

BAB I

PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara dengan iklim tropis yang dicirikan dengan suhu tinggi dan radiasi ultraviolet (UV) yang tinggi. Kulit masyarakat Indonesia secara konstan terpapar radiasi sinar matahari yang memicu berbagai permasalahan kulit diantaranya penuaan dini dan hiperpigmentasi (Salsabila *et al.*, 2021). Lapisan epidermis sangat rentan terhadap produksi *Reactive Oxygen Species* (ROS) berlebihan akibat paparan radiasi UV (Denat *et al.*, 2014). ROS berlebihan mengakibatkan stres oksidatif yang dapat menurunkan kekuatan dinding sel fibroblas yang menyebabkan degradasi kolagen dan elastin yang memicu penuaan sel kulit (João, 2007). Selain itu, ROS juga mengaktifkan protein p53 pada gen tirosinase yang menyebabkan peningkatan aktivitas enzim tirosinase dalam produksi melanin (Li *et al.*, 2022). Peningkatan melanin ini menyebabkan terjadinya hiperpigmentasi kulit, seperti warna kulit tidak merata dan flek hitam (Sari *et al.*, 2015).

Menurut ZAP *Beauty Index* (2023), sebanyak 57,6% wanita Indonesia umur 45-65 tahun (Gen X); 37,2% umur 23-44 tahun (Gen Y); dan 20,9% umur 13-22 tahun (Gen Z) mengalami adanya kerutan atau garis-garis halus pada kulit wajahnya. Selain itu, warna kulit tidak merata juga menjadi permasalahan kulit paling umum di setiap kalangan yaitu sebanyak 39,50% Gen X; 37,0% Gen Y; dan 41,40% Gen Z mengalami permasalahan kulit tersebut. Berbagai produk kosmetik dalam berbagai bentuk sediaan telah dikembangkan untuk mengatasi berbagai masalah kulit, salah satunya sediaan serum. Dalam kosmetik, sediaan serum merujuk pada cairan dengan konsentrasi zat aktif tinggi dan viskositas rendah yang menghantarkan film tipis dari bahan aktif pada permukaan kulit (Draelos, 2010). Keuntungan serum dibandingkan bentuk sediaan kosmetik lainnya adalah zat aktif yang terkandung di dalamnya lebih banyak sehingga dapat lebih cepat dan lebih efektif mengatasi masalah kulit (Granmayeh *et al.*, 2011).

Produk serum yang tersebar luas saat ini sebagian besar mengandung bahan kimia sintesis dan masih jarang menggunakan bahan alam. Ekstrak tanaman dan minyak esensial mulai banyak menarik perhatian industri kosmetik dikarenakan permintaan konsumen yang semakin meningkat terhadap produk alami, serta meningkatnya perhatian global terhadap produk ramah lingkungan melalui slogan "*Back to Nature*" (Cerulli *et al.*, 2022). Untuk itu, produk perawatan alam yang efektif serta aman perlu dikembangkan. Senyawa dan flavonoid yang ditemukan pada berbagai tumbuhan aktivitas antioksidan dan inhibitor tirosinase yang kuat (Wu *et al.*, 2015) sebagai sumber bahan kosmetik alami yang dapat dipertimbangkan (*Syzygium polyanthum*) dan minyak cengkeh (*Syzygium*



Bahriul *et al.* (2014) melaporkan bahwa ekstrak daun salam memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat dengan IC_{50} sebesar 11 ppm yang disebabkan oleh kandungan senyawa golongan fenolik dan flavonoid, serta senyawa farnesol, *phytol*, *squalene*, dan β -*Tocopherol*. Selain itu, ekstrak daun salam juga menunjukkan aktivitas inhibitor tirosinase dengan IC_{50} sebesar 93,61 ppm (Setyawati *et al.*, 2018). Adapun penelitian mengenai aktivitas antioksidan minyak cengkeh telah dilakukan oleh Husen (2024) yang memperoleh nilai IC_{50} sebesar 30,31 ppm. Selain itu, penelitian yang dilaporkan Ahmed (2016) menunjukkan bahwa minyak cengkeh juga memiliki aktivitas inhibitor tirosinase yang kuat dengan IC_{50} sebesar 12,1 ppm yang disebabkan oleh kandungan senyawa fenolik terutama eugenol yang merupakan komponen utama minyak cengkeh. Berdasarkan uraian tersebut, kombinasi ekstrak daun salam (EDS) dan minyak cengkeh (MC) memiliki potensi sebagai bahan aktif dalam formulasi serum.

