

Kajian Awal Penyediaan dan Penilaian Krim Kosmeseutikal Antioksidan Berasaskan Minyak Pati *Trigonella foenum-graecum*

(Preliminary Study on Preparation and Evaluation of Antioxidant Cosmeceutical Cream Based on *Trigonella foenum-graecum* Essential Oil)

Bashobhini Suresh Kumar¹, Vanitha Mariappan^{1,2*}, Barathan Muttiah³, Nantha Kumar Jeyaprakasam^{1,2}, Kumutha Malar Vellamy⁴, Hemabarathy Bharatham^{5*}

¹Biomedical Science Programme, Faculty of Health Sciences, Universiti Kebangsaan Malaysia, Jalan Raja Muda Abdul Aziz, 50300 Kuala Lumpur, Malaysia.

²Center for Toxicology and Health Risk Studies, Faculty of Health Sciences, Universiti Kebangsaan Malaysia, Jalan Raja Muda Abdul Aziz, 50300 Kuala Lumpur, Malaysia.

³Department of Medical Microbiology and Immunology, Faculty of Medicine, Universiti Kebangsaan Malaysia, Cheras, 56000 Kuala Lumpur, Malaysia

⁴Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Universiti Malaya, 50603 Kuala Lumpur, Malaysia.

⁵Curtin Medical School, Faculty of Health Sciences, Curtin University, 6845 Perth, Australia.

*Corresponding author: hema@ukm.edu.my
vanitha.ma@ukm.edu.my/vanitha.ma@gmail.com

Abstrak

Dunia kosmetik sekarang berubah fokus kepada produk penjagaan kulit yang menggunakan ekstrak semulajadi seperti biji halba. Tujuan kajian ini adalah untuk merumuskan krim kulit kosmeseutikal bersifat antioksidan dengan menggunakan minyak pati biji halba (*Trigonella foenum-graecum*) dan seterusnya menilai pelbagai ciri fisiokimianya termasuk ujian pemusnahan radikal bebas, penilaian organoleptik, pencirian fizikal, ujian kestabilan dan ujian biokeselamatan. Kepekatan minyak pati 300 μ L/mL menunjukkan aktiviti antioksidan yang paling tinggi secara signifikan pada 9.58% dan formulasi krim kulit dirumuskan menggunakan emulsi minyak dalam air dengan peratusan minyak pati yang berbeza (3%, 5% dan 10%). Ujian pemusnahan radikal juga dijalankan ke atas formulasi krim kepekatan minyak pati 3% dan ianya menunjukkan aktiviti antioksidan tertinggi yang signifikan ($p < 0.05$) pada 87% serta mempamerkan sifat organoleptik yang memuaskan dengan pH 4.55. Ujian kestabilan semua formulasi telah dijalankan selama 90 hari dan hasilnya menunjukkan bahawa formulasi yang disimpan pada suhu bilik, mempamerkan nilai pH dan kebolesebaran yang lebih baik berbanding formulasi yang disimpan pada 4°C. Formulasi krim juga diuji dengan ujian saringan biokeselamatan *in vitro* hemolisis yang menunjukkan ketiadaan perengsa dan bahan toksik dalam krim yang dirumuskan. Ujian sensitiviti kulit semua formulasi krim terhadap sukarelawan melaporkan tiada reaksi kulit. Hasil kajian menunjukkan minyak pati biji halba mempunyai sifat antioksidan yang tinggi dan boleh diformulasikan dalam bentuk krim kulit kosmeseutikal yang selamat. Walau bagaimanapun, ujian tambahan kosmeseutikal dan dermatologi diperlukan untuk penilaian lanjut manfaat krim yang dirumuskan.

Kata kunci: Biji halba, formulasi krim, antioksidan, kosmetik, minyak pati

Abstract

The cosmetics world is now shifting its focus to skin care products that use natural extracts such as fenugreek seeds. This study aimed to formulate an antioxidant cosmeceutical skin cream using fenugreek seed (*Trigonella foenum-graecum*) oil and further evaluate various physiochemical characteristics including free radical scavenging test, organoleptic evaluation, physical characterisation, stability test and biosafety test. Essential oil concentration of 300 μ L/mL showed the highest antioxidant activity significantly at 9.58 and skin cream formulations were formulated using oil-in-water emulsions with different percentages of essential oils (3%, 5% and 10%). The radical scavenging test was also carried out on the 3% essential oil concentration cream formulation showing the highest significant antioxidant activity ($p < 0.05$) at 87% and exhibiting satisfactory organoleptic properties with a pH of 4.55. Stability tests of all formulations were carried out for 90 days and the results showed that formulations stored at room temperature exhibited better pH values and dispersibility than formulations stored at 4°C. The cream formulation was also tested with a preliminary *in vitro* hemolysis biosafety test which showed the absence of irritants and toxic substances in the formulated cream. Skin sensitivity testing of all cream formulations on volunteers reported no skin reactions. The study results show that fenugreek seed essential oil has high antioxidant properties and can be formulated as a safe cosmeceutical skin cream. However, additional cosmeceutical and dermatological testing is required to further evaluate the formulated cream's benefits.

Keywords: Fenugreek seeds, cream formulations, antioxidants, cosmetics, essential oils

PENDAHULUAN

Kosmetik boleh ditakrifkan sebagai sebarang bahan atau campuran yang bertujuan untuk diletakkan bersentuhan dengan pelbagai bahagian luar tubuh manusia (Sarkic dan Stappen 2018). Krim pula didefinisikan sebagai emulsi separa pepejal yang mengandungi lebih 20% fasa air dan kurang 50% fasa minyak untuk diaplikasikan pada permukaan kulit. Secara tradisionalnya, krim mempunyai tekstur yang halus dan penyebaran yang konsisten, sama ada ia merupakan emulsi air dalam minyak atau minyak dalam air (Aulton dan Wells 2002). Kebanyakan produk yang berada di pasaran pada masa kini adalah emulsi minyak dalam air yang menjadi pilihan orang ramai.

Sejak kebelakangan ini, tahap keberkesanan produk kosmetik yang menggunakan sumber semulajadi semakin dikaji secara mendalam oleh para penyelidik (Jaya et al. 2015). Wissal et al. (2021) menekankan bahawa kejayaan penggunaan beberapa sumber semulajadi dalam rawatan penyakit manusia menjadi pilihan yang menarik kerana kesan terapeutik dan ekonominya. Produk penjagaan kulit yang boleh meningkatkan kesihatan dan integriti kulit serta menghidratkan kulit amat bergantung pada bahan yang digunakan dalam penghasilan dan perumusan sesuatu produk tersebut. Penggunaan sumber semulajadi yang dapat meningkatkan kesihatan kulit semakin mendapat sambutan dalam penghasilan bahan kosmetik baru yang tidak berasaskan bahan kimia yang berbahaya.

