

FORMULASI DAN UJI ANTIOKSIDAN SERUM MINYAK ATSIRI KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) MENGGUNAKAN VITAMIN E METODE DPPH

Tabita Rahmavika¹, Happy Elda Murdiana^{2*}, Ellsya Angeline Rawar²

¹Mahasiswa Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Kristen Immanuel, Jl. Solo, Km. 11.1, Yogyakarta, Indonesia, 55571

²Dosen Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Kristen Immanuel, Jl. Solo, Km. 11.1, Yogyakarta, Indonesia, 55571

*Korespondensi: happy@ukrimuniversity.ac.id

ABSTRAK

Aktivitas antioksidan minyak atsiri kulit buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat mengatasi penuaan dini pada kulit. Formulasi serum *antiaging* yang biasa dipasarkan sering ditambahkan vitamin E sebagai pengawet sediaan dan penambah aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk membandingkan efek antioksidan minyak atsiri kulit jeruk nipis dengan formula yang lazim dipasarkan dengan metode DPPH, mengetahui profil standar sediaan dan uji *hedonic* setiap formula. Metode destilasi uap digunakan untuk mengekstrak minyak atsiri kulit jeruk nipis, Tiga formula serum antioksidan diformulasikan dengan basis karbomer 1%, dengan variasi konsentrasi vitamin E yaitu 1% (F1), 3% (F3), dan 5% (F3). Uji organoleptis semua formula menunjukkan sediaan berwarna putih jernih, aroma jeruk nipis, dan terbentuk tekstur nanopartikel. Uji pH semua formula memenuhi syarat (4,5-8,0) yaitu 8. Semua formula serum memenuhi persyaratan uji viskositas, daya sebar, dan daya lekat yang baik serta menunjukkan serum tipe M/A. Penambahan variasi konsentrasi vitamin E dalam formula serum dapat menurunkan nilai IC₅₀ yaitu pada konsentrasi 5% sebesar 226,46 ppm. Formula sediaan serum sesuai standar dengan variasi konsentrasi vitamin E mempengaruhi aktivitas antioksidan, semakin tinggi konsentrasi vitamin E semakin baik nilai IC₅₀-nya.

Kata kunci: *anti-aging*, minyak atsiri kulit jeruk nipis, metode DPPH, serum antioksidan, vitamin E

ABSTRACT

The essential oil of lime peel (*Citrus aurantifolia*) has activity as an antioxidant which can overcome skin ageing. Common *antiaging* serum formulations on the market often add vitamin E, a preservative that enhances antioxidant activity. This study aims to compare the antioxidant effect of lime peel essential oil with formulas commonly on the market using the DPPH method to determine the standard profile of the preparation and the hedonic test for each formula. Lime peel essential oil was obtained using the steam distillation method. Three antioxidant serum formulas were formulated on a 1% carbomer base, with varying concentrations of vitamin E, namely 1% (F1), 3% (F3), and 5% (F3). The organoleptic test results stated that all formulas had the same characteristics: a clear white colour, lime aroma, and nanoparticle texture. The pH test of all formulas meets the requirements (4.5-8.0), namely 8. All serum formulas meet the requirements for good viscosity, spreadability and adhesion tests and indicate O/A type serum. Adding variations in the concentration of vitamin E in the serum formula can reduce the IC₅₀ value, namely at a 5% concentration of 226.46 ppm. The serum preparation formula conforms to standards with variations in vitamin E concentration affecting antioxidant activity, the higher the vitamin E concentration, the better the IC₅₀ value.

Keywords: *anti-aging*, lime peel essential oil, DPPH method, antioxidant serum, vitamin E

PENDAHULUAN

Paparan berlebihan terhadap sinar UV memiliki efek negatif pada kesehatan kulit. Sinar UV-A dengan panjang gelombang 315-400 nm mempunyai efek negatif pada kulit yaitu merusak jaringan ikat, kolagen, dan elastin saat menembus kulit dibandingkan sinar UV-B (Isfardiyanah *et al.*, 2014).

Sinar UV bersifat oksidatif karena dapat menghasilkan senyawa radikal bebas. Produksi yang berlebihan dari radikal bebas ini dapat mengganggu keseimbangan antara sistem antioksidan dan oksidan, sehingga dapat menyebabkan stres oksidatif dan merusak sel, termasuk dapat menyebabkan penuaan dini (Pizzino *et al.*, 2017). Untuk mengatasi penuaan dini, salah satu cara yaitu dengan menggunakan antioksidan. Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) mengandung flavonoid. Flavonoid merupakan antioksidan yang dapat menghambat radikal bebas dari paparan sinar UV (Khasanah *et al.*, 2014). Penelitian Nurisyah *et al.*, (2020) menyatakan bahwa konsentrasi ekstrak kulit jeruk nipis sebesar 9% memperoleh hasil nilai IC₅₀ sebesar 14,80 ppm dengan kategori sangat kuat. Kategori antioksidan yaitu sangat kuat (<50 ppm), kuat (50-100 ppm), sedang (100-150

ppm), lemah (150-200 ppm), dan sangat lemah (200 ppm) (Susiloningrum *et al.*, 2021).

Serum dalam penelitian ini merupakan sediaan berbasis gel dengan tingkat konsentrasi yang tinggi, sehingga memiliki kemampuan untuk melindungi kulit dari radikal bebas dengan efektif, karena mengandung lebih banyak zat aktif yang dapat memberikan nutrisi dan perawatan kulit yang optimal (Pratiwi *et al.*, 2021). Antioksidan lain seperti *butylated hydroxyanisole* (BHA) dan *butylated hydroxytoluene* (BHT) yang sering digunakan dalam produk kosmetik memiliki potensi efek yang merugikan. Penggunaan BHA dan BHT dapat menimbulkan resiko alergi kulit, dan merangsang perkembangan tumor (bersifat karsinogenik) jika digunakan dalam jangka lama dengan dosis dosis berlebih. Dalam penelitian ini, vitamin E digunakan sebagai alternatif antioksidan. Pemilihan vitamin E dalam penelitian ini yaitu karena tingkat resiko efek samping yang lebih rendah. (Keen *et al.*, 2016). Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kesesuaian formulasi serum dari minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) variasi konsentrasi vitamin E dengan profil sediaan standar serta efektivitas antioksidannya menggunakan metode DPPH.