Komposisi bahan dalam formulasi serum gel mengandung *gelling agent* sebagai bahan untuk mengentalkan dan menstabilkan sediaan (Lachman *et al.*, 1994). Karbopol 940 sangat umum digunakan dalam produksi kosmetik karena kompatibel, mudah menyebar, stabilitasnya tinggi, serta tidak toksik jika diaplikasikan di kulit (Rowe *et al.*, 2009). Pemilihan konsentrasi karbopol 940 sebagai *gelling agent* dapat mempengaruhi karakteristik fisik serta stabilitas dari sediaan serum, yang selanjutnya akan menentukan pelepasan zat aktif ketika diaplikasikan ke kulit. Oleh karena itu, dalam penelitian ini difokuskan pada formulasi dan evaluasi stabilitas fisik serum kombinasi ekstrak daun salam dan minyak cengkeh (EDS-MC) menggunakan variasi konsentrasi karbopol 940 sebagai basis, yang diawali dengan uji aktivitas antioksidan dan inhibitor tirosinase.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini, yaitu:

1. Bagaimanakah aktivitas antioksidan dari EDS, MC, serta berbagai perbandingan EDS-MC menggunakan metode DPPH?
2. Bagaimanakah aktivitas inhibitor tirosinase dari EDS, MC, serta berbagai perbandingan EDS-MC menggunakan metode dopakrom?
3. Bagaimana pengaruh variasi konsentrasi karbopol 940 terhadap stabilitas fisik sediaan serum kombinasi EDS-MC?

1.3 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini, yaitu:



aktivitas antioksidan dari EDS, MC, serta berbagai perbandingan menggunakan metode DPPH.

aktivitas inhibitor tirosinase dari EDS, MC, serta berbagai DS-MC menggunakan metode dopakrom.

garuh variasi konsentrasi karbopol 940 terhadap stabilitas fisik erum kombinasi EDS-MC.

BAB II

METODE PENELITIAN

II.1 Alat dan Bahan

II.1.1 Alat

Dalam penelitian ini, alat-alat yang digunakan antara lain: *96-well microplate* (IWAKI®), *aluminium foil*, cawan porselen, homogenizer (*Turrax*®), jangka sorong, *microplate reader* (ELISA) (*Biotek*®), *microtube*, mikropipet (*DragonLab*®), *object glass*, oven (*Memmert*®), pH meter (*Horiba*®), plat kaca, *rotary evaporator* (*Buchi*®), seperangkat alat gelas (*Pyrex*®), seperangkat alat maserasi, timbangan analitik (*Ohaus*®), tip biru, tip kuning, serta viskometer LV (*Brookfield*®), dan *waterbath* (*Memmert*®).

II.1.2 Bahan

Dalam penelitian ini, bahan-bahan yang digunakan antara lain: *2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH) (*Sigma-Aldrich*®), *L-3,4-dihydroxyphenylalanine* (*Sigma-Aldrich*®), *aquadest* (*Waterone*™), asam askorbat (*Sigma-Aldrich*®), asam kojat (*Sigma-Aldrich*®), daun salam (*S. polyanthum*), dimetil sulfoksida, *dinatrium ethylene diamine tetraacetic* (Na_2EDTA), *disodium hydrogen phosphate* (Na_2HPO_4), DMDM hydantoin, etanol 70%, etanol absolut pro analisis (PA), *fragrance*, gliserin, karbopol 940 (*Acrypol*®), minyak cengkeh (*S. aromaticum*), propilen glikol, *sodium dihydrogen phosphate* (NaH_2PO_4), serta *tyrosinase from mushroom* (*Sigma-Aldrich*®), trietanolamin (TEA).

II.2 Metode Kerja

II.2.1 Pembuatan simplisia daun salam

Sebanyak 3 kg daun salam (*S. polyanthum*) yang diperoleh dari Kabupaten Bone dibersihkan untuk menghilangkan kotoran dengan menggunakan air mengalir. Daun salam kemudian dirajang dengan cara memotongnya menjadi ukuran lebih kecil lalu dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50° C selama 8 jam. Daun yang telah kering ditandai dengan cara diremas, jika daun mudah hancur maka pengeringan dihentikan. Simplisia kemudian disortasi dan diperkecil ukurannya (Kemenkes RI, 2011; Kemenkes RI, 2017).