Trigonella foenum-graecum atau lebih dikenali sebagai halba ialah tumbuhan herba tahunan daripada keluarga Leguminosae. Ia merupakan salah satu tumbuhan ubatan semula jadi tertua yang luas digunakan dalam rawatan pelbagai penyakit. Biji kering halba terkenal dengan sifat antibakteria, antikanser dan anti-radang di India, Mesir dan beberapa negara Eropah (Akbari et al. 2018). Halba kaya dengan pelbagai jenis metabolit seperti tanin, alkaloid, flavonoid, terpenoid dan glikosida yang diketahui mempunyai sifat antimikrob dan antioksidan (Khorshidian et al. 2016). Penggunaan asid lemak dan minyak adalah penting sebagai antioksidan semula jadi dan semakin mendapat perhatian dalam produk makanan, kosmetik dan farmaseutikal kerana potensi terhadap kesihatan serta kesannya yang tidak berbahaya. Kajian yang berbeza telah melaporkan potensi kapasiti antioksidan dan aktiviti fitokimia lain dalam ekstrak biji halba (Wissal et al. 2021). Hal ini menjadikan minyak pati biji halba sebagai pilihan yang menarik untuk dijadikan sebagai komponen utama dalam formulasi produk penjagaan kulit menggunakan bahan semulajadi.

Tujuan kajian ini adalah untuk memformulasikan krim kulit berasaskan biobahan yang kaya dengan sifat antioksidan dengan menggunakan minyak pati halba untuk fasa inorganik dalam campuran formulasi krim. Formulasi krim yang dihasilkan dicirikan untuk sifat fizikal (tekstur, warna dan penampilan), pH, kebolehcucian serta kebolehcucian. Ujian kestabilan dan biokeselamatan juga dijalankan pada formulasi krim untuk mengkaji tahap kestabilan formulasi krim pada suhu dan masa yang berbeza serta kesan formulasi ini terhadap kulit. Tahap antioksidan dan kestabilan status antioksidan krim turut dikaji untuk tempoh masa tertentu untuk menilai keberkesanan formulasi krim yang dihasilkan.

BAHAN DAN KAEDAH

Ujian Aktiviti Antioksidan (*DPPH Free Radical Scavenging Activity*)

Ujian sensitiviti ini dilakukan di dalam kebuk aliran laminar dan secara aseptik.

Penyediaan Reagen DPPH

Sebanyak 24 mg serbuk DPPH dicampur dengan 100 mL metanol untuk dijadikan larutan stok. Larutan stok ini kemudiannya dilarutkan dengan metanol sehingga mencapai bacaan 0.98 ± 0.02 pada OD_{517nm} dengan menggunakan radas spektrofotometer (Saeed et al. 2012). Larutan ini dikenali sebagai 'working solution'.

Penyediaan Sampel Ekstrak Minyak Pati Halba

Minyak pati biji halba (Bioshifax, Malaysia) dilarutkan kepada tiga kepekatan yang berbeza, iaitu 300 $\mu\text{L/mL}$, 400 $\mu\text{L/mL}$ dan 500 $\mu\text{L/mL}$ yang dilarutkan dengan menggunakan etanol 98%.

Ujian Antioksidan DPPH ke atas Ekstrak

Ujian antioksidan DPPH dijalankan dengan mencampurkan 3 mL 'working solution' dengan 100 μL sampel ekstrak minyak pati halba yang telah dilarutkan dengan ethanol kepada kepekatan yang berbeza di dalam tabung uji (Saeed et al. 2012). Ketiga-tiga kepekatan larutan ekstrak dicampur dalam tabung uji yang berbeza dan ditutup dengan kerajang aluminium dan diinkubasi selama 30 minit di suhu bilik dalam tempat yang gelap. Bacaan larutan kemudiannya diambil pada OD_{517nm} dengan menggunakan spektrofotometer sebanyak tiga kali dan bacaan dipuratakan. Kawalan yang digunakan adalah 'working solution' DPPH tanpa minyak pati. Peratus aktiviti skavenging ekstrak dikira menggunakan formula:

$$AA (\%) = \frac{[(R \text{ kawalan} - R \text{ sampel})]}{R \text{ kawalan}} \times 100$$

FORMULASI KRIM ASAS DAN UJIAN ANTIOKSIDAN DPPH ATAS KRIM

Proses memformulasikan krim asas yang akan digunakan sebagai kumpulan kawalan dan kumpulan kajian yang ditambahkan dengan minyak pati biji halba dilakukan terlebih dahulu. Formulasi asas bagi krim terbahagi kepada dua fasa iaitu fasa minyak (minyak mineral, asid stearik, setil alkohol, propil paraben, minyak almond, minyak kastor PEG-40 terhidrogenasi) dan fasa air (propilena glikol, tween-80, metil paraben, air suling steril) (Pimpale 2018) (Jadual 1). Seluruh fasa minyak dicampurkan ke dalam bikar dan dipanaskan pada suhu 70°C sehingga seluruh bahan tercampur dengan sebati. Seluruh fasa air dicampurkan ke

dalam bikar bersih yang berbeza dan dipanaskan pada suhu 70°C sehingga seluruh bahan terlarut. Apabila bahan pada kedua-dua fasa sudah sebati dan suhu kedua-duanya lebih kurang sama, fasa minyak dituangkan ke dalam fasa air secara perlahan dan dikacau berterusan sehingga sebati dan membentuk emulsi. Emulsi direhatkan pada suhu bilik sehingga suhu mencapai 40°C dan membentuk krim asas separa pepejal. Minyak pati biji halba pada jumlah berat 3%, 5% dan 10% (w/w) masing-masing dicampurkan ke dalam krim asas dan dikacau sehingga kesemua minyak pati bercampur secara sebati dengan krim asas. Kepekatan yang tepat bagi setiap formulasi adalah seperti yang tertera dalam Jadual 1 di bahagian hasil kajian. Tiga replika biologi bebas telah disediakan dan krim yang telah siap diformulasikan kemudiannya digunakan untuk penilaian fizikal, pencirian asas, ujian sensitiviti dan kesan antioksidan (Imamovic dan Alisaphic 2021).

Jadual 1: Formulasi bagi setiap krim (20 g)

Bahan (% w/w)	Kod formulasi			
	C	F1	F2	F3
Minyak mineral	2.5	2.5	2.5	2.5
Asid stearik	3.5	3.5	3.5	3.5
Setil alkohol	2.0	2.0	2.0	2.0
Propil paraben	0.025	0.025	0.025	0.025
Minyak almond	2.5	2.5	2.5	2.5
Minyak kastor PEG-40 terhidrogenasi	1.0	1.0	1.0	1.0
Propilena glikol	0.5	0.5	0.5	0.5
Tween 80	1.0	1.0	1.0	1.0
Metil paraben	0.1	0.1	0.1	0.1
Minyak pati biji halba	-	3.0	5.0	10.0
Air suling	q.s	q.s	q.s	q.s

*q.s - quantum satis, yang bermaksud “secukupnya”

Bagi menguji aktiviti antioksidan pada krim pula, keempat-empat formulasi krim iaitu krim kawalan dan krim kepekatan 3%, 5% dan 10% dilarutkan dalam etanol kepada kepekatan 100 mg/ml. Kemudian, dalam tabung uji yang berbeza, 0.1 mL sampel ini dicampurkan dengan 3mL ‘working solution’ DPPH yang disediakan seperti kaedah di atas. Semua tabung uji ditutup dengan kerajang aluminium dan disimpan di tempat yang gelap selama 30 minit pada suhu bilik. Bacaan larutan kemudiannya diambil menggunakan spektrofotometer pada OD_{765nm} sebanyak tiga kali dan peratus aktiviti skavenging formulasi krim dipuratakan (Imamovic dan Alisaphic 2021).

