.6 Hasil Uji Iritasi Serum Formula

Uji iritasi dilakukan untuk mengetahui efek iritasi dari sediaan serum *anti aging* setelah digunakan pada kulit, sehingga dapat diketahui tingkat keamanan sediaan *anti aging* tersebut sebelum dijual ke masyarakat. Uji iritasi dilakukan bertujuan untuk mencegah terjadinya efek samping terhadap kulit. Uji iritasi dilakukan secara *in vivo* pada kelinci percobaan. Pengamatan untuk uji iritasi dilakukan pada 24, 48, dan 72 jam setelah diberikan serum formula dengan dua parameter pengamatan, yaitu tingkat eritema (reaksi kemerahan) dan tingkat edema (bengkak). Menurut Sulaksmo (2001), pengamatan dilakukan pada 24, 48, dan 72 jam setelah perlakuan yang bertujuan untuk mengetahui kemungkinan munculnya reaksi iritasi yang tertunda, karena kulit dapat menunjukkan reaksi yang kecil atau bahkan tidak menunjukkan reaksi saat kontak pertama dengan bahan kimia. Tapi dapat ditunjukkan setelahnya oleh bahan iritan tertentu pada 24 – 72 jam setelahnya.

Eritema terlihat pada warna kemerahan di kulit dan bentuk luka yang nampak, jika ada. Ederma terlihat pada tinggi permukaan kulit yang naik atau bengkak dibandingkan dengan kulit yang normal. Hasil pengamatan setelah 24, 48, dan 72 jam disajikan pada Gambar 11-13.



Punggung kanan (N2J3)



Punggung kiri (N4J3)

Gambar 15. Hasil perlakuan selama 24 jam



Punggung kanan (N2J3)

Punggung kiri (N4J3)

Gambar 16. Hasil perlakuan selama 48 jam



Punggung kanan (N2J3)

Punggung kiri (N4J3)

Gambar 17. Hasil perlakuan selama 72 jam

Hasil data pengamatan uji iritasi pada serum formulasi selama 24, 48, dan 72 jam menunjukkan pada punggung kelinci normal, dan tidak terdapat eritema serta edema. Dapat disimpulkan bahwa serum formula (N2J3) dan (N4J3) aman untuk digunakan pada kulit.

BAB VI

KESIMPULAN dan SARAN

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Serum *anti aging* berbasis minyak jintan hitam yaitu, N2J3, N4J3 dan N4J3 D memiliki aktivitas antioksidan yang lemah. Ditunjukkan dengan nilai IC50 serum formulasi N2J3 sebesar 2557,346 ppm, IC50 N4J3 yaitu 1142,882 ppm dan IC50 N4J3 M 1844,923 ppm.
2. Formulasi serum *anti aging* yang paling disukai yaitu N2J3 dan N4J3. Pada uji iritasi, tidak terdapat eritema dan edema pada kulit kelinci hal itu menunjukkan bahwa serum anti aging berbasis minyak jintan hitam sangat aman untuk digunakan.
3. Formulasi serum *anti aging* yang paling bagus aktivitas antioksidannya yaitu pada serum *anti aging* N4J3 yang merupakan serum formula *anti aging* dari minyak jintan hitam (*cold press*) karena mengandung senyawa *Thymoquinone* yang memiliki aktivitas antioksidan.

6.2 Saran

Pada penelitian selanjutnya diharapkan dapat dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode yang lain seperti seperti i metode *Ferric reducing antioxidant power assay* (FRAP), *Thiobarbituric acid* (TBA), dan *Superoxide anion radical-scavenging activity of BHLPE*. Selain itu, juga perlu dilakukannya uji fisik terhadap serum anti aging seperti Uji Viskositas, pH , Daya Lengket, Uji Dertiminasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta, A., 2000, *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*, Penerbit ITB, Bandung.
- Allemann, I. B., & Baumann, L., 2008. *Antioxidants Used in Skin Care Formulations*, 1–8.
- Al-Saleh IA, G Billedo, II El-Doush., 2006, Levels of selenium, DL-alfatocopherol, DL-gamma-tocopherol, all-trans-retinol, thymoquinone and thymol in different brands of *Nigella Sativa* L. seeds. *J Food Comp and Anal* 19: 167-175.
- Badarinath A, Rao K, Chetty CS, Ramkanth S, Rajan T, & Gnanaprakash K., 2010, A Review on In-vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 1276-1285.
- Bandoniene, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, P.R., and Gruzdiene, D., 2002, Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and online HPLC-DPPH methods. *Europe Food Technology* 214, 143-147.
- Clark, J., 2007, Kromatografi Gas-Cair, (online), (<http://www.chem-istry.org>, diakses tanggal 5 April 2011)
- Claudia. C., Maria. G., Hanganu. D., Olah. N., Maria. F., Hammam. C., Hammam. M., 2010, Chemical Composition Of The Tunisian *Nigella Sativa*. Note I. Profile on Essential oil, *farmacia*, 2010, vol.58, 4 .
- Draelos, Z.D., 2010, *Cosmetic Dermatology Products and Procedures*. West Sussex: Willey-Blackwell
- Dachriyanus, 2004, *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Cetakan I. Padang: Andalas University Press. Hal. 39.
- Der Pharmacia Lettre, 2016, Toxicity and anti-oxidant activity of the essential oil of *Nigella sativa*, *Scholars Research Library*, 8 (15):245-24.
- Dewi, Indri K., Rusita, Y. D., 2017, Uji Stabilitas Fisik dan Hedonik Sirup Herbal Kunyit Asam, *Jurnal Kebidanan dan Kesehatan Tradisional*, 2(2): 60-115.
- El-Taher, K.E., Ashour MM, Al-Harbi MM., 1993, The respiratory effects of the volatile oil of the black seed (*Nigella sativa*) in guinea-pigs: elucidation of the mechanism(s) of action, *Gen Pharmacol* 24:1115–1122.
- Galvez, M. V., 2010, Antioxidants in photoprotection: do they really work? *Actas Dermosifiliogr*, 101, 197–200.