Biologi Universitas Gadjah Mada. Sampel tersebut kemudian dilakukan beberapa tahap perlakuan yaitu tahap pencucian, penyortiran basah, dan pemisahan antara kulit dan daging buah jeruk. Selanjutnya, buah jeruk tersebut dipotong menjadi potongan-potongan kecil dengan diameter sekitar 1 cm.

Preparasi Sampel Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Destilasi uap digunakan untuk mengekstrak minyak atsiri kulit jeruk nipis. Sebanyak 8,8 kg kulit jeruk nipis segar yang telah potong-potong kecil dimasukkan ke dalam tabung destilasi uap. Campuran air dan minyak yang terkandung dalam botol vial ditempatkan dalam erlenmeyer, kemudian dipisahkan secara perlahan. Minyak yang dihasilkan selanjutnya disimpan dalam botol vial kedap udara. Perhitungan rendemen dan massa minyak atsiri yang dihasilkan dari kulit jeruk nipis dihitung menggunakan rumus (Latifah *et al.*, 2023) :

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{\text{berat minyak atsiri (g)}}{\text{berat kulit jeruk segar (g)}} \times 100\%$$

$$\text{Massa Jenis} = 1 + \frac{\text{masa minyak (g)}}{\text{volume minyak (mL)}}$$

METODE PENELITIAN

Bahan

Penelitian ini menggunakan kulit jeruk nipis segar, minyak atsiri kulit jeruk nipis, standar vitamin E (Sigma Aldrich), nipagin (Bratachem), nipasol (Bratachem), akuades (Bratachem), bahan baku vitamin E (Alfa tokoferol), 1,1-difenil-2-pikrihidrazil (DPPH) (Merck), gliserin (Bratachem), karbomer (Bratachem), TEA (Bratachem), dan etanol pro analisis (Merck).

Alat

Penelitian ini menggunakan alat destilasi uap; botol serum; gelas beaker (Pyrex); labu ukur (Pyrex); pipet tetes; alat alat gelas (Pyrex); viskometer (Brookfield); kertas pH universal; *object glass*; timbangan analitik (Ohaus); vortex (B-One); mikropipet (Eppendorf); peralatan uji daya lekat, peralatan uji daya lekat, spektrofotometer UV-Vis (B-One), kuvet, ayakan 40 mesh, dan mikroskop.

Metode

Pemilihan Sampel

Buah jeruk nipis diambil dari Perkebunan Jeruk di Kabupaten Bantul, Yogyakarta. Determinasi tanaman untuk memastikan kebenaran sampel uji dilakukan di Laboratorium Struktur dan Perkembangan Tumbuhan (SPT) Fakultas

Formulasi Serum

Formulasi pada penelitian ini merupakan modifikasi ringan dari penelitian yang dilakukan oleh Tsabitah *et al.*, (2020). Formulasi serum minyak atsiri kulit jeruk nipis dibuat dalam tiga formula (dapat dilihat pada Tabel 1). Perbedaan ketiga formulasi terletak pada konsentrasi vitamin E. Ditimbang masing-masing bahan kemudian serum dibuat dengan cara karbomer

dimasukkan ke dalam gelas beaker, ditambahkan akuades dan TEA, lalu dihomogenkan. Sebagai pengawet ditambahkan nipagin dan nipasol kedalam cawan porselin bersama gliserin, dan dihomogenkan. Formula campuran basis (i) dan pengawet dalam cawan (ii) dicampur secara homogen dan dimasukkan minyak atsiri kulit jeruk nipis dan vitamin E lalu ditambahkan akuades ad 100 mL.

Tabel 1. Formula Serum Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Variasi Vitamin E

Nama Bahan	Komposisi	Formula 1 (%)	Formula 2 (%)	Formula 3 (%)	Fungsi Bahan
Minyak atsiri kulit jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	10-20%	10	10	10	Zat aktif
Karbomer	0,5-2%	1	1	1	<i>Gelling agent</i>
Trietanolamin (TEA)	2-4%	2	2	2	Pengemulsi dan <i>alkalizing agent</i>
Nipagin	0,02-0,3%	0,3	0,3	0,3	Pengawet
Nipasol	0,01-0,6%	0,6	0,6	0,6	Pengawet
Vitamin E	1-5%	1	3	5	Antioksidan
Gliserin	>30%	45	45	45	Humektan dan <i>emollient</i>
Akuades	Ad 100%	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Ad 100 mL	Pelarut

Uji Sifat Fisik Serum

Uji sifat fisik serum berupa uji organoleptis, pH, homogenitas, viskositas, daya sebar, daya lekat, dan tipe emulsi.

Uji Organoleptis

Pengujian organoleptis mencakup evaluasi tekstur (untuk menggambarkan sensasi kenyamanan sediaan), penilaian warna (untuk menggambarkan tampilan visual sediaan), dan penilaian aroma (untuk menggambarkan karakteristik bau sediaan) dari serum. Ini bertujuan untuk menentukan keadaan fisik dari serum (Astuti, 2020).

Uji Nilai pH

Prosedur pengukuran ini menggunakan 1 strip kertas pH universal yang dicelupkan ke dalam sediaan selama kurang lebih 5 detik. Setelah itu, strip tersebut diangkat, dan perubahan warnanya segera dibandingkan dengan tabel warna yang terdapat di dalam kemasan. Melalui pengukuran nilai pH ini, kita dapat menentukan apakah serum yang dihasilkan bersifat asam atau basa.