KAJIAAN PENILAIAN PENCIRIAN FORMULASI KRIM

Penilaian Fizikal

Semua formulasi krim (kawalan dan minyak pati biji halba) dinilai dari segi tekstur, warna dan penampilannya melalui pemerhatian visual. Penilaian warna dijalankan melalui kaedah semi-kuantitatif (Jadual 2) mengikut Viviane et al. (2015).

Jadual 2. Skor pemarkahan bagi perubahan warna pada krim (Viviane et al. 2015).

Perubahan warna	Pemarkahan
Tiada perubahan warna	1
Perubahan warna yang sedikit	2
Perubahan warna secara menyeluruh	3
Bukti ketidakkonsistenan	4

Penentuan pH

Pengukuran nilai pH dijalankan pada 0.5 g bagi setiap formulasi krim (kawalan dan minyak pati biji halba) yang telah dilarutkan ke dalam 50 mL air suling. pH ditentukan dengan menggunakan meter pH (Pimpale, 2018). Nilai purata diambil dari tiga bacaan pH dari formulasi krim yang berbeza.

Ujian Kebolesehsebaran

Kebolesehsebaran krim pula dilakukan untuk memastikan krim tersebut dapat disebarkan dengan mudah dan baik pada kulit dan cepat ditelap oleh kulit. Kebolesehsebaran formulasi krim ditentukan dengan mengukur diameter kebolesehsebaran 0.5 g formulasi krim antara dua slaid kaca yang mendarat selepas satu minit. Satu pemberat piawai 20 g diletakkan di atas slaid kaca yang di atas untuk mendapatkan bacaan diameter kebolesehsebaran formulasi krim (Pimpale, 2018). Setiap formulasi krim diambil bacaan diameter kebolesehsebaran sebanyak tiga kali bagi mendapatkan nilai purata.

Ujian Kebolehcucian

Ujian kebolehcucian dilakukan untuk memastikan tiada kesan berminyak atau sisa krim yang ditinggalkan di atas kulit selepas permukaan kulit dibasuh. Kebolehcucian formulasi krim ditentukan dengan meletakkan formulasi krim pada permukaan kulit dan dibasuh dengan air yang mengalir (Pimpale, 2018).

Ujian kestabilan

Ujian kestabilan dijalankan pada semua formulasi krim dengan menyimpan krim tersebut pada tempat yang berbeza suhu iaitu 4°C dan suhu bilik (28°C) di dalam bekas sampel (Chen et al. 2016). Pencirian bagi semua formulasi krim dinilai selama tiga bulan bagi menentukan kestabilan fizikal formulasi krim. Penilaian pH dan kebolesehsebaran formulasi krim ditentukan pada selang masa 0, 30 dan 90 hari. Setiap bacaan pH dan kebolesehsebaran formulasi diambil sebanyak tiga kali bagi mendapatkan nilai purata.

UJIAN BIOKESELAMATAN FORMULASI KRIM

Ujian Sensitiviti Kulit

Ujian sensitiviti kulit dijalankan pada lima wanita dan lima lelaki (18 tahun ke atas $[20.0 \pm 2.0]$ dan tidak mempunyai sebarang penyakit kulit/ alergi) yang secara sukarela dengan menggunakan pengukuran semi-kuantitatif mengikut kriteria yang dinyatakan dalam Jadual 3 (OECD, 2005). Semua sukarelawan bersetuju untuk menjalani ujian ini dan telah memberikan persetujuan bertulis dengan menggunakan borang pemakluman persetujuan (Lampiran 1). Setiap sukarelawan diminta untuk menyapukan kesemua formulasi krim yang disediakan pada permukaan belakang tangan kiri. Krim dicuci dengan air yang mengalir selepas sepuluh saat sapuan. Sukarelawan diminta untuk mengenalpasti jika ada sebarang kesan kerengsaan dalam masa 24 jam selepas sapuan dengan mengisi markah pada jadual yang telah ditetapkan pada borang tersebut.

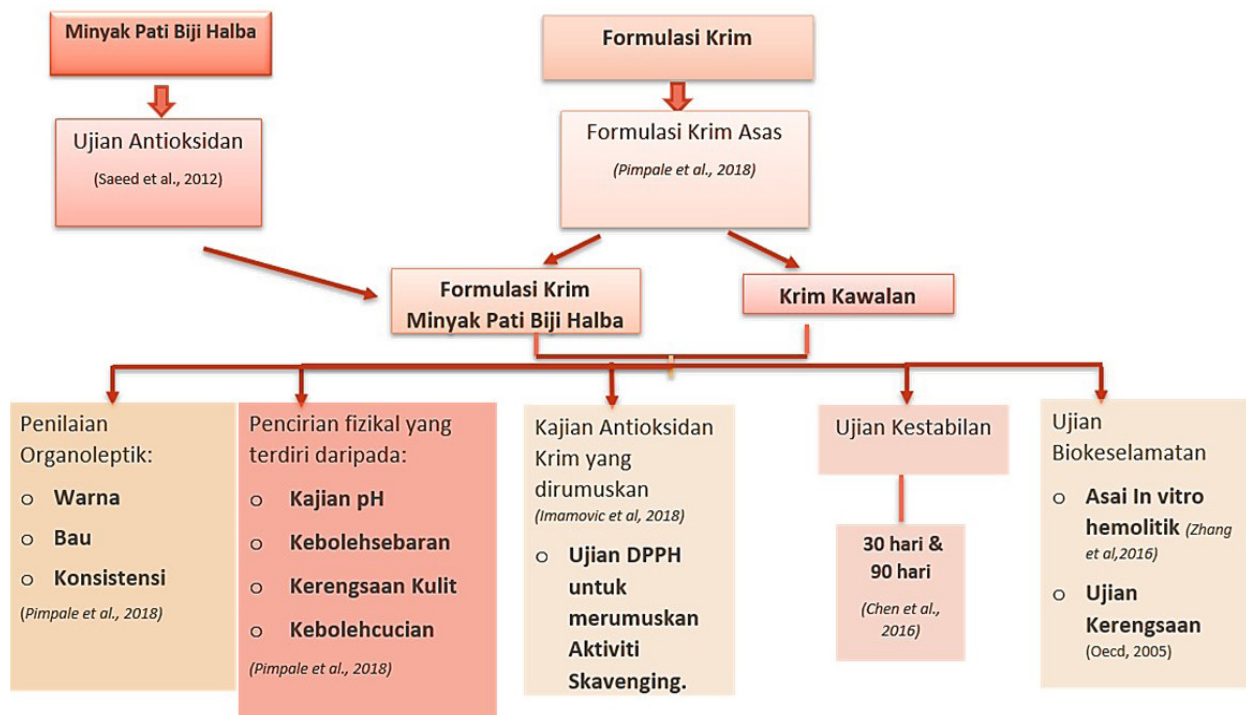
Jadual 3. Skor pemarkahan ujian kerengsaan kulit (OECD, 2005)