- Gazi, M.R., Kanda, K., Yasuda, M., and Kato, F., 2004, Optimisation of cultural conditions and some properties of radical scavenging substances from *Sporobolomyces salmonicolor*. *Journal of Biology Science* 7: 1365-1370.
- Haerani Ani, Anis Yohana Chaerunisa, Anas Subarnas, 2018, artikel tinjauan: antioksidan untuk kulit, *Farmaka*, Volume 16 Nomor 2.
- Hamid, 2010, Antioxidants: Its medicinal and pharmacological Applications. *African Journal of Pure and Applied Chemistry* Vol. 4(8), pp. 142-151.
- Hamsiah binti Halim, Achadiyani, Tjahjodjati, 2014, *Nigella sativa* Infusion as an Antioxidant Agent Against Gentamicin Induced Kidney Damaged in Mice, *Althea Medical Journal*.
- Hanani, 2005, identifikasi senyawa antioksidan dalam spons *Callispongia* sp dari kepulauan seribu, *Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. II, No.3, 127 – 133.
- Hardjono, S., 2004, *Kimia Minyak atsiri*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta, hal 2, 9-15.
- Harborne, J.B, 1996, *Metode Fitokimia*, Cetakan II, diterjemahkan oleh Kosasih Padma Winata dan Iwang Soediro, ITB Press, Bandung, 70-72.
- Hussain, A.I., F. Anwar, S.T.H. Sherazi & R. Przybylski, 2008, Chemical Composition, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Basil (*Ocimum basilicum*) Essential Oils Depends On Seasonal Variations, *Food Chemistry*, 108. 986-995.
- Irsan, M.A, Manggav, E., Pakki., Usmar., 2013, Uji Iritasi Krim Antioksidan Ekstrak Biji Lengkeng (*Euphoria longana* Stend) pada Kulit Kelinci (*Oryctolagus cuniculus*), *Majalah Farmasi dan Farmakologi*, 17(2):55– 60.
- Jain, P. K., & Agrawal, R. K., 2008, Antioxidant and Free Radical Scavenging Properties of Developed Mono- and Polyherbal Formulations, *Asian J. Exp. Sci*, 22(3), 213–220.
- Jain, S.K., Jain, N. K., 2010, No Title, *Multiparticulate Carriers for SunScreening Agents*. *Int. J. Cosmet. Sci. Jansen, R., Wang, S.Q., Burn*, 89–98.
- Javanmardi J., Stushnoff C., Locke E. and Vivanco J.M., 2003, Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions, *Food Chemistry*, 83:547-550.
- Jie, H., S. Tao, H. Jun, C. Shuangyang, C. Xiaoqiang & Z. Guolin., 2007, Chemical Composition, Cytotoxic and Antioxidant Activity of The Leaf Essential Oil of *Photinia Serrulata*, *Food Chemistry*, 103, 355-358.