II.2.2 Penyiapan minyak cengkeh

Sebanyak 100 mL minyak cengkeh (*S. aromaticum*) yang telah melalui proses ekstraksi dengan metode destilasi uap diperoleh dari CV Mikaya Makmur Sejahtera (Surabaya, Indonesia) dengan merek *Happy Green Clove Bud Oil*. Sertifikat

pada lampiran 2.

Preparasi simplisia daun salam

1 serbuk daun salam diekstraksi dengan metode maserasi dengan etanol 70% sebanyak 5 L dengan perbandingan antara simplisia dan pelarut adalah 1:10 selama 3 × 24 jam. Maserat yang diperoleh kemudian dididihkan dan dididihkan kembali dengan pelarut etanol 70% sebanyak



2,5 L. Maserat selanjutnya dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 50°C pada tekanan 175 mbar. Ekstrak yang diperoleh kemudian diletakkan di atas waterbath hingga seluruh pelarut menguap dan dimasukkan ke dalam desikator serta dilakukan perhitungan persen rendemen menggunakan rumus berikut (Kemenkes RI, 2017):

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100\%$$

II.2.4 Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

II.2.4.1 Pembuatan larutan stok EDS

Larutan stok ekstrak daun salam dibuat dalam konsentrasi 100 ppm dengan menimbang 10 mg ekstrak lalu dilarutkan dalam labu tentukur 10 mL dengan etanol absolut PA. Selanjutnya, 1 mL larutan dicuplik ke dalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan menggunakan pelarut etanol absolut PA.

II.2.4.2 Pembuatan larutan stok MC

Larutan stok ekstrak minyak cengkeh dibuat dalam konsentrasi 100 ppm dengan menimbang 10 mg ekstrak lalu dilarutkan dalam labu tentukur 10 mL dengan etanol absolut PA. Selanjutnya, 1 mL larutan dicuplik ke dalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan menggunakan pelarut etanol absolut PA.

II.2.4.3 Pembuatan larutan stok kombinasi EDS-MC

Larutan stok kombinasi daun salam dan minyak cengkeh (EDS-MC) yang dibuat dalam konsentrasi 100 ppm dengan lima perbandingan yaitu 1:1, 2:1, 3:1, 1:2 dan 1:3 yang masing-masing ditimbang dengan total bobot 10 mg. Kombinasi bahan dilarutkan dalam labu tentukur 10 mL dengan etanol absolut PA. Selanjutnya, 1 mL larutan dicuplik ke dalam labu tentukur 10 mL dan dicukupkan menggunakan pelarut etanol absolut PA.

II.2.4.4 Pembuatan larutan stok asam askorbat

Larutan stok asam askorbat dibuat dalam konsentrasi 100 ppm yang dibuat dengan melarutkan 10 mg asam askorbat dalam labu tentukur 10 mL dengan menggunakan pelarut etanol absolut PA. Larutan lalu diambil sebanyak 1 mL lalu dicukupkan menggunakan pelarut etanol absolut PA dalam labu tentukur 10 mL.

II.2.4.5 Pembuatan larutan stok DPPH 0,4 mM

Larutan stok DPPH 0,4 mM dibuat dengan melarutkan 3,94 mg DPPH dalam labu tentukur 25 mL dengan menggunakan pelarut etanol absolut PA. Larutan selanjutnya disimpan di tempat yang gelap.

II.2.4.6 Pengukuran absorbansi

Pengukuran % inhibisi dilakukan menggunakan alat *microplate reader* (ELISA).



etiap sampel, standar asam askorbat, dan blanko dicuplik ke *plate*. Ketujuh larutan stok sampel masing-masing diencerkan 5; 10; 15; 20; dan 25 ppm dengan mencuplik 10; 20; 30; 40; μ L ke dalam *96-well microplate* lalu ditambahkan 90 μ L larutan λ dicukupkan dengan etanol PA hingga 200 μ L.

standar asam askorbat diencerkan menjadi konsentrasi 1; 2; dengan mencuplik sebanyak 2; 4; 6; 8; dan 10 μ L stok asam

askorbat ke dalam *well microplate* lalu ditambahkan 90 μL larutan stok DPPH, kemudian dicukupkan dengan etanol absolut PA hingga 200 μL . Selanjutnya dibuat blanko dengan mencuplik 90 μL larutan stok DPPH ke dalam *well-microplate*, kemudian dicukupkan dengan etanol absolut PA hingga 200 μL . Setiap variasi konsentrasi dan blanko dibuat sebanyak tiga kali replikasi. Selanjutnya plat sumuran diinkubasi pada selama 30 menit di ruang gelap dan diukur absorbansinya pada panjang gelombang 516 nm (Blois, 1958).