Kerengsaan kuli	Pemarkaha
Tiada reaksi	0
Kemerahan	1
Eritema	2
Ulserasi	3

Asai In Vitro Hemolisis

Ujian hemolisis *in vitro* menilai pelepasan hemoglobin dalam plasma (sebagai penunjuk lisis sel darah merah) berikutan pendedahan agen ujian (OECD, 2005). Ujian hemolisis *in vitro* digunakan untuk menilai hemolisis dan denaturasi protein dalam sel darah merah yang disebabkan oleh sebarang perengsa atau bahan toksik dalam produk kosmetik (Zhang et al. 2016). Formulasi F1 yang menunjukkan kandungan antioksidan tertinggi digunakan untuk ujian ini. Krim sebesar saiz 50 sen (22.65 mm) telah tersebar pada agar darah ($n=1$) secara aseptik dan diinkubasi selama 18 jam pada 37°C. Kehadiran hemolisis diperhatikan pada agar selepas itu.

Rajah 1 menunjukkan carta rumusan reka bentuk kajian yang dijalankan dari penyediaan formulasi krim minyak pati biji halba hingga penilaian fizikal, kajian pencirian dan ujian sensitiviti.



Rajah 1. Rumusan reka bentuk kajian yang dijalankan dari penyediaan formulasi krim minyak pati biji halba hingga penilaian fizikal, kajian pencirian dan ujian sensitiviti.

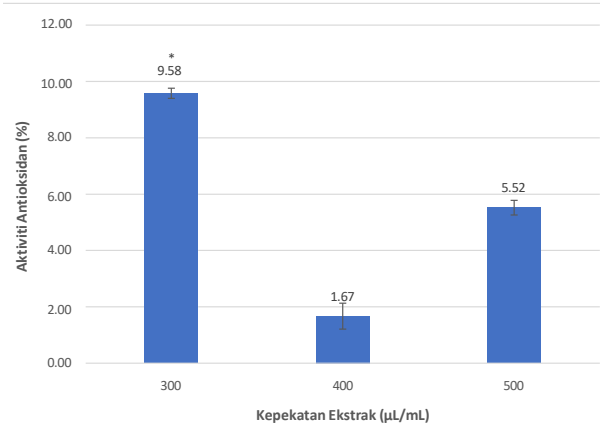
Analisis Statistik

Analisis data kajian dijalankan menggunakan ANOVA sehalu (*one-way ANOVA*), ANOVA mixed design dan ANOVA dua hala (*two-way ANOVA*) dengan nilai signifikan $p < 0.05$ diikuti dengan ujian Tukey's post hoc. Keputusan dinyatakan dalam bentuk purata $\pm$ sisihan piawai.

HASIL KAJIAN

Penilaian Aktiviti Antioksidan Ekstrak Minyak Pati Biji Halba

Penilaian aktiviti antioksidan terhadap ekstrak dijalankan menggunakan kaedah pemusnahan radikal bebas DPPH terhadap tiga kepekatan minyak pati halba yang diuji. Rajah 2 menunjukkan peratus aktiviti antioksidan terhadap ketiga-tiga kepekatan tersebut. Kepekatan minyak pati biji halba 300 $\mu\text{L}/\text{mL}$ menunjukkan peratus aktiviti antioksidan yang paling tinggi (9.58%) yang signifikan berbanding kepekatan yang lain ($p < 0.05$). Pada kepekatan tertentu, molekul aktif dalam minyak pati mungkin mencapai tahap tepu dalam berinteraksi dengan radikal bebas DPPH. Molekul aktif tambahan mungkin tidak dapat memberikan sumbangan tambahan yang signifikan terhadap pemusnahan radikal bebas. Walaubagaimanapun, kajian lanjut perlu dilakukan untuk menentukan pencapaian tahap tepu.



Rajah 2: Penilaian aktiviti antioksidan terhadap kepekatan ekstrak minyak pati biji halba. *signifikan berbanding dengan kepekatan 400 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dan 500 $\mu\text{L}/\text{mL}$ pada $p < 0.05$

FORMULASI KRIM DAN UJIAN KESTABILAN

Penilaian Pencirian Formulasi Krim

Jadual 4 menunjukkan penilaian pencirian formulasi krim dari segi penampilan, warna, kebolehcucian, pH dan kebolehebaran. Penampilan bagi kesemua formulasi krim yang dirumus didapati menghasilkan tekstur krim berwarna putih yang ideal iaitu separa

pepejal dan mudah dicuci. Penilaian pH pada hari ke-0 menunjukkan tiada perbezaan yang signifikan nilai purata pH antara formulasi yang berbeza ($p>0.05$). Perbandingan kebolehsedaran

antara formulasi krim yang dikaji pada hari ke-0 mendapati tiada perbezaan yang signifikan pada ciri kebolehsedaran antara formulasi yang berbeza ($p>0.05$).

Jadual 4. Penilaian pencirian formulasi krim dari segi penampilan, warna, kebolehcucian, pH dan kebolehsedaran pada hari ke-0.

Formulasi	Penampilan	Warna	Kebolehcucian	pH	Kebolehsedaran (cm)
C	Separa pepejal	Putih	Mudah dicuci	4.82 ± 1.70	6.50 ± 2.30
F1	Separa pepejal	Putih	Mudah dicuci	4.25 ± 1.50	4.50 ± 1.36
F2	Separa pepejal	Putih	Mudah dicuci	4.32 ± 1.50	4.50 ± 1.36
F3	Separa pepejal	Putih	Mudah dicuci	4.66 ± 1.65	5.00 ± 1.77