Rentang pH normal kulit biasanya berkisar antara 5,0 hingga 6,8. Menurut standar SNI 16-4399-1996, rentang pH yang masih dapat diterima oleh kulit adalah antara 4,5 hingga 8 (Astuti, 2020)

Uji Homogenitas

Homogenitas suatu sediaan serum diuji pada tiga lokasi sampling yang berbeda di atas objek kaca, lalu menutupnya dengan objek kaca lainnya. Sediaan serum dianggap homogen jika tidak terdapat partikel kasar yang terlihat (Khasanah *et al.*, 2014).

Uji Viskositas

Viskositas sediaan diuji dengan memasukkan sediaan serum ke dalam viskometer menggunakan spindle nomor 2 dan membaca viskositasnya dengan menggunakan rotor berputar pada kecepatan 30 rpm. Kondisi viskositas yang dianggap optimal untuk sediaan serum adalah berkisar antara 800 hingga 2000 mPas (Ermawati *et al.*, 2022).

Uji Daya Sebar

Sejumlah 0,5 gram serum ditempatkan di tengah kaca bundar yang memiliki skala. Kaca lainnya ditempatkan di atasnya dan diberi beban, kemudian dibiarkan selama 1 menit. Pengukuran diameter penyebaran sediaan sepanjang dan melintang dilakukan setiap kali ditambahkan beban sebanyak 50 gram, hingga mencapai total beban 150 gram (Murdiana *et al.*, 2022).

Uji Daya Lekat

Sebanyak 0,5 gram sediaan ditempatkan di antara dua objek kaca dan diberi beban seberat 1 kg, dibiarkan selama 5 menit. Pengukuran daya lekatnya dilakukan dengan mengamati waktu yang dibutuhkan hingga kedua objek kaca terlepas. Standar daya lekat sediaan yang ideal adalah lebih dari 4 detik (Khasanah *et al.*, 2014).

Uji Tipe Emulsi

Serum dioleskan tipis dan merata pada objek kaca, lalu diteteskan menggunakan *methylene blue* kemudian diperiksa di bawah mikroskop dengan peningkatan perbesaran yang sesuai. Tipe M/A akan dominan berwarna biru dari hasil pewarnaan *methylene blue* yang mengelilingi fase minyak (Murdiana *et al.*, 2022).

Uji Hedonik

Pengujian ini bertujuan untuk mengukur preferensi sebanyak 50 responden terhadap tiga formula serum minyak atsiri jeruk nipis, yang mencakup penilaian terhadap tekstur, warna, dan aroma. Penilaian dilakukan dengan menggunakan skala nilai. Angka 1 (tidak suka), angka 2 (sedikit suka), angka 3 (suka), dan angka 4 (sangat suka) (Mayangsari *et al.*, 2022).

Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan pada minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) ini merupakan modifikasi ringan dari penelitian yang dilakukan oleh Ismiyatun *et al.*, (2014). Untuk membuat larutan referensi DPPH, digunakan 2 mg serbuk DPPH yang dilarutkan dalam 50 mL etanol p.a. Selanjutnya, panjang gelombang maksimal (λ)

Uji Aktivitas Antioksidan Serum Metode DPPH Standar Vitamin C

Uji aktivitas antioksidan pada serum dengan menggunakan metode DPPH, yang menggunakan vitamin C sebagai standar, mengikuti penelitian yang sedikit dimodifikasi dari penelitian yang dilakukan oleh Lung *et al.*,

dari larutan DPPH ditentukan dengan mengukur 4 mL larutan DPPH pada spektrofotometer pada panjang gelombang 516 nm. Kemudian, aktivitas antioksidan diuji menggunakan metode DPPH. Langkahnya adalah mengambil 4 mL larutan DPPH dan memasukkannya ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya, ditambahkan 4 mL minyak atsiri kulit buah jeruk nipis dengan berbagai konsentrasi. Tabung reaksi kemudian di vortex selama 2 menit untuk mencampurkan dengan baik, lalu dibiarkan diam selama 30 menit dalam kondisi gelap. Hasilnya diukur dengan mengukur absorbansi pada panjang gelombang maksimal yaitu 516 nm.

Uji Aktivitas Antioksidan Serum Metode DPPH Standar Vitamin E

Uji aktivitas antioksidan pada serum standar vitamin E ini merupakan modifikasi ringan dari penelitian yang dilakukan oleh Astri (2020). Untuk membuat larutan DPPH, 1,57 mg serbuk DPPH diencerkan dengan 50 mL etanol pro analisis. Larutan disimpan dalam ruang terlindung cahaya agar tidak rusak. Panjang gelombang maksimum DPPH ditentukan dengan mengambil 5 mL larutan, memasukkannya dalam labu ukur 5 mL, dan menginkubasinya pada suhu kamar selama sekitar 30 menit. Kemudian, absorbansinya diamati pada panjang gelombang maksimum 516 nm. Larutan kontrol dibuat dengan mengambil 2 mL etanol p.a dan mencampurkannya dengan 2 mL larutan DPPH. Absorbansi larutan ini dibaca tiga kali pada panjang gelombang maksimum. Untuk membuat larutan induk vitamin E, 5 mg serbuk vitamin E diencerkan dalam 100 mL etanol p.a dalam labu ukur 100 mL. Pengukuran aktivitas peredaman radikal bebas dari serum formula dilakukan dengan cara mengambil 5 mL larutan sampel dari masing-masing tiga serum formula yang berbeda dalam berbagai konsentrasi, yaitu 1; 1,25; 1,5; 1,75; dan 2 ppm. Setiap 1 mL dari larutan tersebut dicampur dengan 2 mL larutan DPPH. Campuran ini kemudian dihomogenkan dan diinkubasikan pada suhu kamar dalam keadaan gelap selama sekitar 30 menit. Pengukuran pada panjang gelombang 516 nm dengan 3 kali replikasi.

