

Artikel Penelitian

Uji Aktivitas Antioksidan Mikroemulsi Ubiquinone dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil)

Silvi Ayu Wulansari^{1*)}, Umarudin¹, Floreta Ariyani¹

¹Akademi Farmasi Surabaya, Surabaya, Indonesia

*) E-mail: silviayu25@gmail.com

ABSTRAK

Ubiquinone merupakan antioksidan yang diformulasikan pada sediaan kosmetika, perlu dilakukan uji efektivitas antioksidan untuk menjamin kualitas sediaan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan ubiquinone yang diformulasikan dalam sediaan mikroemulsi. Ubiquinone diformulasikan dalam mikroemulsi dengan konsentrasi 0,25%, 0,5%, 0,75% dan 1%. Metode DPPH dipilih sebagai metode analisis antioksidan mikroemulsi ubiquinone. Analisa data pada penelitian ini secara deskriptif untuk mengetahui nilai IC₅₀ pada sediaan mikroemulsi ubiquinone F1, F2, F3 dan F4 dan pembandingan ubiquinone. Hasil penelitian ini diperoleh nilai antioksidan IC₅₀ mikroemulsi ubiquinone F1 sebesar 56,48 ppm, F2 sebesar 49,92 ppm, F3 sebesar 32,76 ppm, dan F4 sebesar 20,71 ppm. Nilai IC₅₀ rata-rata mikroemulsi ubiquinone sebesar 59,16 ppm. Simpulan pada penelitian ini formula mikroemulsi F1-F4 memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika dibandingkan dengan ubiquinone.

Kata kunci: Ubiquinone, Antioksidan, mikroemulsi, DPPH

Antioxidant Activity Test of Ubiquinone Microemulsion with DPPH (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) Method

ABSTRACT

Ubiquinone is an antioxidant formulated in cosmetic preparations. It is necessary to test the antioxidant activity to ensure the quality of the preparation. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of the ubiquinone formulated in microemulsion preparations. The Ubiquinone were formulated into mikroemulsion with concentrations 0.25%, 0.5%, 0.75% and 1%, separately. The DPPH method was selected as the antioxidant activity test. The data analysis in this study was descriptive to determine the IC₅₀ value of ubiquinone microemulsion preparations F1, F2, F3 and F4 and ubiquinone as a comparison. The result shows that the antioxidant value of IC₅₀ ubiquinone microemulsion of F1, F2, F3, and F4 are 56.48 ppm, 49.92 ppm, 32.76 ppm, and 20.71 ppm, respectively. The average value of ubiquinone microemulsion is 59.16 ppm. This research concludes that the microemulsion formula F1-F4 of ubiquinone has a very strong antioxidant activity compared to ubiquinone.

Keywords: Ubiquinone, Antioxidant, microemulsion, DPP

1. PENDAHULUAN

Pemanfaatan Ubiquinone semakin banyak digunakan pada bidang kosmetik karena mampu menangkal radikal bebas baik dalam tubuh maupun dari luar tubuh sehingga dapat menekan efek samping yang disebabkan oleh radikal bebas [1].

Ubiquinone salah satu antioksidan yang bersifat non polar dan didalam kulit berperan meningkatkan ATP di dalam mitokondria. Konsentrasi ubiquinone pada lapisan epidermis 10 kali lebih tinggi bila dibandingkan pada lapisan dermis [2]. Berdasarkan penelitian yang pernah

dilakukan oleh Eman (2017) diketahui penggunaan secara berkala kosmetik yang mengandung ubiquinone dapat mengurangi garis halus sebagai antiaging.

Sifat ubiquinone yang sangat lipofil, memiliki berat molekul yang besar dan bersifat termolabil menyebabkan bioavailabilitas sangat terbatas sehingga sulit terpenetrasi kedalam kulit [4]. Ubiquinone dapat diformulasikan dalam sediaan yang mengandung komposisi minyak, salah satunya dalam bentuk sediaan mikroemulsi

memperkecil ukuran partikelnya sehingga dapat memperbaiki penetrasinya kedalam kulit [5].

Ubiquinone yang telah di formulasikan dalam sediaan mikroemulsi perlu dilakukan uji efektivitas antioksidanya. Pengujian ini untuk mengetahui apakah formula dan cara pembuatan sediaan mikroemulsi dapat mempengaruhi efek antioksidan dari ubiquinone, hal ini dikarenakan pada proses pembuatan mikroemulsi menggunakan suhu tertentu yang dikhawatirkan bahan ubiquinone tidak stabil dan mempengaruhi efektivitas antioksidanya. Oleh karena itu pengujian antioksidan sangat diperlukan untuk menjamin kualitas produk dan menunjang efek terapeutik sediaan akhir dan [6].