- Johnny Ria, Hutapea, 1994, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Depkes RI. Halm 163-165.
- Karliawan, A, 2009, *Perubahan Senyawa Hidrokarbon Selama Proses Bioremediasi Tanah Tercemar Minyak Bumi dengan Menggunakan Kromatografi Gas Spektrofotometri Massa*, [skripsi]. Bogor: Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor.
- Kuntorini, E. M. dan Astuti, M. D., 2010, Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr.), *Sains dan Terapan Kimia*, 4 (1) 15-22.
- Kurniati, N., 2011, *Uji Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Formula Krim Mengandung Ekstrak Buah Delima (Punica Granatum L)*. Skripsi. Universitas Indonesia.
- Lai-Cheong, J. ., & McGrath, J. A., 2017, Structure and function of skin, hair and nails, *Medicine (United Kingdom)*, 45(6), 347–351.
- Lan, Z., Liu, J., Chen, L., Fu, Q., Luo, J., Qu, R. Ma, S., 2012, DangguiShaoyao-San ameliorates cognition deficits and attenuates oxidative stressrelated neuronal apoptosis in dgalactose-induced senescent mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), 386–395.
- Luetjohann S., 1998, Healing Power Of Black Cumin. USA : *Lotus Light Publications*, Halm 17-62.
- Marxen K, Vanselow KH, Lippemeier S, Hintze R., 2007, Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors*.
- Masaki, H., 2010, Role of antioxidants in the skin: anti aging effects, *Journal of Dermatological Science*, 58, 85-90.
- Maysuhara, S., 2009, *Rahasia Cantik, Sehat dan Awet Muda*, Edisi I, Yogyakarta: Pustaka Panasea.
- Mohammad, M.A., Mohamad, M.M.J., Dradka, H., 2009, Effects of black seeds (*Nigella sativa*) on spermatogenesis nd fertility of male albino rats, *Research Journal of Medicine and Medical Sciences*, 4(2):386-390.
- Molyneux, P., 2004, The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity, *Songklanakar J. Sci. Technol*, 26, 211–219.
- More, BH., Sakhawarde, SN., Tembhurne, SV., Sakarkar, DM., 2013, Evaluation for Skin Irritancy Testing of Developed Formulations Containing Extract of Butea

- Monospermafor Its Topical Application, *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology*, 3(1) : 10-13.
- Nergiz C, Otlis S., 1993, Chemical composition of *Nigella Sativa L.* seeds, *J Food Chem* 48 : 259-261.
- Noor Fitri, Ifat Fatimah, Lutfi Chabib, Febi Indah Fajarwati, 2017, Formulation Of Antiacne Serum Base On Lime Peel Essential Oil and In Vitro Antibacterial Activity Test Against *Propionibacterium Acnes*, *International Conference on Chemistry, Chemical Process and Engineering*, Published by AIP Publishing.
- Noor Md Yusoh, H., Nur Haniza Ewandi Jong, Norshila Md Isa, Normala Sulaiman, Wan Hamizah Wan Yusof., 2020, Enhancing Vitamin C Content In Phyllanthus Emblica Facial Serum Through Cold Pressed Method, *International Journal of Engineering Advanced Research* e-ISSN: 2710-7167, Vol. 1, No. 2.
- Ozcan, M.M. & Arslan D., 2011, Antioxidant Effect of Essential Oils of Rosemary, Clove and Cinnamon On Hazelnut and Poppy Oils, *Food Chemistry*, 129, 171 – 174.
- Pavlov, A., Kovatcheva, P., Georgiev, V., Kolera, I., and Ilieva, M., 2002, Biosynthesis and radical scavenging activity of betalains during the cultivation of red beet (*Beta vulgaris*) hairy root cultures. *Z. Naturforsch* 57c: 640-644.
- Prayoga G. Fraksinasi, 2013, Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Kimia dari Ekstrak Teraktif Daun Sambang Darah (*Excoecaria cochinchinensis* Lour), *Fakultas Farmasi Program Studi Sarjana Ekstensi Universitas Indonesia*.
- P, L. M., M, S., C, D., C, A., Kumar, S., & Joseph, S., 2013, International Journal of Pharmacy. *International Journal of Pharmacy*, 3(1), 59–65.
- Rafiquel Islam, Nazmul Hasan, S. A. Siddiqui, M. A. Rashid, Sk Al Zaheri Mahmud, M. Safiur Rahman and Atiqur Rahman., 2012, the black seed nigella sativa linnaeus: a study of the antioxidant activity of the essential oil and extracts., *Journal of Nature Science and Sustainable Technology*, Volume 7, Number 1.
- Rahmi, Ratih Tiasika., 2011, *Uji Aktivitas Penangkap Radikal Bebas dan Penetapan Kadar Fenolik Total Ekstrak Etanol Tiga Rimpang Genus Curcuma dan Rimpang Temu Kunci (boesenbergia pandurata)*, Skripsi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Reis Mansur, M. C. P. P., Leitão, S. G., Cerqueira-Coutinho, C., Vermelho, A. B., Silva, R. S., Presgrave, O. A. F., Santos, E. P., 2016, In vitro and in vivo evaluation of efficacy and safety of photoprotective formulations containing antioxidant extracts. *Brazilian Journal of Pharmacognosy*, 26(2), 251–258.