II.2.4.7 Penentuan % inhibisi dan nilai IC_{50}

Aktivitas antioksidan ditentukan melalui perhitungan persen inhibisi serapan DPPH dan IC_{50} menggunakan aplikasi *Microsoft Excell* dengan menggunakan rumus berikut (Molyneux, 2004).

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$\text{IC}_{50} \text{ (ppm)} = \frac{50 - b}{a}$$

Keterangan:

IC_{50} = *Inhibition concentration 50%*

a = Slope

b = Intersep

II.2.5 Uji aktivitas inhibitor tirosinase

II.2.5.1 Pembuatan larutan stok dapar fosfat 0,05 M pH 6,5

Larutan dapar Fosfat 0,05 M pH 6,5 dibuat dengan melarutkan 1,251 g NaH_2PO_4 dan 0,295 g Na_2HPO_4 dalam labu tentukur 250 mL dengan aquadest lalu pH larutan diukur dengan pH meter.

II.2.5.2 Pembuatan larutan stok EDS

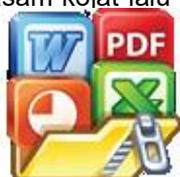
Larutan stok EDS dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 50 mg EDS, lalu dilarutkan dengan sedikit dapar fosfat kemudian dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL dan dicukupkan dengan larutan dapar fosfat.

II.2.5.3 Pembuatan larutan stok sampel MC

Larutan stok minyak cengkeh dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 50 mg minyak kemudian ditambahkan sedikit dapar fosfat dan 2 tetes tween 20, lalu dihomogenkan dan dimasukkan ke dalam labu tentukur 50 mL dan dicukupkan dengan larutan dapar fosfat.

II.2.5.4 Pembuatan larutan stok asam kojat

Larutan asam kojat dibuat dalam konsentrasi 100 ppm dengan menimbang 1 mg asam kojat lalu dilarutkan dalam labu tentukur 10 mL dengan larutan dapar fosfat,



1 hingga tanda batas.

larutan stok substrat L-DOPA 2 mM

substrat L-DOPA 2 mM dengan melarutkan L-DOPA sebanyak 10 mL tentukur 25 mL menggunakan dapar fosfat.

II.2.5.6 Pembuatan larutan stok enzim tirosinase 333 unit/mL

Serbuk enzim tirosinase 7164 unit/mg ditimbang sebanyak 1 mg kemudian dilarutkan dalam 10 mL dapar fosfat pH 6,5 sehingga didapatkan konsentrasi enzim sebesar 716,4 unit/mL. Kemudian dicuplik 4,648 mL dari larutan enzim 716,4 unit/mL ke dalam labu tentukur dan dicukupkan volumenya hingga 10 mL dengan dapar fosfat pH 6,5, sehingga didapatkan konsentrasi 333 unit/mL.

II.2.5.2 Pembuatan variasi konsentrasi

EDS, MC, dan kelima perbandingan kombinasi EDS-MC dibuat dalam konsentrasi 50, 200, 350, 500, dan 650 ppm dalam *microtube* dengan mencuplik larutan stok EDS dan MC dengan perbandingan 1:0, 0:1, 1:1, 1:2, 1:3, 2:1, dan 3:1 hingga diperoleh total volume 50, 200, 350, 500, dan 650 μ L lalu dicukupkan dengan dapar fosfat hingga 1 mL, sehingga diperoleh 35 *microtube* yang menunjukkan lima variasi konsentrasi dari ketujuh perbandingan. Asam kojat sebagai standar dibuat dalam konsentrasi 15, 30, 45, 60, dan 75 ppm dengan mencuplik masing-masing sebanyak 150, 300, 450, 600, dan 750 μ L ke dalam *microtube* kemudian dicukupkan dengan dapar fosfat hingga 1 mL.