(2018). Serum yang mengandung minyak atsiri kulit jeruk nipis diencerkan dalam etanol p.a dan disiapkan dalam berbagai konsentrasi, yaitu 1; 1,25; 1,5; 1,75; dan 2 ppm, masing-masing sebanyak 4 mL. Setiap larutan serum tersebut ditambahkan dengan 1 mL larutan DPPH 0,4 mM, dan kemudian diinkubasi selama 30 menit. Setelah itu, absorbansi larutan diukur pada

panjang gelombang 516 nm. Untuk nilai blanko, digunakan etanol p.a dan larutan DPPH 0,4 mM. Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pembacaan untuk setiap sampel. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan serum dengan menggunakan metode DPPH, dengan membandingkannya dengan standar vitamin C.

Analisis Data

Analisis Data Pengujian Sifat Fisik Serum

Data dianalisis berdasarkan parameter uji dari beberapa sumber literatur sebagai berikut:

Tabel 2. Parameter Uji Evaluasi Sediaan

Nama Uji	Parameter	Sumber Literatur
Organoleptis	warna : jernih, aroma : jeruk nipis, dan tekstur : kental	(Astuti, 2020)
pH	4,5-8,0	(Shaw, 2004)
Homogenitas	Tidak terdapat partikel-partikel kecil dan butiran kasar	(Khasanah <i>et al.</i> , 2014)
Daya lekat	5-7 cm	(Murdiana <i>et al.</i> , 2022)
Daya sebar	>4 detik	(Khasanah <i>et al.</i> , 2014)
Viskositas	800-2000 mPas	(Ermawati <i>et al.</i> , 2022)
Tipe emulsi	M/A	(Murdiana <i>et al.</i> , 2022)

Analisis Data Uji Hedonik

Metode uji hedonik atau uji kesukaan digunakan untuk membandingkan kualitas beberapa produk sejenis dengan memberikan penilaian terhadap karakteristik tertentu dari produk tersebut. Dalam penelitian ini, sebanyak 50 panelis yang tidak memiliki pelatihan khusus terlibat dalam penilaian. Panelis secara sukarela diminta memberi penilaian terhadap aroma, warna, dan tekstur dari tiga formulasi produk yang disebut sebagai F1, F2, dan F3. Skala penilaian yang digunakan adalah angka 1 (tidak suka), angka 2 (sedikit suka), angka 3 (suka), dan angka 4 (sangat suka) (Mayangsari *et al.*, 2022). Sebelum melakukan analisis lebih lanjut, akan dilakukan uji normalitas untuk menentukan apakah data terdistribusi secara normal atau tidak. Jika data terdistribusi normal, maka analisis akan dilanjutkan dengan uji T tidak berpasangan. Namun, jika data tidak terdistribusi normal, maka uji *Mann-Whitney* akan digunakan untuk menilai apakah ada perbedaan yang signifikan secara statistik antara kelompok penelitian. Pengujian statistik dalam penelitian ini akan menggunakan tingkat

kepercayaan 95%. Kriteria inklusi untuk menjadi panelis dalam penelitian ini adalah bahwa mereka harus bersedia menjadi panelis, tidak boleh merokok, tidak boleh menggunakan parfum selama pengujian, dan harus dalam kondisi kesehatan mental dan fisik yang baik (tidak memiliki gangguan penciuman, gangguan psikis, atau buta warna) (Mayangsari *et al.*, 2022).

Analisis Data Uji Antioksidan Metode DPPH

Data dianalisis berdasarkan hasil perhitungan rumus regresi linear yaitu $y=ax+b$. Perhitungan data pada rumus regresi linear mengacu kepada nilai presentase penghambatan sebagai y dan konsentrasi larutan sebagai x . Dapat diketahui aktivitas antioksidan sampel oleh besarnya hambatan serapan radikal DPPH melalui perhitungan presentase inhibisi serapan DPPH dengan menggunakan rumus sebagai berikut (Khasanah *et al.*, 2014) :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Keterangan:

Absorbansi blanko = absorbansi kontrol

Absorbansi sampel = absorbansi senyawa uji

Data dianalisis berdasarkan hasil perhitungan rumus regresi linear yaitu $y=ax+b$. Perhitungan data pada rumus regresi linear mengacu kepada nilai presentase penghambatan sebagai y dan konsentrasi larutan sebagai x , dengan rumus:

$$y = ax + b$$

$$x(IC_{50}) = \frac{y - b}{a}$$

Keterangan:

y = % inhibisi

x = konsentrasi sampel

a = slope

b = intersept

Aktivitas antioksidan diukur menggunakan IC_{50} (*Inhibition Concentration 50%*). IC_{50} adalah parameter yang mengindikasikan konsentrasi ekstrak yang dapat menghambat aktivitas suatu radikal sekitar 50%. Perhitungan nilai IC_{50} untuk setiap konsentrasi sampel dilakukan dengan menggunakan rumus persamaan regresi linier, yang menggambarkan relasi antara konsentrasi larutan (dinyatakan pada sumbu x) dan tingkat inhibisi (dinyatakan pada sumbu y). Klasifikasi aktivitas antioksidan sebagai berikut : sangat kuat (<50 ppm), kuat (50-100 ppm), sedang (100-150 ppm), lemah (150-200 ppm), dan sangat lemah (200 ppm) (*Kamoda et al.*, 2021).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi tanaman dengan nomor No. 0355/S.Tb./VII/2023 menunjukkan bahwa sampel yang digunakan benar merupakan

tanaman jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Rendemen minyak atsiri dari kulit buah jeruk nipis sebesar 38,5 mL (0,96% b/b). Massa jenis minyak atsiri 0,63 gr/mL dengan hasil berwarna putih jernih dengan aroma khas jeruk yang tajam.