- Riona Desy Putri, 2017, *Formulasi Dan Evaluasi Antioksidan Serum Green Tea (Camellia Sinensis L.) Sebagai Anti Aging Dalam Sediaan Spray Gel Dengan Metode DPPH*, Skripsi, Yogyakarta.
- Sastrohamidjojo, H., 2001, *Kromatografi*, Yogyakarta: Penerbit Liberty, 26-37.
- Sastrohamidjojo, H., 2004, *Kimia Minyak Atsiri*, Yogyakarta : Gadjah Mada University Press.
- Schleiche P, Saleh M., 2000, Black Cumin: The Magical Egyptian Herb For Allergies, Asthma, And Immune Disorders, *Vermont: Inner Traditions International*. Halm 5-6.
- Shabbir, M. K., Nadeem R., Mukhtar H., Anwar F. & Mumtaz M.W., 2009, Physico-chemical analysis and determination of various chemical constituents of essential oil in Rosa centifolia, *Pakistan Journal of Botany*, 41(2), 615-620.
- Setyaningsih, Dwi, Anton Apriyantono, dan Maya Puspita Sari., 2010, *Analisis Sensori untuk Industri Pangan dan Argo*, Bogor: IPB Press.
- S. P. Sudhir, Deshmukh, V.O and Verma. H. N., 2016, Nigella sativa seed , a novel beauty care ingredient. Jaipur National University, India: *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, Vol 7 (8): 3185-3186.
- S., Shivsharan U., Raut E.S. dan Shaikh Z.M, 2014, “Packaging of Cosmetics”. *Journal od Pharmaceutical and Scientific Innovation*, h. 287.
- Trojahn, C., Dobos, G., Lichterfeld, A., Blume-Peytavi, U., & Kottner, J., 2015, Characterizing Facial Skin Ageing in Humans: Disentangling Extrinsic from Intrinsic Biological Phenomena. *BioMed Research International*, 1–9.
- Winarsi H, 2007, *Antioksidan alami dan radikal bebas potensi dan aplikasinya dalam kesehatan*. Yogyakarta. Kanisius.
- Wistar yang Dipapar Sinar Ultra Violet-B.*” (disertasi). Denpasar : Universitas Udayana.
- Wittenauer, J., Mäcke, S., Sußmann, D., Schweiggert-Weisz, U., dan Carle, R., 2015, Inhibitory Effects Of Polyphenols From Grape Pomace Extract On Collagenase And Elastase Activity, *Fitoterapia*, 101: 179– 187.
- Zainab Zahira Azzahra, Sani Ega Priani, Amila Gadri., (2017), Formulasi Sediaan Mikroemulsi Mengandung Minyak Biji Jintan Hitam (Nigella Sativa L.) Dan Minyak Zaitun (Olea Europaea L.), *Ilmiah Farmasi Farmasyifa.*, Volume 1 No 2 hal 133 – 140.

Zineb Mammad, K. Mammad, T. Aqeil, A. Kribii, and K. Ounine, 2017, Antibacterial and Antioxidant activity of *Nigella Sativa*, *International Journal of Innovation and Scientific Research*, ISSN 2351-8014 Vol. 31.