II.2.5.3 Pengukuran absorbansi

Pengukuran % inhibisi dilakukan menggunakan alat *microplate reader* (ELISA). Sebanyak 70 μ L tiap variasi konsentrasi dari setiap sampel dan standar asam kojat dicuplik ke dalam 96-well *microplate*. Untuk blanko, dicuplik 70 μ L dapar fosfat pH 6,5. Setelah itu, setiap *well* ditambahkan 110 μ L L-DOPA. Selanjutnya, masing-masing sumur ditambahkan 30 μ L enzim tirosinase. Larutan diinkubasi selama 5 menit, lalu ditambahkan 40 μ L DMSO 2,45 M sebagai *stop solution* untuk menghentikan reaksi enzim. Setiap variasi konsentrasi dan blanko dibuat sebanyak tiga kali replikasi. Pengukuran absorbansi pada ELISA dilakukan pada panjang gelombang 475 nm yang merupakan panjang gelombang maksimum senyawa dopakrom (Hachiya *et al.*, 1989).

II.2.5.8 Penentuan % inhibisi dan nilai IC₅₀ sampel sebagai inhibitor tirosinase

Aktivitas inhibitor tirosinase ditentukan melalui menggunakan aplikasi *Microsoft Excell* dan *Graphpad prism 9*. Dari nilai absorbansi yang diperoleh, dihitung % inhibisi dengan menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi blanko} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Selanjutnya, sampel ditransformasi ke dalam bentuk logaritma, kemudian data yang diperoleh dinormalisasi. Data normalisasi logaritma variasi konsentrasi dan % inhibisi dianalisis menggunakan *non-linear regression* pada aplikasi untuk memperoleh nilai IC₅₀ sampel sebagai inhibitor tirosinase.



II.2.6 Formulasi serum

II.2.6.1 Rancangan formula serum

Tabel 1. Rancangan formula serum kombinasi EDS-MC

Komposisi	Kegunaan	Formula (%b/v)			
		F0	F1	F2	F3
Ekstrak daun salam	Zat aktif	.	0,33	0,33	0,33
Minyak cengkeh	Zat aktif	.	0,67	0,67	0,67
Karbopol 940	Basis serum	0,5	0,4	0,5	0,6
TEA	Agen Pengalkali	0,27	0,24	0,33	0,45
Propilen glikol	<i>Enhancer</i>	10	10	10	10
Gliserin	Humektan	5	5	5	5
DMDM Hydantoin	Pengawet	0,3	0,3	0,3	0,3
Na ₂ EDTA	Pengkhelat	0,01	0,01	0,01	0,01
<i>Black opium fragrance</i>	Parfum	0,001	0,001	0,001	0,001
Dapar fosfat 0,5 M pH 5	Dapar	1	1	1	1
<i>Aquadest</i>	Pembawa	ad 100	ad 100	ad 100	ad 100

II.2.6.2 Pembuatan serum

Karbopol 940 didispersikan ke dalam aquadest selama 24 jam. TEA dimasukkan secukupnya dan dihomogenkan dengan homogenizer. Ekstrak daun salam dilarutkan dengan propilenglikol dan gliserin kemudian ditambahkan ke dalam campuran basis. Setelah itu, minyak cengkeh, DMDM Hydantoin, dan Na₂EDTA juga ditambahkan ke dalam campuran. Terakhir, dimasukkan *fragrance* dan dapar fosfat pH 5. Campuran serum kemudian dihomogenkan dengan menggunakan homogenizer (Garg *et al.*, 2002).

II.2.7 Evaluasi stabilitas fisik formulasi serum

II.2.7.1 Uji organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati secara langsung warna, bau dan tekstur sediaan serum (Kemenkes RI, 2020; Garg *et al.*, 2002).

II.2.7.2 Uji homogenitas

Uji ini dilakukan dengan cara mengoleskan serum sebanyak 1 g pada kaca bening. Uji homogenitas dilakukan dengan menggosokkan serum dengan jari-jari tangan kanan dan tanpa ada partikel yang terlihat (Kemenkes RI, 2020;



Uji homogenitas dilakukan dengan menggosokkan serum dengan jari-jari tangan kanan dan tanpa ada partikel yang terlihat (Kemenkes RI, 2020; Garg *et al.*, 2002). Uji homogenitas dilakukan dengan menggosokkan serum dengan jari-jari tangan kanan dan tanpa ada partikel yang terlihat (Kemenkes RI, 2020; Garg *et al.*, 2002). Uji homogenitas dilakukan dengan menggosokkan serum dengan jari-jari tangan kanan dan tanpa ada partikel yang terlihat (Kemenkes RI, 2020; Garg *et al.*, 2002). Uji homogenitas dilakukan dengan menggosokkan serum dengan jari-jari tangan kanan dan tanpa ada partikel yang terlihat (Kemenkes RI, 2020; Garg *et al.*, 2002).