Formula serum mengandung minyak atsiri kulit jeruk nipis sebagai bahan aktif, karbomer sebagai basis serum dan *gelling-agent* pada fase minyak. Emulgator fase air digunakan TEA. Alasan pemilihan karbomer adalah karena kemampuannya larut dengan mudah dalam air dengan hanya menggunakan konsentrasi kecil. Selain itu, gliserin digunakan untuk memperbaiki sifat karbomer jika terjadi pengikatan obat yang terlalu kuat dengan meningkatkan kelarutan bahan obat. Obat akan lebih mudah terlepas dari basisnya jika kelarutannya lebih baik, sehingga meningkatkan efektifitasnya. TEA berfungsi untuk memberikan suasana basa pada karbomer, sehingga menghasilkan serum yang memiliki tekstur kental dan jernih (*Murdiana et al.*, 2022). Nipagin berfungsi sebagai pengawet pada fase minyak dan nipasol berfungsi sebagai pengawet pada fase air.

Pengujian Sifat Mutu Fisik Sediaan

Hasil uji mutu fisik serum keseluruhan dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Mutu Fisik Sediaan Serum Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Variasi Vitamin E

Nama Uji	Formula			Parameter
	F1	F2	F3	
Organoleptis	warna : putih jernih, aroma : jeruk nipis, tekstur : nanopartikel	warna : putih jernih, aroma : jeruk nipis, tekstur : nanopartikel	warna : putih jernih, aroma : jeruk nipis, tekstur : nanopartikel	warna : jernih, aroma : jeruk nipis, tekstur : kental
Nilai pH	8	8	8	4,5-8,0
Daya sebar (cm)	5,6	5,8	5,9	5-7 cm
Daya lekat (detik)	5;20	5;99	7;11	>4 detik
Tipe emulsi	M/A	M/A	M/A	M/A
Viskositas (mPas)	800	1000	1200	800-2000 mPas




Berdasarkan uji fisik yang dilakukan dalam pembuatan serum menggunakan 10% bahan aktif minyak atsiri kulit jeruk nipis sebagai zat aktif dengan variasi vitamin E dan TEA berfungsi sebagai *alkalizing agent*. Hasil

menunjukkan bahwa uji organoleptis dari semua formula berwarna putih jernih, mempunyai aroma jeruk nipis yang tajam, dan membentuk nanopartikel.

Uji homogenitas serum bertujuan untuk melihat ketercampuran bahan yang digunakan. Pada uji homogenitas terlihat semua formula menunjukkan sediaan yang

membentuk nanopartikel. Hasil uji homogenitas dapat dilihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Homogenitas Sediaan

Formula	Homogenitas Sediaan	Foto
F1	Terbentuk nanopartikel	
F2	Terbentuk nanopartikel	
F3	Terbentuk nanopartikel	

Tekstur nanopartikel dalam serum minyak atsiri dari kulit jeruk nipis muncul karena adanya komposisi *alkalizing agent* yang mampu menghasilkan emulsi tertentu (Yulia *et al.*, 2023). Pemilihan *alkalizing agent* yang tepat juga dapat mempengaruhi proses ini. *Triethanolamine* (TEA) digunakan untuk membentuk emulsi minyak dalam air yang stabil ketika dicampur dengan karbomer. Gabungan antara karbomer dan TEA mengakibatkan muatan negatif yang meluas di seluruh struktur polimer, menghasilkan tolakan elektrostatis. Akibat dari tolakan elektrostatis ini, terbentuklah struktur tiga dimensi yang panjang, menciptakan massa gel yang padat (Tsabitah *et al.*, 2020).

Tujuan pengujian pH untuk mengevaluasi keamanan dan kesesuaian pH serum dengan pH kulit. pH serum yang terlalu basa dapat mengakibatkan kulit menjadi kering dan bersisik. Sebaliknya, jika pH serum terlalu asam menyebabkan iritasi dan rasa gatal pada kulit (Nawawi, 2014). Pemberian TEA dapat menyebabkan peningkatan pH karena TEA adalah substansi basa dengan pH sekitar 10,5 (Murdiana *et al.*, 2022). Hasil semua formula memiliki pH yang sesuai dengan rentang pH normal kulit yaitu 4,5-8,0 menurut SNI 16-4399-1996.

Uji viskositas menggunakan viskometer *Brookfield* dengan rotor nomor 4 dengan kecepatan 30 rpm. Tingkat viskositas serum yang baik yaitu pada rentang 800-2000 mPas (Ermawati *et al.*, 2022). Semakin tinggi

konsentrasi vitamin E, maka semakin tinggi ketebalan dari serum yang dihasilkan. Selain itu, penggunaan TEA dan karbomer juga dapat berpengaruh terhadap kekentalan dari serum tersebut (Vellayanti, 2020). TEA merupakan agen pengemulsi yang lebih efektif untuk fase air daripada karbomer untuk fase minyak, sehingga kandungan TEA dan karbomer memengaruhi tingkat kekentalan serum. Semakin tinggi konsentrasi TEA dan semakin rendah konsentrasi karbomer dalam formula, maka kekentalan serum akan semakin rendah. (Vellayanti, 2020). Jumlah karbomer yang digunakan mempengaruhi tingkat kekentalan serum; semakin banyak karbomer yang dimasukkan, maka kekentalan serum akan semakin tinggi, sementara pengurangan jumlah karbomer akan mengurangi kekentalan serum (Ramadeni *et al.*, 2023). Carbomer digunakan sebagai agen emulsifikasi dalam sediaan topikal, yang menghasilkan dasar yang memiliki tingkat kekentalan yang dapat diatur dengan jumlah TEA yang ditambahkan (Ramadeni *et al.*, 2023). Sediaan ini dirancang untuk mempermudah aplikasinya. Semakin tinggi tingkat kekentalan, semakin sulit untuk mengoleskannya. Hasil dari semua formula serum memenuhi standar uji viskositas dengan baik.