LAMPIRAN

Lampiran 1. Dokumentasi Penelitian

1.1 Preparasi Minyak Jintan Hitam



Biji Jintan Hitam



Penghalusan Biji Jintan Hitam



Alat Distilasi



Alat Press



Minyak Jintan Hitam Distilasi

Minyak Jintan Hitam *cold press*

1.2 Uji Karakterisasi Minyak Jintan Hitam

1.2.1 Bilangan Asam



Standarisasi KOH



Larutan Minyak sebelum dititrasi



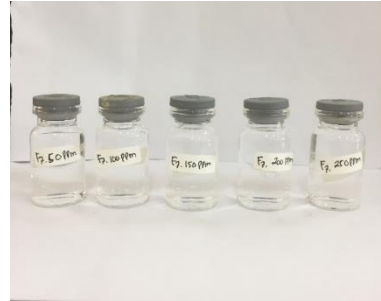
Larutan Minyak setelah dititrasi

1.5 Uji Aktivitas Antioksidan Pada Serum Formulasi dan Komersil

1.5.1 Uji Aktivitas Antioksidan Pada Serum Formulasi



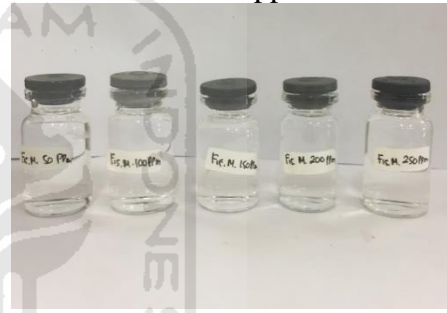
Larutan Induk 1000 ppm



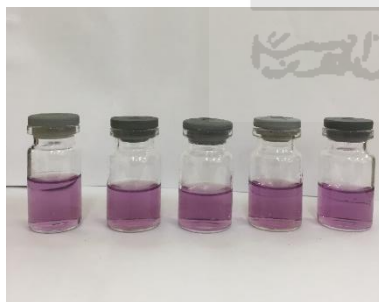
Larutan Serum F7 (N2J3)
50-250 ppm



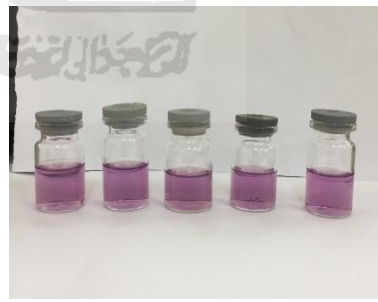
Larutan Serum F15 (N4J3)
50-250 ppm



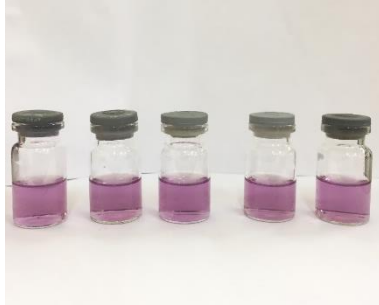
Larutan Serum F15 (N4J3) D
50-250 ppm



Larutan Serum F7 (N2J3)
50-250 ppm + DPPH 0.08 mM



Larutan Serum F15 (N4J3)
50-250 ppm + DPPH 0.08 Mm



Larutan Serum F15 (N4J3) D
50-250 ppm + DPPH 0.08 Mm

1.5.2 Uji Aktivitas Antioksidan Pada Serum Komersil



Larutan Serum Komersil 10-50 ppm

Larutan Serum Komersil 10-50 ppm
+ DPPH 0.08 Mm

1.6 Uji Iritasi pada Kelinci

1.6.1 Pengamatan setelah 24 jam



Punggung kanan (N₂J₃)



Punggung kiri (N₄J₃)

1.6.2 Pengamatan setelah 48 jam



Punggung kanan (N₂J₃)

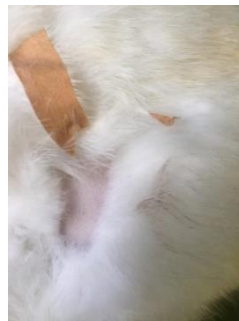


Punggung kiri (N₄J₃)

1.6.3 Pengamatan setelah 75 jam



Punggung kanan (N₂J₃)

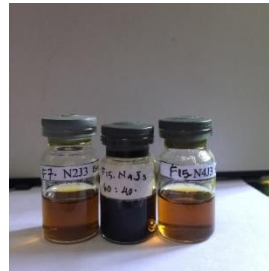


Punggung kiri (N₄J₃)

1.7 Uji Homogenitas



5 menit



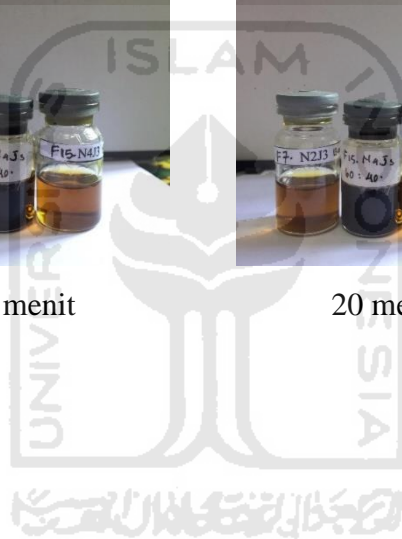
10 menit



15 menit



20 menit



Lampiran 2. Perhitungan Bilangan Asam

2.1 Pembuatan Larutan KOH 0.1 N 250 mL

$$M = \frac{n}{v} \rightarrow M = \frac{gr/Mr}{V}$$

$$\begin{aligned} \text{gram KOH} &= M \times V \times Mr \\ &= 0.1 \text{ meq/L} \times 0.25 \text{ L} \times 56.1 \text{ gr/meq} \\ &= 1.4205 \text{ gr} \rightarrow 14205 \text{ mg} \end{aligned}$$

2.2 Standarisasi KOH

2.2.1 Pembuatan Larutan Asam Oksalat 50 mL

1. Berat Equvalen

$$\begin{aligned} (BE/BJ) &= BM/\text{Valensi} \\ &= 126/2 = 63 \text{ meq/gr} \end{aligned}$$

2. Perhitungan H₂C₂O₄ .2H₂O

$$M = \frac{n}{v} \rightarrow M = \frac{\text{gram}/Mr}{V}$$

$$\begin{aligned} \text{gram KOH} &= M \times V \times Mr \\ &= 0.1 \text{ meq/L} \times 0.05 \text{ L} \times 63 \text{ gram/meq} \\ &= 0.3150 \text{ gram} \end{aligned}$$

2.2.2 Hasil Titration Standarisasi KOH

$$V_1 \text{ KOH} = 12,3 \text{ mL}$$

$$V_2 \text{ KOH} = 12,1 \text{ mL}$$

$$V_3 \text{ KOH} = 12,2 \text{ mL}$$

$$V \text{ rata}'' = 12,2 \text{ mL}$$

Jadi nilai N KOH ialah

$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$N \text{ KOH} = \frac{10 \text{ mL} \times 0,1000 \text{ N}}{12,2 \text{ mL}}$$

$$= 0,0820 \text{ N}$$

2.2.3 Penentuan Bilangan Asam

Diketahui	:	N KOH	= 0,0820 N
		Mr KOH	= 56,1 gr/mol
		n Minyak	= 1 gram
		V rata''	= 4,2 mL
Ditanya	:	Bilangan asam ?	
Jawab	:	Bil asam	= $\frac{\text{mL KOH} \times \text{N KOH} \times \text{Mr}}{\text{Berat Sampel (gr)}}$
			= $\frac{4,2 \text{ mL} \times 0,0820 \text{ N} \times 56,1}{1,000 \text{ gram}}$
			= 19,32084

Lampiran 3. Perhitungan Massa Jenis Minyak Jintan

Diketahui : Piknometer kosong : 8,423 gram

Piknometer + air : 11,571 gram

Piknometer + minyak : 11,301 gram

Ditanya : massa jenis ?