Oleh karena itu diperlukan sebuah metode yang sesuai untuk uji aktivitas ubiquinone sebagai antioksidan pada sediaan mikroemulsi. Pengujian antioksidan digunakan untuk mengetahui ubiquinone merupakan antioksidan yang termasuk dalam kategori sangat kuat, kuat, sedang, lemah, atau sangat lemah [7,8].

Terdapat beberapa penyebab yang berpengaruh terhadap hasil pengujian aktivitas antioksidan seperti struktur bahan aktif, sumber dari radikal bebas yang digunakan, dan sifat fisiko-kimia sediaan sampel yang digunakan. Sehingga pemilihan metode Analisa yang tepat juga perlu dilakukan [9]. Metode yang dapat digunakan untuk melihat potensi aktivitas antioksidan ubiquinone dalam sediaan mikroemulsi salah satunya adalah menggunakan metode DPPH. Berdasarkan penelitian yang pernah dilakukan oleh Maesaroh dkk, 2018 diketahui metode DPPH Metode DPPH sering digunakan karena mudah, sederhana, cepat, memiliki kepekaan cukup baik., yang paling efektif dan efisien bila dibandingkan dengan metode uji FIC dan FRAP.

Aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dapat dinilai berdasarkan persen inhibisinya yaitu kemampuan ubiquinone dalam sampel (mikroemulsi) dengan konsentrasi tertentu untuk menghambat aktivitas radikal bebas (DPPH) [10]. Belum pernah dilakukan penelitian uji aktivitas antioksidan Ubiquinone dalam sediaan mikroemulsi menggunakan metode DPPH.

Tujuan penelitian ini untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan menentukan nilai IC₅₀ ubiquinone yang diformulasikan dalam sediaan mikroemulsi.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Bahan penelitian

Ubiquinone (Chemco), 2-Propanol (Merck) (Pro HPLC), Acetonitrile (Merck) (Pro HPLC), DPPH, Mikroemulsi Ubiquinone

2.2. Alat Penelitian

Neraca analitik (Excellwnt DJ-A), Gelas ukur (Iwaki), Beaker glass (Iwaki), Batang pengaduk, Mikropipet 1000µl, Spektrofotometri UV-Vis (Genesys 10S), Vial / Botol Gelap

2.3. Pembuatan Larutan Uji

DPPH dilarutkan dalam [Acetonitril : 2-propanol] (84:16) beri penandaan (DPPH 50 ppm) kemudian ditempatkan dalam botol gelap.

2.4. Penetapan Panjang Gelombang Maksimal (λ_{max}) DPPH

Memasukkan 2 ml (larutan DPPH 100 ppm) dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan pelarut [Acetonitril : 2-propanol] (84:16) sebanyak 2 ml (1:1), kemudian divortex dan di inkubasi pada ruang gelap 30 menit. kemudian diamati λ_{max} menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada (λ) 400 nm – 800 nm.

2.5. Pembuatan Larutan Baku Pembanding Ubiquinone

Sebanyak 12,5 ubiquinone dilarutkan dalam [Acetonitril : 2-propanol] (84:16) hingga 50 ml pada labu ukur dan diberi penandaan (larutan induk ubiquinone 500 ppm) [11]. Membuat beberapa larutan seri dengan konsentrasi 25; 50; 75; 100; 125; 150 ppm, kemudian Masing-masing ditambahkan dengan pelarut ad 10 ml.

2.6. Persiapan Larutan Sampel Mikroemulsi Ubiquinone

Dipipet 1,65 ml sampel dari 4 formula mikroemulsi (F1 - F4) masing – masing ditambah pelarut [Acetonitril : 2-propanol] (84:16) ad 10 ml (larutan induk 500 ppm). Kemudian dibuat beberapa seri konsentrasi seperti pada pembuatan baku pembanding (25 – 150 ppm).

2.7. Pengujian Aktivitas Antioksidan ubiquinone

Masing – masing larutan seri baku pembanding ubiquinone dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 2ml ditambahkan larutan DPPH (50 ppm) 2 ml (1:1) kemudian divortex dan di inkubasi 30 menit. kemudian diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{max} dan dihitung % inhibisi.