Ujian Kestabilan Penilaian Warna

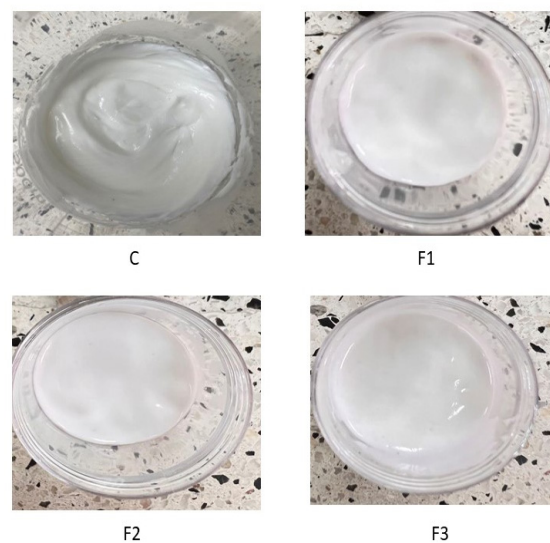
Jadual 5 menunjukkan penilaian krim yang diformulasikan dari segi perubahan warna apabila disimpan pada suhu yang berbeza untuk jangka masa 90 hari. Krim yang diformulasikan disimpan dalam tiga replika pada 4°C dan suhu bilik (28°C) (Rajah 3). Kesemua formulasi krim menunjukkan skor pemarkahan 1 tanpa mengira suhu penyimpanan. Ini menunjukkan bahawa warna formulasi krim adalah stabil sepanjang tempoh kajian tanpa dipengaruhi oleh perubahan suhu.

Ujian Kestabilan Penilaian pH

Jadual 6 menunjukkan penilaian krim dari segi perubahan pH bagi kesemua formulasi krim yang disimpan pada 4°C , dan suhu bilik (28°C) selama 90 hari yang dinilai pada hari 0, 30 dan 90. Penilaian pH bagi kesemua formulasi krim didapati berada dalam julat yang dapat diterima oleh kulit manusia iaitu dalam lingkungan pH 4.0 – 6.0 (Chen, et al. 2016). Analisis statistik melalui ujian ANOVA, menunjukkan tiada perbezaan yang signifikan bagi penilaian pH antara formulasi krim dengan tempoh masa persampelan ($p>0.05$) tetapi terdapat perbezaan signifikan antara formulasi krim dengan ketiga-tiga suhu penyimpanannya ($p<0.05$). Perbezaan signifikan pH ($p=0.02$) pada suhu 28°C yang diperhatikan antara formulasi C pada hari ke-0 (4.82 ± 1.70) dibandingkan dengan formulasi C pada hari ke-30 (5.14 ± 0.46) dan ke-90 (3.90 ± 0.07) dan antara formulasi F1 pada hari ke-0 (4.25 ± 1.50), ke-30 (5.40 ± 0.38) dan hari ke-90 (4.80 ± 0.38) ($p=0.03$). Tiada perbezaan yang signifikan pada dan antara krim yang disimpan pada 4°C pada hari ke-30 dan ke-90.

Jadual 5. Ujian kestabilan formulasi krim dari segi warna

Tempoh (Hari)	Suhu penyimpanan ($^{\circ}\text{C}$)	Krim			
		C	F1	F2	F3
0	Suhu bilik (28°C)	1	1	1	1
	4	1	1	1	1
30	Suhu bilik (28°C)	1	1	1	1
	4	1	1	1	1
90	Suhu bilik (28°C)	1	1	1	1
	4	1	1	1	1



Rajah 3: Penampilan dan warna bagi setiap formulasi krim

Jadual 6. Ujian kestabilan formulasi krim dari segi pH pada suhu dan tempoh berbeza.

Tempoh (Hari)	Suhu penyimpanan (°C)	Krim (pH)			
		C	F1	F2	F3
0	Suhu bilik (28)	4.82±1.70	4.25 ± 1.50	4.32 ± 1.50	4.66 ± 1.65
30	4	4.48±0.46	4.55 ± 0.30	4.86 ±0.94	4.35 ±0.25
	Suhu bilik (28)	5.14±0.46	5.40 ± 0.38	4.93 ± 0.98	4.79 ± 0.31
90	4	4.00±0.04	4.25 ± 0.31	4.49 ± 0.08	4.56 ± 0.04
	Suhu bilik (28)	3.90±0.07	4.80 ± 0.38	4.40 ± 0.06	4.60 ± 0.02

Ujian Kestabilan Penilaian Kebolehsebaran

Formulasi krim yang disimpan pada suhu bilik, 28°C sepanjang tempoh eksperimen menunjukkan nilai kebolehsebaran yang tertinggi. Pada 4°C, nilai kebolehsebaran diperhatikan menurun secara beransur. Analisis statistik menggunakan ujian mixed design ANOVA menunjukkan tiada perbezaan yang signifikan pada kebolehsebaran antara formulasi dengan tempoh penyimpanan krim ($p>0.05$) tetapi

terdapat perbezaan signifikan pada kebolehsebaran formulasi dengan suhu penyimpanan krim ($p<0.05$). Hasil kajian mendapati kebolehsebaran pada suhu 28°C menunjukkan perbezaan signifikan antara formulasi C pada hari ke-0 ($6.50 \pm 2.30\text{cm}$) dibandingkan dengan formulasi C pada hari ke-30 ($4.10 \pm 0.77\text{cm}$) dan ke-90 ($4.20 \pm 0.35\text{cm}$) ($p=0.04$). Tiada perbezaan yang signifikan antara krim yang disimpan pada 4°C pada hari ke-30 dan ke-90 (Jadual 7).

Jadual 7. Ujian kestabilan formulasi krim dari segi kebolehsebaran pada suhu dan tempoh yang berbeza.

Tempoh (Hari)	Suhu penyimpanan (°C)	Kebolehsebaran (cm)			
		C	F1	F2	F3
0	Suhu bilik (28)	$6.50 \pm 2.30^*$	4.50 ± 1.36	4.50 ± 1.36	5.00 ± 1.77
30	4	3.00 ± 0.70	2.50 ± 1.20	3.70 ± 0.98	3.50 ± 0.70
	Suhu bilik (28)	4.10 ± 0.77	5.40 ± 1.00	5.00 ± 0.91	5.70 ± 0.75
90	4	3.70 ± 0.30	3.20 ± 0.67	3.50 ± 0.94	3.80 ± 0.65
	Suhu bilik (28)	4.20 ± 0.35	5.20 ± 0.70	4.90 ± 0.99	5.80 ± 0.70

*signifikan berbanding dengan formulasi C pada hari ke-0, 30 dan 90 pada 28°C ($p<0.05$).

Aktiviti Antioksidan Formulasi Krim

Penilaian aktiviti antioksidan terhadap formulasi krim dijalankan menggunakan kaedah pemusnahan radikal bebas DPPH. Jadual 8 menunjukkan peratus aktiviti antioksidan kesemua formulasi pada tempoh

masa hari ke-0 dan ke-90 pada suhu simpanan 4°C dan 28°C. Analisis statistik ujian mixed design ANOVA menunjukkan tiada perbezaan yang signifikan aktiviti antioksidan antara formulasi dengan tempoh masa penyimpanan krim ataupun formulasi dengan suhu penyimpanan krim ($p>0.05$).