Jawab : $\rho = \frac{(\text{Berat pikno} + \text{minyak}) - (\text{Berat pikno kosong})}{(\text{Berat pikno} + \text{aquades}) - (\text{Berat pikno kosong})} \times \rho_{\text{air}}$

$$= \frac{11,301 \text{ gram} - 8,423 \text{ gram}}{11,571 \text{ gram} - 8,423 \text{ gram}} \times 1 \text{ gram/mL}$$

$$= \frac{2,878 \text{ gram}}{3,148 \text{ gram}} \times 1 \text{ gram/mL}$$

$$= 0,914 \text{ gram/mL}$$

Lampiran 4. Uji Hedonik

Serum Formula	Kategori 1 (18-22 umur)	Kategori 2 (23-50 umur)	Jumlah
N1J1	211	225	436
N1J2	233	231	464
N1J3	214	223	437
N1J4	193	211	404
N2J1	195	220	415
N2J2	234	227	461
N2J3	239	255	494
N2J4	208	227	435
N3J1	218	246	464
N3J2	223	229	452
N3J3	204	234	438
N3J4	213	226	439
N4J1	226	242	468
N4J2	210	233	443
N4J3	253	258	511
N4J4	220	241	461

Hasil terbanyak ketika dijumlah yaitu :

F15 N4J3 = Kategori 1 = 253, sedangkan kategori 2 = 258

F7 N2J3 = Kategori 1 = 239, sedangkan kategori 2 = 255

Lampiran 5. Perhitungan Uji Aktivitas Antioksidan

5.1 Pembuatan Larutan DPPH 0.08 mM

BM DPPH = 394,3 g/mol atau mg/mmol

$$M = \frac{\text{mol}}{\text{liter}} \longrightarrow 1 \text{ mM} = \frac{1 \text{ mmol}}{\text{liter}}$$

$$\text{mol} = \frac{\text{gram}}{Mr} \longrightarrow \text{mmol} = \frac{\text{mg}}{Mr}$$

$$1 \text{ mM} = \frac{\text{mg}/Mr}{\text{Liter}}$$

$$0.08 \text{ mM} = \frac{\text{mg}/394.3 \text{ mg/mmol}}{0.05 \text{ L}}$$

$$\text{mg} = 0.08 \text{ mM} \times 394.3 \text{ mg/mmol} \times 0.05 \text{ L}$$

$$= 1.577 \text{ mg}$$

Maka untuk membuat larutan DPPH 0.08 mM sebanyak 50 ml dibutuhkan DPPH sebanyak 1.577 mg.

5.2 Perhitungan pembuatan Larutan DPPH 0.04 mM (Kontrol)

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$0.08 \text{ mM} \times V_1 = 0.04 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{0.04 \text{ mM} \times 5 \text{ mL}}{0.08 \text{ mM}}$$

$$V_1 = 2.5 \text{ mL}$$

Untuk membuat 5 ml larutan dengan konsentrasi 0,04 mM maka dibutuhkan larutan DPPH 0,08 mM sebanyak 2,5 mL

5.3 Uji Aktivitas Antioksidan Serum Komersil

5.3.1 Perhitungan pembuatan larutan pembanding (serum komersial) 1000 ppm

$$1000 \text{ ppm} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL dalam } 10 \text{ mL} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL}$$

$$= 10.000 \text{ } \mu\text{g}$$

$$= 10 \text{ mg dalam } 10 \text{ mL}$$

Maka untuk membuat larutan pembanding (serum wardah) 1000 ppm sebanyak 10 ml dibutuhkan serum wardah sebanyak 10 mg.

5.3.2 Perhitungan pembuatan larutan stock pembanding (serum komersial) 100 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}}{1000 \text{ ppm}}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL}$$

Maka untuk membuat larutan pembanding (serum wardah) 100 ppm sebanyak 10 ml dibutuhkan larutan 1000 ppm sebanyak 1 mL.

5.3.3 Perhitungan pembuatan seri kadar pembanding serum komersial

Pembuatan larutan wardah dengan seri kadar 10, 20, 30, 40, 50 ppm dari larutan stok serum komersial kadar 100 ppm.

Larutan seri kadar dibuat dalam 5 mL.