2.8. Pengujian Aktivitas Antioksidan sediaan Mikroemulsi ubiquinone

Masing – masing larutan seri dari sampel mikroemulsi F1 – F4 dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 2ml ditambahkan larutan DPPH (50 ppm) 2 ml (1:1) kemudian divortex dan di inkubasi 30 menit. kemudian diamati menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ max dan dihitung % inhibisi menggunakan rumus [12] :

$$\% \text{ inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi DPPH} - \text{Absorbansi Sampel}}{\text{Absorbansi DPPH}} \times 100\%$$

Setelah diperoleh % inhibisi maka dapat dihitung nilai IC50.

2.9. Analisis Data

Pada penelitian data dianalisis secara deskriptif untuk mengetahui nilai IC50 pada mikroemulsi ubiquinone pada F1, F2, F3 dan F4.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah sediaan 4 formula mikroemulsi menggunakan variasi konsentrasi ubiquinone pada rentang 0,25%, - 1%, sesuai dalam data dalam Tabel 1.

Tabel 1. Formula Mikroemulsi Koenzim Q10

Bahan	F1 (%)	F2 (%)	F3(%)	F4(%)
ubiquinone	0,25	0,5	0,75	1
Rice bran oil	3,5	3,5	3,5	3,5
PEG40 HCO	7	7	7	7
Span 60	3	3	3	3
Ethanol 96%	3	3	3	3
Aquadest	Ad 100			

Berdasarkan data tabel. 2 hasil pengujian optimasi λ max menggunakan larutan DPPH 50 ppm, diketahui yang memberikan nilai absorbansi paling maksimal (0,5995) adalah λ 520 nm. Hasil penentuan λ max telah sesuai dengan λ max DPPH secara teoritis yang berada dalam tentang 515 nm-520 nm [6].

Tabel 2. Hasil Pengujian Optimasi Panjang Gelombang Maksimum (λ max) DPPH

No	Panjang gelombang (λ)	Serapan (Abs)
1	517	0.5991
2	518	0.5994
3	519	0.5994
4	520	0.5995
5	521	0.5993
6	522	0.5992

Operating time adalah lama waktu yang dibutuhkan oleh ubiquinone dan DPPH untuk tepat habis bereaksi. Lama Waktu yang diperlukan oleh suatu senyawa itu tidak sama dengan senyawa lainnya, oleh karena itu operating time perlu dilakukan suatu optimasi operating time untuk mengetahui lama waktu yang diperlukan oleh ubiquinone dan DPPH untuk tepat habis bereaksi. Pada penelitian ini operating time selama 30 menit dengan interval waktu setiap 5 menit. Berdasarkan Tabel 3, penentuan operating time pada kurva baku pembanding ubiquinone menunjukkan waktu paling optimal adalah yang menghasilkan absorbansi paling tinggi yaitu pada waktu 30 menit. Penentuan operating time ini sesuai secara teoritis dari Molyneux, bahwa pada menit ke-30 seluruh senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan telah bereaksi dengan DPPH secara sempurna.

Tabel 3. Hasil Pengujian Operating Time

No	Menit	Absorbansi	
		Ubiquinone (50 ppm)	Ubiquinone (50 ppm) + DppH
1	5	0.5873	0.3226
2	10	0.5874	0.3180
3	15	0.5874	0.3157
4	20	0.5874	0.3134
5	25	0.5875	0.3125
6	30	0.5476	0.3118

Seluruh pengujian aktivitas antioksidan baku pembanding ubiquinone dengan metode DPPH diamati pada panjang gelombang maksimum 520, hal ini karena pada λ max memiliki kepekaan yang tinggi sehingga memberikan nilai absorbansi paling tinggi [13]. Konsentrasi larutan seri ubiquinone yang digunakan antara lain 25,2 ppm ; 50,4 ppm ; 75,6 ppm ; 100,8 ppm ; 126 ppm ; dan 151,2 ppm. Berdasarkan data hasil pengukuran larutan baku pembanding ubiquinone pada tabel 4 dari, absorbansi semakin menurun dengan adanya peningkatan konsentrasi ubiquinone.