Jadual 8. Peratus aktiviti antioksidan krim

Tempoh (Hari)	Suhu penyimpanan (°C)	Aktiviti antioksidan (%)		
		F1	F2	F3
0	Suhu bilik (28)	75.48 ± 0.38	63.89 ± 0.54	87.21 ± 0.20
90	4	55.93 ± 0.15	49.15 ± 0.25	83.05 ± 0.10
	Suhu bilik (28)	67.33 ± 0.24	37.62 ± 0.23	78.22 ± 0.08

UJIAN BIOKESELAMATAN KRIM

Ujian Sensitiviti Kulit

Kajian awal bagi ujian sensitiviti kulit dijalankan melalui pengukuran semi-kuantitatif (OECD, 2005) pada sepuluh sukarelawan (lima wanita dan lima

lelaki). Hanya 10 orang individu dari kedua-dua jantina telah dipilih sebagai kajian pendahuluan. Para sukarelawan diminta untuk meletakkan keempat-empat krim yang diformulasikan seperti yang diarahkan dalam borang pemakluman persetujuan yang ditandatangani oleh mereka. Ujian ini

dijalankan untuk menilai sebarang reaksi formulasi krim terhadap kulit seperti kemerahan, eritema atau ulserasi dalam tempoh 24 jam aplikasi. Jadual 9 menunjukkan pemarkahan reaksi kerengsaan kulit terhadap kesemua formulasi krim yang diuji. Hasil kajian menunjukkan tiada kesan kerengsaan pada kulit yang dilaporkan oleh subjek berkaitan dengan reaksi yang diperhatikan dan menunjukkan bahawa kesemua formulasi krim selamat untuk penggunaan topikal.

Jadual 9. Ujian kerengsaan kulit terhadap 10 sukarelawan

Formulasi	Pemarkahan kerengsaan kulit
C	0
F1	0
F2	0
F3	0

Ujian *In Vitro* Hemolisis

Ujian hemolisis *in vitro* digunakan untuk menilai hemolisis dan denaturasi protein dalam sel darah merah yang disebabkan oleh sebarang perengsa atau bahan toksik dalam produk kosmetik (Zhang et al. 2016). Formulasi F1 yang menunjukkan kandungan antioksidan tertinggi digunakan untuk ujian ini. Hasil kajian menunjukkan tiada kehadiran hemolisis atau 'gamma hemolisis' yang berlaku. Hal ini kerana agar di bawah dan di sekeliling krim tidak berubah warna atau pudar, menunjukkan bahawa sel darah merah di bawah dan sekeliling krim tidak dihemolisis. Ini menunjukkan bahawa formulasi krim tidak toksik kepada kulit manusia dan selamat untuk disapu secara topikal. Rajah 4 menunjukkan hasil kajian pada media agar darah.



Rajah 4. Media agar darah ujian *in vitro* hemolisis (foto wakil)

PERBINCANGAN

Penyediaan krim kulit antioksidan yang diperkaya dengan minyak pati biji halba menggunakan ekstrak alkohol belum dikaji lagi. Penggunaan etanol dalam proses pengekstrakan memberikan kelebihan dari

segi keberkesanan dan kemudahan, menjadikannya pilihan praktikal untuk penghasilan produk kosmetik berkualiti tinggi. Walaubagaimanapun, penyelidik lain (Waqas, et al. 2010) ada menggunakan minyak pati biji halba dalam penyediaan krim, tetapi menggunakan cecair paraffin minyak dan sebahagian eksperimen tidak dijalankan dalam kajian sebagai contoh antioksidan, *in vitro* hemolysin dan sebagainya. Kajian ini penting kerana memberikan pemahaman yang mendalam mengenai potensi antioksidan minyak pati biji halba dan aplikasinya dalam formulasi krim kulit, yang berpotensi menyumbang kepada pembangunan produk farmaseutikal dan kosmetik yang lebih efektif dan berkualiti. Dengan menilai aktiviti antioksidan minyak pati biji halba, kajian ini bukan sahaja meningkatkan pemahaman tentang manfaat bahan semula jadi dalam penjagaan kulit, tetapi juga menyumbang kepada pengembangan industri penjagaan kulit yang berkelanjutan.

Sememangnya, minyak pati biji halba telah terbukti mempunyai sifat antibakteria dan antioksidan (Wissal et al. 2021). Kajian ini menunjukkan bahawa ekstrak ini menunjukkan sifat antioksidan yang ketara dan menjadikannya pilihan yang menarik untuk digunakan dalam bidang farmaseutikal. Ini sejajar dengan trend semasa dalam industri penjagaan kulit di mana pengguna beralih ke arah sumber alternatif yang berasaskan bahan semula jadi seperti ekstrak tumbuhan (Hendrawati et al. 2019). Dalam kajian ini, potensi aktiviti antioksidan dalam minyak pati biji halba telah ditentukan menggunakan asai pemusnahan radikal bebas DPPH. Ujian pemusnahan radikal bebas DPPH adalah ujian yang biasa digunakan dalam kajian antioksidan (Saeed et al. 2012).

Ujian DPPH digunakan untuk meramalkan aktiviti antioksidan dan tindak balasnya dalam menghalang pengoksidaan lipid (Skrovankova et al. 2012). Bagi hasil ujian antioksidan terhadap ekstrak biji halba, kepekatan 300µL/ml telah menunjukkan aktiviti antioksidan yang tertinggi pada 9.58% berbanding kepekatan yang lain. Hasil ini telah menunjukkan bahawa kepekatan ekstrak yang paling rendah mempunyai aktiviti antioksidan yang paling tinggi. Maka, berdasarkan aktiviti antioksidan yang tinggi pada kepekatan 300uL/ml, kebolehan minyak pati biji halba untuk memberikan kesan antioksidan apabila diformulasikan ke dalam krim topikal turut dinilai.

Penilaian pencirian seperti penampilan, warna, kebolehcucian, pH dan kebolehsbaran dijalankan ke atas formulasi krim di mana keempat-empat formulasi krim menunjukkan penampilan dalam bentuk separa pepejal yang memiliki tekstur yang lembut dan berwarna putih (Vivianne et al. 2015). Tekstur lembut separa pepejal yang diperolehi adalah penampilan krim yang lazim didapati

daripada penggunaan formulasi emulsi minyak-dalam-air (Aulton & Wells, 2002). Semua formulasi krim yang disediakan menunjukkan ia mudah dicuci dan memiliki nilai pH dalam julat 4.25 – 4.82 yang berada dalam julat pH kulit manusia yang normal iaitu pH 4 – 7 (Chen et al. 2016). Dalam konteks ini, produk pembersihan dan penjagaan kulit dengan tahap pH 4.0 - 5.0 mungkin membantu.