1. 10 ppm
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $100 \text{ ppm} \times V1 = 10 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V1 = 0,5 \text{ mL ad } 5 \text{ mL}$
2. 20 ppm
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $100 \text{ ppm} \times V1 = 20 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V1 = 1 \text{ mL ad } 5 \text{ mL}$
3. 30 ppm
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $100 \text{ ppm} \times V1 = 30 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V1 = 1,5 \text{ mL ad } 5 \text{ mL}$
4. 40 ppm
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $100 \text{ ppm} \times V1 = 40 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V1 = 2 \text{ mL ad } 5 \text{ mL}$
5. 50 ppm
 $M1 \times V1 = M2 \times V2$
 $100 \text{ ppm} \times V1 = 50 \text{ ppm} \times 5 \text{ mL}$
 $V1 = 2.5 \text{ mL ad } 5 \text{ mL}$

5.3.4 Perhitungan % Inhibisi dan IC₅₀

Konsentrasi (ppm)	Pembacaan	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% Inhibisi	Persamaan garis dan nilai IC ₅₀
10	1	0.278	0.278	32.524	$y = 0.5898x + 26.529$ $R^2 = 0.997$ IC ₅₀ = 39.794 ppm atau
	2	0.277			
	3	0.278			
20	1	0.255	0.255	38.106	
	2	0.255			
	3	0.254			
30	1	0.299	0.229	44.417	

	2	0.299			0.039794 mg/mL DPPH Kontrol = 0.412
	3	0.299			
40	1	0.206	0.206	50	
	2	0.206			
	3	0.207			
50	1	0.181	0.181	56.067	
	2	0.181			
	3	0.181			

$$\text{Rumus \% Inhibisi} = \left(\frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \right) \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 10 ppm} = \left(\frac{0.412 - 0.278}{0.412} \right) \times 100 \% = 32.524 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 20 ppm} = \left(\frac{0.412 - 0.255}{0.412} \right) \times 100 \% = 38.106 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 30 ppm} = \left(\frac{0.412 - 0.229}{0.412} \right) \times 100 \% = 44.417 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 40 ppm} = \left(\frac{0.412 - 0.206}{0.412} \right) \times 100 \% = 50 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 50 ppm} = \left(\frac{0.412 - 0.181}{0.412} \right) \times 100 \% = 56.067 \%$$

Perhitungan IC_{50} menggunakan persamaan garis linear yang didapatkan dari memplotkan antara kadar dengan % inhibisi. Persamaan yang didapat adalah $y = 0.5898x + 26.529$ dimana x adalah nilai yang dicari ketika $y = 50$.

$$\text{Maka : } y = 0.5898x + 26.529$$

$$50 = 0.5898x + 26.529$$

$$x = \left(\frac{50 - 26.529}{0.5898} \right)$$

$$x = 39.794 \text{ ppm atau } 0.039794 \text{ mg/mL}$$

5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Serum Formulasi

5.4.1 Perhitungan pembuatan larutan serum formulasi 1000 ppm

$$\begin{aligned}
 1000 \text{ ppm} &= 1000 \text{ } \mu\text{g/mL dalam } 10 \text{ mL} = 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} \times 10 \text{ mL} \\
 &= 10.000 \text{ } \mu\text{g} \\
 &= 10 \text{ mg dalam } 10 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Maka untuk membuat larutan pembanding (serum wardah) 1000 ppm sebanyak 10 ml dibutuhkan serum wardah sebanyak 10 mg.

5.4.2 Perhitungan pembuatan seri kadar pembanding serum formulasi

Pembuatan larutan wardah dengan seri kadar 50, 100, 150, 200, 250 ppm dari larutan stok serum komersial kadar 1000 ppm.

Larutan seri kadar dibuat dalam 10 mL.

1. 50 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 50 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ mL ad } 10 \text{ mL}$$

2. 100 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 100 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1 \text{ mL ad } 10 \text{ mL}$$

3. 150 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 150 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 1,5 \text{ mL ad } 10 \text{ mL}$$

4. 200 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \text{ ppm} \times V_1 = 200 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2 \text{ mL ad } 10 \text{ mL}$$

5. 250 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$1000 \times V_1 = 250 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 2.5 \text{ mL ad } 10 \text{ mL}$$

5.3.4 Perhitungan % Inhibisi dan IC₅₀

5.3.4.1 Serum Formulasi 7 (N2J3)

Konsentrasi (ppm)	Pembacaan	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% Inhibisi	Persamaan garis dan nilai IC ₅₀
50	1	0.403	0.403	37.808	$y = 0.0049x + 37.931$ $R^2 = 0.8769$ IC ₅₀ = 2557.346 atau 2.55346 mg/mL DPPH Kontrol = 0.648
	2	0.403			
	3	0.403			
100	1	0.402	0.402	37.962	
	2	0.403			
	3	0.402			
150	1	0.402	0.401	38.117	
	2	0.402			
	3	0.401			
200	1	0.401	0.4	38.271	
	2	0.4			
	3	0.401			
250	1	0.397	0.396	38.888	
	2	0.396			
	3	0.396			

$$\text{Rumus \% Inhibisi} = \left(\frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \right) \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi } 50 \text{ ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.403}{0.648} \right) \times 100 \% = 37.808 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi } 100 \text{ ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.402}{0.648} \right) \times 100 \% = 37.962 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 150 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.401}{0.648} \right) \times 100 \% = 38.117 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 200 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.400}{0.648} \right) \times 100 \% = 38.271 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 250 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.396}{0.648} \right) \times 100 \% = 38.888 \%$$