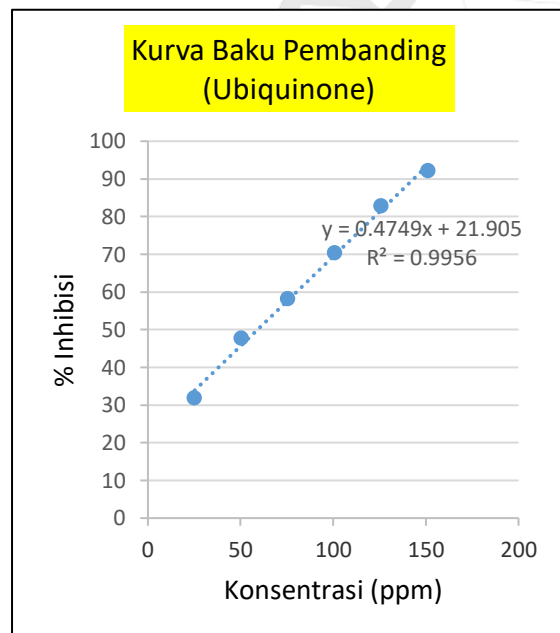
Berdasarkan data absorbansi dapat dihitung persen inhibisi setiap konsentrasi larutan baku pembanding. Persen inhibisi yang didapatkan dari setiap konsentrasi diplotkan pada persamaan regresi linier ($y = a \pm bx$). Persamaan yang digunakan untuk menghitung nilai IC50 yaitu $y = 21,905 + 0,4749.x$ dengan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9956 terlihat kurva baku ubiquinone pada gambar.1 dan didapatkan nilai IC50 baku pembanding ubiquinone sebesar 59,16 ppm.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Baku Pembanding Ubiquinone

Konsentrasi (ppm)	Abs Ubiquinone	(%) Inhibisi	IC 50
50.4	0.3144	47.56	47.59
			$\pm$
	0.3142	47.59	0.0334
75.6	0.3140	47.62	
	0.2511	58.12	58.15
	0.2508	58.17	$\pm$
100.8	0.2507	58.18	0.0347
	0.1779	70.33	70.35
	0.1778	70.34	$\pm$
126	0.1776	70.38	0.0256
	0.1035	82.74	82.73
	0.1034	82.75	$\pm$
151.2	0.1037	82.70	0.0256
	0.0477	92.04	92.10
			$\pm$
			0.0510

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Mikroemulsi Ubiquinone F1

Konsentrasi (ppm)	Abs Ubiquinone	(%) Inhibisi	IC 50
50	0.2912	51.43	51.34
	0.2917	51.34	$\pm$
	0.2922	51.26	0.0834
75	0.2303	61.58	61.52
	0.2308	61.50	$\pm$
	0.2309	61.48	0.0536
100	0.1761	70.63	70.56
	0.1769	70.49	$\pm$
	0.1764	70.58	0.0674
125	0.1289	78.50	78.58
	0.1281	78.63	$\pm$
	0.1283	78.60	0.0694
150	0.0886	85.22	85.27
	0.0883	85.27	$\pm$
	0.0881	85.30	0.0420



Gambar 1. Kurva Baku Pembanding Ubiquinone

Pengujian aktivitas antioksidan sampel mikroemulsi diamatai λ max 520 nm dengan waktu operating time menit ke-30. Berdasarkan data absorbansi mikroemulsi pada F1,F2,F3 dan F4 yang tertulis pada Tabel 5,6,7,8 dapat dihitung persen inhibisi setiap konsentrasi larutan sampel mikroemulsi ubiquinone. Persen inhibisi yang didapatkan dari setiap konsentrasi diplotkan dalam persamaan regresi linier untuk mendapatkan nilai IC50 pada setiap formula.

Berdasarkan data absorbansi dapat dihitung persen inhibisi setiap konsentrasi larutan baku pembanding dengan persamaan yang digunakan untuk menghitung nilai IC50 yaitu $y = 0.3396x + 30.819$ dengan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9900 dan didapatkan nilai IC50 pada F1 sebesar 56,48 ppm

Tabel 6. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Mikroemulsi Ubiquinone F2

Konsentrasi (ppm)	Abs Ubiquinone	(%) Inhibisi	IC 50
50	0.2757	54.01	
	0.2751	54.11	53.98 $\pm$
	0.2768	53.83	0.1438
75	0.2213	63.09	
	0.2218	63.00	63.02 $\pm$
	0.2219	62.99	0.0536
100	0.1566	73.88	
	0.1569	73.83	73.89 $\pm$
	0.1561	73.96	0.0674
125	0.1192	80.12	
	0.1191	80.13	80.12 $\pm$
	0.1193	80.10	0.0167
150	0.0696	88.39	
	0.0694	88.42	88.38 $\pm$
	0.0699	88.34	0.0420