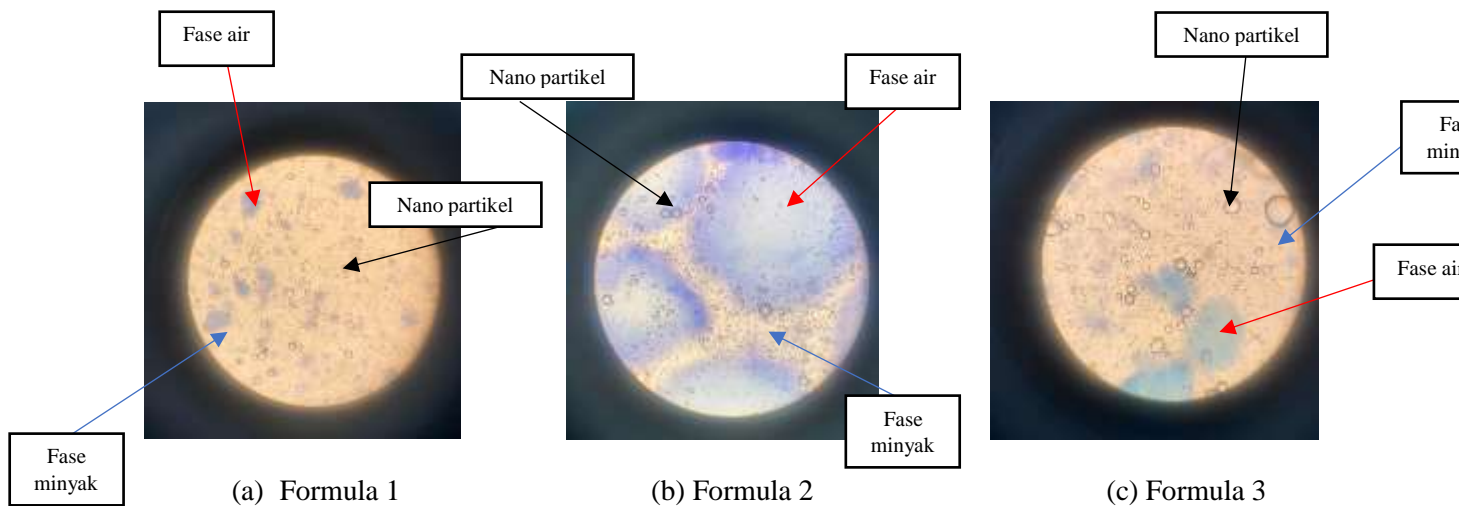
Tujuan dari pengujian kemampuan penyebaran serum adalah untuk menilai sejauh mana serum dapat meratakan saat diaplikasikan ke kulit, yang berhubungan dengan sebaran zat aktif yang terdapat dalam formula. Peran gliserin adalah untuk menjaga tingkat kelembaban dalam

serum dengan mengurangi penguapan air, sehingga mempermudah penyebaran serum dan menjaga kelembaban kulit (Astuti, 2020). Daya sebar yang baik untuk serum berkisar pada 5-7 cm. Hasil semua formula serum memenuhi syarat daya sebar yang baik.

Uji daya lekat dilakukan untuk mengetahui kemampuan serum untuk melekat pada permukaan kulit. Daya lekat dipengaruhi oleh tingkat ketebalan dan memiliki dampak pada efektivitas obat. Semakin tinggi daya lekat sediaan, semakin kuat kemampuannya untuk

melekat pada kulit, yang berarti penyerapan di kulit akan berlangsung lebih lama. (Khasanah *et al.*, 2014). Hasil semua formula serum memenuhi syarat daya lekat yang baik.

Hasil pengujian menunjukkan bahwa semua formula serum dengan minyak atsiri kulit jeruk nipis memiliki tipe M/A seperti yang terlihat pada Gambar 1. *Methylene blue* mewarnai sediaan yang mengandung air ketika dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x, terlihat bahwa fase minyak dikelilingi oleh air (Murdiana *et al.*, 2022).



Gambar 1. Hasil Uji Tipe Emulsi Sediaan

Pengujian kesukaan, atau uji hedonik, digunakan untuk menilai tingkat kecenderungan kesukaan panelis terhadap serum yang telah dibuat. Hasil uji hedonik menunjukkan bahwa dalam hal warna dan tekstur, F1 lebih disukai daripada F2. Persentase mereka yang sangat menyukai warna F1 adalah 23%, dan yang menyukainya adalah 50%. Sedangkan untuk tekstur, hasil menunjukkan bahwa 20% sangat menyukainya, dan 10% menyukainya. Namun, dalam hal aroma, panelis lebih menyukai F2 daripada F1. Sementara itu, untuk warna, persentase mereka yang sangat menyukainya adalah 23%, dan yang menyukainya adalah 20%. Uji perbedaan signifikan untuk serum F1 dan F2, dilakukan analisis statistik. Uji normalitas menunjukkan bahwa data tersebut tidak terdistribusi normal ($p > 0,05$), maka dilakukan uji nonparametrik, yaitu uji *Mann-Whitney*. Hasil uji *Mann-Whitney* menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan antara hasil uji hedonik untuk serum F1 dan F2 ($p > 0,05$).

Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Serum Minyak Atsiri Kulit Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH. DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) merupakan radikal sintetik yang sensitif terhadap pengaruh cahaya, oksigen, serta perubahan pH, tetapi tetap stabil pada suhu kamar dan dapat larut dalam pelarut polar (Silalahi *et al.*, 2011). Hasil IC_{50} digunakan untuk menilai efektivitas berbagai formula serum minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan variasi vitamin E dalam melawan radikal bebas sebesar 50%. Antioksidan sangat kuat jika nilai IC_{50} nya kurang dari 50 ppm. (Khasanah *et al.*, 2014).