II.2.7.3 Uji viskositas

Uji viskositas dilakukan menggunakan viskometer Brookfield LV dengan kecepatan 50 rpm. Formula F1 (0,4%), F2 (0,5%), F3 (0,6%), dan F0 (0,5%) secara berturut-turut diuji menggunakan spindel 4, spindel 6, spindel 7, dan spindel 7. Angka yang diperoleh dikalikan dengan faktor koreksi. Nilai viskositas yang diinginkan untuk sediaan topikal serum adalah 2000-4000 cPs (Kemenkes RI, 2020; Garg *et al.*, 2002).

II.2.7.4 Uji daya sebar

Pengukuran uji daya sebar dilakukan dengan menimbang 0,5 gram serum kemudian diletakkan ditengah lempeng kaca. Di atas serum diletakkan lempeng kaca lain. Penambahan beban dilakukan setiap 1 menit dengan beban 50 gram hingga berat total beban yang ditambahkan 150 gram (Kemenkes RI, 2020; Tsabitah *et al.*, 2019). (Kemenkes RI, 2020; Garg *et al.*, 2002).

II.2.7.5 Uji daya lekat

Sampel sebanyak 0,25 gram diletakkan diantara 2 *object glass*, kemudian ditekan dengan beban 200 g selama 5 menit. Selanjutnya, beban diangkat dan dihitung waktu yang diperlukan hingga kedua *object glass* terlepas. Daya lekat sediaan serum yang optimal adalah >1 detik (Kemenkes RI, 2020; Garg *et al.*, 2002).

II.2.7.6 Uji penyimpanan dipercepat

Pengujian dilakukan dengan menyimpan masing-masing formula sediaan pada bersuhu $40^{\circ}\pm 5^{\circ}$ dan kelembapan relatif $75\%\pm 5\%$ RH selama 15 hari. Selanjutnya dilakukan kembali pengujian organoleptis, homogenitas, pH, viskositas, daya sebar, dan daya lekat setelah masa penyimpanan dipercepat (ICH, 1996).

II.2.8 Analisis data

Data hasil penelitian yang telah didapatkan kemudian dikumpulkan, ditabulasi, lalu dilakukan analisis secara statistika menggunakan aplikasi *Microsoft Excell* dan *GraphPad Prism 9*. Sebelum dianalisis, data perlu melalui uji normalitas. Uji normalitas dilakukan dengan metode *Shapiro-Wilk* dikarenakan jumlah data kurang dari 50 (Stewart, 2002).

Data uji antioksidan dan inhibitor tirosinase yang terdistribusi normal ($p \geq 0,05$) dapat dianalisis dengan uji One-way ANOVA, sedangkan data yang tidak terdistribusi normal ($p < 0,05$) dianalisis menggunakan metode *Kruskal Wallis Test*. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas untuk menentukan uji lanjut (*Post Hoc Test*). Apabila asumsi uji homogenitas terpenuhi ($p \geq 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji *Multiple Comparisons* dengan metode *Turkey*, sedangkan jika asumsi Uji Homogenitas tidak terpenuhi ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan metode



art, 2002).
 viskositas, daya sebar, dan daya lekat yang terdistribusi normal
 atistika dengan metode *Paired T-Test* untuk mengetahui
 ulla sebelum dan setelah penyimpanan dipercepat. Apabila
 rks Test. Data hasil analisis statistika kemudian dibuat dalam
 uk mengamati signifikansi sampel (Stewart, 2002).

Dalam analisis statistik, bintang p -value digunakan dalam tabel atau grafik untuk menunjukkan tingkat signifikansi suatu hasil. Setiap bintang mewakili rentang nilai p yang menunjukkan seberapa signifikan hasil sesuai dengan standar yang telah ditetapkan. Penandaan (****) menunjukkan signifikansi dengan $p \leq 0,0001$; (***) menunjukkan signifikansi dengan $p \leq 0,001$; (**) menunjukkan signifikansi dengan $p \leq 0,01$; (*) menunjukkan signifikansi dengan $p \leq 0,05$; serta (ns) jika tidak signifikan dengan $p \geq 0,05$ (Stewart, 2002).