Berdasarkan data absorbansi dapat dihitung persen inhibisi setiap konsentrasi larutan baku pembanding dengan persamaan yang digunakan untuk

menghitung nilai IC₅₀ yaitu $y = 0.3436x + 32.846$ dengan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9937 dan didapatkan nilai IC₅₀ pada F2 sebesar 49,92 ppm

Tabel 7. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Mikroemulsi Ubiquinone F3

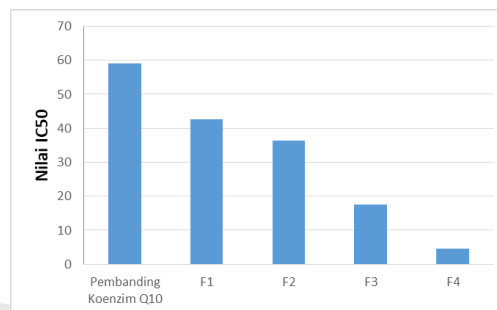
Konsentrasi (ppm)	Abs Ubiquinone	(%) Inhibisi	IC 50
50	0.2359	60.65	60.68 ± 0.0482
	0.2359	60.65	
	0.2354	60.73	
75	0.1981	66.96	66.89 ± 0.0536
	0.1987	66.86	
	0.1986	66.87	
100	0.1486	75.21	75.22 ± 0.0674
	0.1489	75.16	
	0.1481	75.30	
125	0.1001	83.30	83.27 ± 0.0334
	0.1005	83.24	
	0.1003	83.27	
150	0.0537	91.04	91.06 ± 0.0694

Berdasarkan data absorbansi dapat dihitung persen inhibisi setiap konsentrasi larutan baku pembanding dengan persamaan yang digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ yaitu $y = 0.3086x + 39.891$ dengan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9979 dan didapatkan nilai IC₅₀ pada F3 sebesar 32,76 ppm

Tabel 8. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Mikroemulsi Ubiquinone F4

Konsentrasi (ppm)	Abs Ubiquinone	(%) Inhibisi	IC 50
50	0.2174	63.74	63.73 ± 0.0674
	0.2179	63.65	
	0.2171	63.79	
75	0.1871	68.79	68.74 ± 0.0510
	0.1877	68.69	
	0.1875	68.72	
100	0.1266	78.88	78.94 ± 0.0586
	0.1262	78.95	
	0.1259	79.00	
125	0.0883	85.27	85.19 ± 0.0694
	0.0889	85.17	
	0.0891	85.14	
150	0.0496	91.73	91.74 ± 0.0441
	0.0492	91.79	
	0.0497	91.71	

Berdasarkan data absorbansi dapat dihitung persen inhibisi setiap konsentrasi larutan baku pembanding dengan persamaan yang digunakan untuk menghitung nilai IC₅₀ yaitu $y = 0.2900x + 43.994$ dengan koefisien korelasi (r^2) sebesar 0,9905 dan didapatkan nilai IC₅₀ pada F4 sebesar 20,71 ppm



Gambar 2. Nilai IC₅₀ mikroemulsi ubiquinone pada F1,F2,F3 dan F4

Berdasarkan hasil perhitungan koefisien korelasi (r^2) dari semua Formula (F1 – F4) semua memiliki nilai r^2 mendekati 1 sehingga dapat diasumsikan metode yang digunakan dalam penentuan aktivitas antioksidan sudah sangat baik [14].

Nilai IC₅₀ menggambarkan sejumlah konsentrasi senyawa ubiquinone yang mampu meredam radikal bebas (DPPH) sebanyak 50% [12].

Pada hasil penelitian menunjukkan ada peningkatan aktivitas antioksidan, semakin meningkatnya konsentrasi Ubiquinone pada larutan sampel menunjukkan Nilai IC₅₀ semakin kecil. Semakin kecil Nilai IC 50 menunjukkan semakin kuat daya aktivitas antioksidan [7,15].

Hasil uji aktivitas antioksidan dari F1,F2,F3,F4 dan pembanding ubiquinone dapat dilihat pada Gambar2. Berdasarkan dari gambar tersebut dapat diketahui bahwa formula mikroemulsi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar bila dibandingkan dengan pembanding ubiquinone saja hal ini dikarenakan dalam formula mikroemulsi mengandung bahan pembawa minyak yang digunakan untuk melarutkan ubiquinone yaitu *rice bran oil* yang juga memiliki sifat sebagai antioksidan juga sehingga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan sediaan mikroemulsi menjadi lebih baik[16].