Di samping itu, ujian kebolesehsebaran menunjukkan formulasi krim kawalan mempunyai kadar kebolesehsebaran yang lebih baik berbanding formulasi yang lain. Kebolesehsebaran adalah ciri yang diinginkan untuk formulasi krim seperti yang dilaporkan oleh Avish and Swaroop (2018) dimana semakin tinggi nilai penyebarannya, semakin baik penggunaan krim pada kulit. Walaupun penambahan minyak pati mengurangkan penyebaran krim, tiada perbezaan yang signifikan yang diperhatikan dengan krim kawalan. Antara formulasi yang mempunyai ekstrak, F3 mempunyai kebolesehsebaran tertinggi yang mungkin disebabkan oleh kepekatan ekstrak yang lebih tinggi pada 10% yang terdapat dalam formulasi tersebut.

Berikutan ini, bagi mengetahui tahap kestabilan formulasi krim pada suhu dan tempoh masa yang berbeza, ujian kestabilan dijalankan ke atas keempat-empat formulasi krim. Tujuan utama ujian kestabilan farmaseutikal dijalankan adalah untuk memberikan jaminan yang munasabah bahawa produk akan kekal pada tahap kualiti yang boleh diterima sepanjang tempoh di mana produk tersebut berada di pasaran (Kommanaboyina dan Rhodes, 1999). Untuk ujian kestabilan kajian ini, formulasi krim telah disimpan di tempat yang berbeza suhu iaitu 4°C dan suhu bilik (28°C). Perubahan nilai pH dan kebolesehsebaran krim serta perubahan warna diperhatikan pada hari 0, hari ke-30 dan ke-90. Hasil kajian didapati penilaian warna bagi semua formulasi krim adalah stabil kerana tiada perubahan warna yang berlaku sepanjang tempoh kajian dijalankan berdasarkan pemarkahan semi-kuantitatif (Viviane et al. 2015).

Nilai pH tertinggi (5.40) dilaporkan dalam F1 yang diformulasikan dengan 3% w/w minyak pati biji halba apabila disimpan di suhu bilik pada hari ke-30. Selain itu, pada hari ke-90, F1 turut mempunyai nilai pH tertinggi iaitu 4.80 di suhu bilik. Mauro et al (2004) menekankan bahawa pH yang sedikit asidik adalah lebih baik untuk aplikasi topikal kulit untuk meningkatkan penyerapan kulit dan hidrasi. Ini adalah sejajar dengan nilai pH yang ditunjukkan oleh ujian kestabilan krim. Antara kedua-dua suhu penyimpanan, suhu bilik didapati sebagai suhu penyimpanan terbaik untuk krim. Menurut Shetty et al (2021), sekiranya krim disimpan pada suhu yang melampau (terlalu panas atau terlalu sejuk), ia mungkin kehilangan sifatnya. Ini menjadikan suhu bilik sebagai suhu yang ideal

untuk menyimpan formulasi. Walau bagaimanapun, terdapat trend turun naik dalam pH semua formulasi pada kedua-dua suhu penyimpanan yang mungkin disebabkan oleh faktor persekitaran yang tidak stabil seperti suhu dan kemungkinan pendedahan kepada udara. Namun perubahan ini adalah tidak signifikan dan didapati berada pada julat yang berpatutan dan sesuai untuk penggunaan.

Selain itu, ujian kestabilan terhadap kebolesehsebaran juga telah dijalankan. Kebolesehsebaran juga merupakan ciri yang diinginkan untuk formulasi krim kulit (Avish & Swaroop 2018). Semakin tinggi penyebarannya, semakin baik penggunaan krim pada kulit. Hasil kajian menunjukkan formulasi krim yang disimpan pada suhu 28°C memberikan bacaan yang paling tinggi berbanding suhu 4°C, dimana bacaan kebolesehsebaran formulasi krim didapati menurun secara beransur-ansur mengikut tempoh masa kajian dijalankan. Variasi kebolesehsebaran didapati berlaku disebabkan oleh perbezaan suhu terhadap formulasi krim yang diuji (Viviane et al. 2015) tanpa mengira formulasi yang digunakan. Walau bagaimanapun, formulasi F3 didapati mempunyai kadar penyebaran tertinggi pada suhu 28°C pada hari ke-30 dan ke-90. Ini adalah selaras dengan hasil kajian Savary et al (2016) yang menguji analisis tekstur untuk menilai sifat penyebaran emulsi kosmetik dan mendapati bahawa komposisi fasa berminyak mempunyai kesan yang ketara terhadap penyebaran. Oleh itu, semakin tinggi kepekatan minyak pati, semakin tinggi kebolesehsebaran krim.

Selain itu, ujian sensitiviti kulit juga merupakan ujian yang perlu dijalankan sebelum setiap produk topikal dikeluarkan bagi memastikan ia selamat digunakan. Ujian ini dijalankan ke atas lima sukarelawan wanita dan lelaki dan hasil ujian ini dinilai berdasarkan pemarkahan semi-kuantitatif (OECD, 2005) bagi setiap reaksi yang diperhatikan ke atas kulit setelah 24 jam pengaplikasian krim topikal. Hasil kajian menunjukkan tiada sebarang kerengsaan kulit atau reaksi yang berlaku ke atas semua sukarelawan. Hal ini membuktikan bahawa keempat-empat formulasi krim adalah selamat digunakan sebagai krim topikal dan tidak menghasilkan kesan alahan. Begitu juga, Akhtar et al. (2010) melaporkan bahawa penggunaan minyak pati biji halba tidak memberikan sebarang kerengsaan kulit dan ianya adalah tidak toksik kepada kulit.

Manakala ujian hemolisis *in vitro* digunakan untuk menilai tahap hemolisis dan denaturasi protein dalam sel darah merah yang disebabkan oleh sebarang perengsa dalam produk kosmetik (Zhang et al. 2016). Ujian hemolisis *in vitro* menilai pelepasan hemoglobin dalam plasma sebagai penunjuk lisis sel darah merah berikutan pendedahan kepada agen ujian (OECD, 2005). Sekiranya bahan tidak

menghasilkan hemolisin dan tidak memecahkan sel darah, tiada hemolisis yang akan berlaku (Aryal et al. 2018). Krim dengan aktiviti antioksidan tertinggi, F1, telah diuji melalui ujian hemolisis *in vitro* dan didapati tidak menunjukkan sebarang kesan hemolisis selepas pendedahan selama 24 jam. Berdasarkan pemerhatian media agar yang tidak menunjukkan sebarang zon yang pudar di sekeliling krim, krim ini boleh diklasifikasikan sebagai tidak toksik kepada kulit manusia dan boleh digunakan dengan selamat secara topikal. Hasil pemerhatian ini turut disokong oleh ujian sensitiviti kulit yang telah dijalankan untuk membuktikan tiada kesan toksik yang dihasilkan oleh krim yang telah diformulasikan ini.