Penelitian ini menggunakan vitamin E dan vitamin C digunakan sebagai pembanding (kontrol negatif). Pengujian aktivitas antioksidan dengan perendaman radikal bebas DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) dilakukan dengan cara membuat larutan sampel dari sediaan serum minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) variasi

vitamin E dalam beberapa seri konsentrasi yaitu 1; 1,25; 1,5; 1,75; dan 2 ppm. Vitamin E dibuat seri konsentrasi yaitu 6; 8; 10; 12; dan 14 ppm, dan vitamin C dengan seri konsentrasi 2; 4; 6; 8; 10 ppm.

Selanjutnya, diukur absorbansi untuk setiap konsentrasi larutan dalam serum minyak atsiri dari kulit jeruk nipis (*Citrus*

aurantifolia) dan juga kontrol negatif pada panjang gelombang puncak DPPH, yaitu 516 nm. Hasil dari nilai IC₅₀ untuk serum minyak atsiri dari kulit jeruk nipis dan kontrol negatif dapat ditemukan dalam Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Nilai IC₅₀ Sediaan dan Kontrol Negatif

Zat	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Minyak atsiri kulit jeruk nipis	12,38
Vitamin E (kontrol negatif)	15,78
Vitamin C (kontrol negatif)	12,50
Formula 1	379,00
Formula 2	327,23
Formula 3	226,46
Basis serum (kontrol negatif)	503,21
Serum + vitamin E (kontrol negatif)	230,73
Serum + vitamin C (kontrol negatif)	327,77

Minyak atsiri kulit jeruk nipis yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan yaitu dengan seri konsentrasi 2; 4; 6; 8; dan 10 ppm. Didapatkan hasil persamaan yaitu $r = 0,9947$ dengan nilai IC₅₀ sebesar 12,38 ppm tergolong memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. (Sahad, 2021).

Nilai IC₅₀ basis serum tanpa menggunakan minyak atsiri kulit jeruk nipis dan vitamin E sebesar 503,21 ppm tergolong sangat lemah karena tidak terdapat senyawa antioksidan. Jika basis serum ditambah dengan vitamin E didapatkan nilai IC₅₀ sebesar 230,73 ppm dan basis serum ditambahkan dengan vitamin C sebesar 327,77 ppm menunjukkan bahwa kemampuan antioksidan dari vitamin C dalam menangkal radikal bebas lebih rendah dibandingkan dengan vitamin E. Hal ini dikarenakan basis serum dapat mengganggu proses peredaman radikal bebas. Vitamin C berperan sebagai penghilang oksigen dengan mengalihkan atom hidrogen ke oksigen, sehingga mencegah oksigen radikal untuk terlibat dalam reaksi berikutnya. Vitamin E bekerja dengan memberikan hidrogen sehingga memutus rantai reaksi dan berfungsi sebagai pembatas kerusakan (Silalahi *et al.*, 2011).

Nilai IC₅₀ ketiga formula serum dengan variasi konsentrasi vitamin E pada F1 (1%), F2

(3%), dan F3 (5%) mendapatkan hasil berturut-turut yaitu 379,00 ppm; 327,23 ppm; dan 226,46 ppm. Hal ini dikarenakan kadar konsentrasi vitamin E pada serum F3 lebih besar daripada serum F2 dan F1. Jika konsentrasi vitamin E ditingkatkan, maka jumlah senyawa antioksidan dalam sediaan akan meningkat, sehingga aktivitas antioksidannya akan menjadi lebih kuat, yang akan mengakibatkan penurunan nilai absorbansinya menjadi lebih signifikan (Silalahi *et al.*, 2011). Sehingga formula optimal terdapat pada formula III yaitu dengan nilai IC₅₀ paling kecil sebesar 226,46 ppm dengan konsentrasi vitamin E 5%.

Pemilihan konsentrasi vitamin E (1%, 3%, dan 5%) dalam penelitian ini didasarkan pada penelitian Rohman *et al.*, (2015) yang menyatakan vitamin E pada konsentrasi 1% telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ sebesar 8,27 µg/mL. Konsentrasi 5% dipilih berdasarkan sediaan dipasaran dan batas konsentrasi vitamin E yang diperbolehkan dalam kosmetik, yaitu di bawah 20% (Rohman *et al.*, 2015). Dengan demikian penambahan konsentrasi vitamin E dalam sediaan kosmetik mampu mencegah penuaan dini karena dapat menghambat radikal bebas namun dengan konsentrasi yang lebih tinggi.

SIMPULAN

Berdasarkan data hasil penelitian, disimpulkan bahwa minyak atsiri kulit jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) variasi vitamin E konsentrasi 5% memperoleh hasil IC₅₀ paling kecil yaitu sebesar 226,46 ppm. Semua formula sediaan serum sesuai standar dengan variasi konsentrasi vitamin E mempengaruhi aktivitas antioksidan, semakin tinggi konsentrasi vitamin E semakin baik nilai IC₅₀-nya