4. KESIMPULAN

Temuan pada penelitian ini diperoleh nilai antioksidan IC₅₀ mikroemulsi ubiquinone F1 sebesar 56,48 ppm, F2 sebesar 49,92 ppm, F3 sebesar 32,76 ppm, dan F4 sebesar 20,71 ppm, dan nilai IC₅₀ ubiquinone sebesar 59,16 ppm. Semakin tinggi konsentrasi ubiquinone pada F1-F4 memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat jika dibandingkan dengan ubiquinone.

5. UCAPAN TERIMA KASIH

Terimakasih peneliti sampaikan kepada Akademi Farmasi Surabaya yang telah memfasilitasi dan membiayai sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian.

6. PENDANAAN

Terimakasih peneliti sampaikan kepada Akademi Farmasi Surabaya yang telah memfasilitasi dan membiayai sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian.

7. KONFLIK KEPENTINGAN

Seluruh penulis menyatakan tidak terdapat potensi konflik kepentingan dengan penelitian, kepenulisan (*authorship*), dan atau publikasi artikel ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Ardhie A. Radikal Bebas dan Peran Antioksidan dalam Mencegah Penuaan. *Medicinus Anti Aging. Sci J Pharm Dev Med Appl*. 2011
2. Montenegro L. Nanocarriers for skin delivery of cosmetic antioxidants. *J Pharm Pharmacogn Res*. 2014;2(4):73-9
3. Eman, S., Makky, A.M., Khattab A.M., et al. Nanoemulsion Gel of Neutraceutical Co-Enzym Q10 As An Alternative To Conventional Topical Delivery System To Enhancer Skin Permeability And Anti Wrinkle Efficiency. *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017. Vol. 9 issue 11, p.208-214
4. Lucangioli, S., Tripodi, V. The Importance Of The Formulation In The Effectiveness Of Coenzyme Q10 Supplementation In Mitochondrial Disease Therapy. *Der Pharmacia Sinica*. 2012;3(4), 406-407.
5. Deapsari, Fani. Penetration of Ubiquinone (Q10) Nanoemulsion Using Olive Oil Through Rat Skin. *International Journal of Pharmaceutical and clinical Research*. 2016;9(2), 169-172.
6. Mawarni, F. Formulasi Krim Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium Polyanthum* (Wight) Walp.) dan Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH. Skripsi. Universitas Setia Budi; 2018
7. Purwanto, D. Bahri, S., dan Ridhay, A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia Arborea* Blume.) Dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen*. 2017;3(1): 24 – 32
8. Jun M, Fu HY, Hong J, Wang X, Yang CS, Ho CT. Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobata* Ohwi). *J of Food Science*. 2006;2117-22
9. Maesaroh, K., Kurnia, D., Al Anshori, J. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin, *Jurnal Chimica et Natura Acta*. 2018;6 (2).
10. Mishra, A. K., Mishra, A., Chattopadhyay, P. Formulation and In-Vitro Evaluation of Antioxidant Activity of O/W Sunscreen Cream Containing Herbal Oil as Dispersed Phase. *International Journal of Biomedical Research*. 2010; 5: 201-208.
11. Wulansari SA, Lubada EI. Validasi Metode Analisa Pada Penetapan Kadar Ubiquinone Dalam Sediaan Mikroemulsi Menggunakan Metode Spektrophotometer Uv-Vis. *J Kim Ris*. 2020;5(1):29
12. Molyneux P. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating anti-oxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 2004;26(May), 211–219.
13. Rizkayanti, Diah, A. W. M., & Jura, M. R. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM). *Jurnal Akademika Kimia*. 2017;6(2), 125–131
14. Rohman, A. Validasi Kimia. Yogyakarta: Gajah Mada Universitas Press dan Penjaminan Mutu Metode Analisis; 2016
15. Setiawan, F., Yunita, O., Kurniawan, A. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Secang (*Caesalpinia sappan*) Menggunakan Metode DPPH, ABTS, dan FRAP, Artikel Penelitian, Fakultas Farmasi Universitas Surabaya; 2018
16. Bopitiya D & Madhujith T. Antioxidant Potential of Rice Bran Oil Prepared from Red and White Rice. *Tropical Agricultural Research*. 2014; 26(1):p.11