Perhitungan IC_{50} menggunakan persamaan garis linear yang didapatkan dari memplotkan antara kadar dengan % inhibisi. Persamaan yang didapat adalah $y = 0.0049x + 37.931$ dimana x adalah nilai yang dicari ketika $y = 50$.

$$\text{Maka : } y = 0.0049x + 37.931$$

$$50 = 0.0049x + 37.931$$

$$x = \left(\frac{50 - 37.931}{0.0049} \right)$$

$$x = 2557.346 \text{ ppm atau } 2.55346 \text{ mg/mL}$$

5.3.4.2 Serum Formulasi 15 (N4J3)

Konsentrasi (ppm)	Pembacaan	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% Inhibisi	Persamaan garis dan nilai IC_{50}
50	1	0.404	0.403	37.808	$y = 0.0111x + 37.314$ $R^2 = 0.9447$ $IC_{50} = 1142.882$ ppm atau 1.142882 mg/mL DPPH Kontrol = 0.648
	2	0.403			
	3	0.403			
100	1	0.4	0.4	38.271	
	2	0.4			
	3	0.399			
150	1	0.394	0.393	39.351	
	2	0.393			
	3	0.393			
200	1	0.392	0.392	39.506	
	2	0.392			
	3	0.392			
250	1	0.389	0.389	39.969	
	2	0.389			
	3	0.389			

$$\text{Rumus \% Inhibisi} = \left(\frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \right) \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 50 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.403}{0.648} \right) \times 100 \% = 37.808 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 100 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.400}{0.648} \right) \times 100 \% = 38.271 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 150 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.393}{0.648} \right) \times 100 \% = 39.351 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 200 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.392}{0.648} \right) \times 100 \% = 39.506 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 250 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.389}{0.648} \right) \times 100 \% = 39.969 \%$$

Perhitungan IC_{50} menggunakan persamaan garis linear yang didapatkan dari memplotkan antara kadar dengan % inhibisi. Persamaan yang didapat adalah $y = 0.0111x + 37.314$ dimana x adalah nilai yang dicari ketika $y = 50$.

$$\text{Maka : } y = 0.0111x + 37.314$$

$$50 = 0.0111x + 37.314$$

$$x = \left(\frac{50 - 37.314}{0.0049} \right)$$

$$x = 1142.882 \text{ ppm atau } 1.142882 \text{ mg/mL}$$

5.3.4.3 Serum Formulasi 15 (N4J3 D)

Konsentrasi (ppm)	Pembacaan	Absorbansi	Rata-rata absorbansi	% Inhibisi	Persamaan garis dan nilai IC_{50}
50	1	0.4	0.4	38.271	$y = 0.0065x + 38.008$ $R^2 = 0.9343$ $IC_{50} = 1844.923$ atau 1.844923 mg/mL
	2	0.4			
	3	0.4			
100	1	0.397	0.397	38.734	
	2	0.397			
	3	0.398			
150	1	0.396	0.396	38.888	
	2	0.396			

	3	0.396			DPPH Kontrol = 0.648
200	1	0.392	0.392	39.506	
	2	0.392			
	3	0.393			
250	1	0.39	0.389	39.969	
	2	0.389			
	3	0.389			

$$\text{Rumus \% Inhibisi} = \left(\frac{\text{Absorbansi Kontrol} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi Kontrol}} \right) \times 100 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 50 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.400}{0.648} \right) \times 100 \% = 38.271 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 100 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.397}{0.648} \right) \times 100 \% = 38.734 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 150 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.396}{0.648} \right) \times 100 \% = 38.888 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 200 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.392}{0.648} \right) \times 100 \% = 39.506 \%$$

$$\% \text{ Inhibisi 250 ppm} = \left(\frac{0.648 - 0.389}{0.648} \right) \times 100 \% = 39.969 \%$$

Perhitungan IC_{50} menggunakan persamaan garis linear yang didapatkan dari memplotkan antara kadar dengan % inhibisi. Persamaan yang didapat adalah $y = 0.0065x + 38.008$ dimana x adalah nilai yang dicari ketika $y = 50$.

$$\text{Maka : } y = 0.0065x + 38.008$$

$$50 = 0.0065x + 38.008$$

$$x = \left(\frac{50 - 38.008}{0.0065} \right)$$

$$x = 1844.923 \text{ ppm atau } 1.844923 \text{ mg/mL}$$