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Astuti, A. 2020. Skripsi Astri. *Formulasi Serum Anti-Aging Minyak Atsiri Lada Hitam (Piper Nigrum L.) Dan Uji Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode DPPH*.
- [2] Ermawati, Karim, H., & Valeria Latupeirissa, A. 2022. Formulasi dan Uji Stabilitas Fisik Serum Spray Ekstrak Umbi Wortel (*Daucus carota L.*) Sebagai Anti Aging. *Jurnal Kesehatan Yamsi Makassar*, 6(2), 25–34. <http://journal.yamsi.ac.id>
- [3] Isfardiyana, S. H., & Safitri, S. R. 2014. Pentingnya melindungi kulit dari sinar ultraviolet dan cara melindungi kulit dengan sunblock buatan sendiri. *Jurnal Inovasi Dan Kewirausahaan*, 3(2), 126–133. <https://journal.uui.ac.id/ajie/article/view/7819>
- [4] Kamoda, A. P. M. D., Maria Nindatu, Indrawanti Kusadhiani, Eka Astuty, Halidah Rahawarin, & Elpira Asmin2. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Alga Cokelat Saragassum Sp. Dengan Metode 1,1- Difenil-2-Pikrihidrasil (Dpph). *PAMERI: Pattimura Medical Review*, 3(1),60–62. <https://ojs3.unpatti.ac.id/index.php/pameri/article/view/3742/2902>
- [5] Keen, M., & Hassan, I. 2016. Vitamin E in dermatology. *Indian Dermatology Online Journal*, 7(4), 311. <https://doi.org/10.4103/2229-5178.185494>
- [6] Khasanah, I., Ulfah, M., & Sumantri, S. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanolik Kulit Buah Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan Metode DPPH (1,1- Difenil-2- pikrihidrazil). *E-Publikasi Fakultas Farmasi*, 11(2), 9–17.
- [7] Latifah, F., Taufiq, H., & Fitriyana, N. M. 2023. Uji Antioksidan dan Karakterisasi Minyak Atsiri dari Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix D. C.*). *JPSCR: Journal of Pharmaceutical Science and Clinical Research*, 8(1), 46. <https://doi.org/10.20961/jpscr.v8i1.67396>
- [8] Mayangsari, F. D., Djati Wulan Kusumo, & Zurotul Muarifah. 2022. Uji Karakteristik Fisik Dan Hedonik Dari Antiaging Sleeping Mask Dengan Ekstrak Kulit Buah Delima Merah. *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 8(2), 302–310. <https://doi.org/10.51352/jim.v8i2.640>
- [9] Murdiana, H. E., Putri, M. K., Rosita, M. E., Kristariyanto, Y. A., & Kurniawaty, A. Y. 2022. Optimasi Formula Sediaan Krim Beras (*Oryza Sativa L.*) Tipe M/a Dengan Variasi Asam Stearat, Setil Alkohol Dan Trietanolamin. *Jurnal Farmamedika (Pharmamedica Journal)*, 7(2), 55–63. <https://doi.org/10.47219/ath.v7i2.161>
- [10] Nawawi, R. H. 2012. Uji Aktivitas, Stabilitas Fisik Dan Keamanan Sediaan Gel Pencerah Kulit Yang Mengandung Ekstrak Jamur Tiram (*Pleurotus Ostreatus*). *Tesis Universitas Indonesia*, 1–155.
- [11] Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., Pallio, G., Mannino, F., Arcoraci, V., Squadrito, F., Altavilla, D., & Bitto, A. 2017. Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>
- [12] Pratiwi, R. I. H., Arpiwi, N. L., & Arpiwi, N. L. 2021. Formulasi Serum Ekstrak Buah Malaka (*Phyllanthus emblica*) Sebagai Anti Aging. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*, 8(2), 284. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.2021.v08.i02.p12>
- [13] Ramadeni, R. W., Malahayati, S., & Mahdiyah, D. 2023. Formulasi dan Evaluasi Sediaan Facial Wash Gel Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura L*) 259–266.

- [14] Rohman, A. ., & Riyanto, S. 2004. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Mengkudu. In *Agritech* (Vol. 25, pp. 131–136).
- [15] Sahad, F. A. B. 2021. *Uji Aktivitas Antioksidan Sediaan Gel Handsanitizer Minyak Atsiri Kulit Jeruk Kalamansi (Citrusmicrocarpabunge) Dengan Metode DPPH*.http://eprints.stikesalfatah.ac.id/id/eprint/104/1/KTI_FRIZALDA_AHUSTIAN_BINKE_SAHADI.pdf
- [16] Shaw, A. 2004. SNI 01-2346-2006 Petunjuk pengujian organoleptik dan atau sensori. *Anthurium A Caribbean Studies Journal*, 2 (1), 18. <https://doi.org/10.33596/anth.23>
- [17] Silalahi, K. N., Fahrurroji, A., & Kusharyanti, I. 2011. Optimasi Formula Lasio Dengan Kombinasi Zat Aktif Vitamin C Dan Vitamin E Sebagai Anti peuaan Kulit Serta Uji Stabilitas Losio. *Majalah Farmaseutik*, 11(3), 336–343.
- [18] Susiloningrum, D., & Sari, D. E. M. 2021. Uji Aktivitas Antioksidan Dan Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Temu Mangga(Curcuma mangga Valetton & Zijp) Dengan Varasi Konsentrasi Pelarut. *Cendekia Journal of Pharmacy STIKES Cendekia Utama Kudus P-ISSN*, 5(2), 117–127.
- [19] Tsabitah, A. F., Zulkarnain, A. K., Wahyuningsih, M. S. H., & Nugrahaningsih, D. A. A. 2020. Optimasi Carbomer, Propilen Glikol, dan Trietanolamin Dalam Formulasi Sediaan Gel Ekstrak Etanol Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia*). *Majalah Farmaseutik*, 16 (2), 111. <https://doi.org/10.22146/farmaseutik.v16i2.45666>
- [20] Vellayanti, S. 2020. *Formulasi Dan Karakterisasi Sediaan Serum Nanopartikel Emas Daun Tin (Ficus Carica L.)*. 2507(Mei), 1–9.
- [21] Yulia, E., & Wahyuni, S. 2023. *Indonesian Journal of Chemical Science Nanogel Synthesis Of Chitosan-Alginate-Siam Orange (Citrus nobilis Lour) Extract and Its Antibacterial Activity*. 12 (1).