Selain itu, ujian aktiviti antioksidan juga dijalankan ke atas formulasi krim dengan menggunakan kaedah asai pemusnahan radikal bebas DPPH (Imamovic dan Alisaphic, 2021). Aktiviti antioksidan formulasi krim telah dikaji pada hari ke-0 dan hari ke-90 apabila disimpan pada dua suhu yang berbeza, iaitu suhu bilik (28°C) dan 4°C. Formulasi F1 menunjukkan peratusan tertinggi aktiviti antioksidan pada semua suhu dan tempoh penyimpanan. Kajian lepas aktiviti antioksidan ekstrak etanol yang dijalankan pada ekstrak *Nardostachys jatamansi* yang diformulasikan kepada krim didapati mempunyai aktiviti tertinggi (94.1%) pada kepekatan 100 µg/mL (Mishra et al, 2014). Ini menunjukkan bahawa krim yang telah diformulasi dengan minyak pati halba dalam kajian ini mempunyai aktiviti antioksidan yang baik pada 87.21% dan setanding dengan krim herba lain yang telah dirumuskan dengan ekstrak lain. Walau bagaimanapun, aktiviti antioksidan didapati menurun apabila kepekatan ekstrak dalam formulasi ditingkatkan. Sebatian yang tidak stabil dan bersifat volatil dalam minyak pati, di samping kemungkinan perubahan aktiviti perlindungan antioksidan yang mampu bertindak sebagai prooksidan adalah antara sebab penurunan aktiviti antioksidan selaras dengan peningkatan kepekatan yang digunakan (Mimica-Dukic et al. 2016). Penukaran antioksidan kepada prooksidan amat bergantung kepada kepekatan sesuatu bahan. Kajian lepas telah mendapati bahawa beberapa terpenoid apabila hadir dalam kepekatan rendah dapat melindungi DNA daripada kerosakan, manakala apabila terdapat dalam kepekatan tinggi, ia meningkatkan kerosakan DNA (Hamden et al. 2011). Justeru, faktor ini mungkin menjelaskan mengapa kepekatan terendah ekstrak tertentu menghasilkan aktiviti antioksidan yang lebih tinggi (Mimica-Dukic et al. 2016). Minyak pati biji halba adalah antara bahan yang kaya dengan terpenoid (Hamden et al. 2011) dan melalui kajian ini didapati perlu digunakan pada kepekatan yang tertentu untuk mendapatkan kesan antioksidan yang terbaik.

LIMITASI DAN ARAH TUJU MASA DEPAN

Kajian ini mempunyai limitasi dimana hanya tiga kepekatan pati biji halba dan formulasi telah digunakan. Tambahan pula hanya 10 individu telah diuji untuk ujian sensitiviti kulit. Kajian lanjut boleh dilaksanakan agar mendapat hasil yang lebih efektif. Berikut merupakan cadangan penyelidikan untuk kajian lanjut; i) menjalankan kajian dengan menggunakan pelbagai sumber minyak pati biji halba pada masa akan datang kerana kebolehubahan komponen kimia minyak pati berpotensi menjejaskan aktiviti antioksidan, ii) menjalankan prosedur ujian antioksidan yang berbeza untuk mengukur dengan tepat aktiviti antioksidan minyak pati biji halba, iii) menilai secara kuantitatif ciri-ciri lain formulasi krim seperti kelikatan krim dengan menggunakan viscometer dan iv) menjalankan ujian biokeselamatan yang lebih lanjut ke atas semua formulasi krim.

KESIMPULAN

Penggunaan produk kosmetik berasaskan bahan semulajadi yang kaya dengan sifat antioksidan semakin mendapat sambutan untuk penjagaan kulit. Kajian yang telah dijalankan ini telah menguji penggunaan minyak pati biji halba sebagai alternatif baru dalam pembentukan krim penjagaan kulit yang bersifat antioksidan daripada bahan sumber semula jadi. Krim yang diformulasikan berasaskan fasa minyak dalam air telah menunjukkan sifat organoleptik dan kestabilan yang baik dan konsisten sepanjang tempoh kajian. Tiada perubahan ketara yang diperhatikan dalam parameter yang diuji seperti pH dan kebolehubahan krim. Justeru, kajian ini menunjukkan bahawa minyak pati biji halba boleh digabungkan ke dalam krim asas dengan perubahan minimum kepada sifat krim asas tersebut. Ujian biokeselamatan yang dijalankan ke atas krim seperti ujian sensitiviti kulit dan asai hemolisis *in vitro* juga telah menunjukkan bahawa tiada sebarang bahan toksik dalam formulasi krim yang boleh menyebabkan reaksi kulit atau kerengsaan. Secara keseluruhannya, krim yang telah dirumuskan didapati kekal stabil selama 90 hari dan menunjukkan ciri-ciri organoleptik dan perubahan pH yang bersesuaian untuk penggunaan topikal pada kulit serta sifat antioksidan yang berpatutan. Formulasi pilihan daripada kajian ini ialah F1 (3% w/w minyak pati biji halba pada kepekatan 300µg/ml) yang menunjukkan aktiviti antioksidan tertinggi sehingga 90 hari dan paling stabil apabila disimpan pada suhu bilik, 28°C.

RUJUKAN

- Akbari, S., Abduhrahman, N.H., Mohd Yunus, R., Alara, O.R. & Abayomi, O.O. 2018. Extraction, Characterization and Antioxidant Activity of Fenugreek (*Trigonella-Foenum Graecum*) Seed Oil.
- Akhtar, N., Waqas, M.K., Ahmed, M. & Saeed, T. 2010. Effect of Cream Formulation of Fenugreek Seed Extract on Some Mechanical Parameters of Human Skin. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 9 (4): 329-337.
- Aryal, S., Baniya, M.K., Danekhu, K. & Kunwar, P. 2018. Total Phenolic Content, Flavonoid Content and Antioxidant Potential of Wild Vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4): 96.
- Aulton, M. E. & Wells, T. 2002. *Pharmaceutics: The Science of Dosage from Design*, Churchill Livingstone London.
- Avish, D.M. & Swaroop, R. L. 2018. Formulation and Evaluation of Moisturizing Cream Containing Sunflower Wax. *Int J Pharm Pharm Sci*, Vol 10, Issue 11,
- Chen, M.X., Alexander, K.S. & Baki, G. 2016. Formulation and Evaluation of Antibacterial Creams and Gels Containing Metal Ions for Topical Application. *Journal of Pharmaceutics*, Vol. 2016:10.
- Hamden, K., Keskes, H. & Belhaj, S. 2011. Inhibitory Potential of Omega-3 Fatty and Fenugreek Essential Oil on Key Enzymes of Carbohydrate-digestion and Hypertension in Diabetes Rats. *Lipids in Health and Disease*, 226..
- Hendrawati, A., K. S., N., & Aulia, A. M. 2019. Formulation of The Body Scrub Cream Containing Moringa Seed Powder (*Moringa oleifera*) And Its Examination Dermal Acute Irritation. *International Journal of GEOMATE*, Oct., Vol.17, Issue 62: 244-249.
- Imamovic, B. & Alisaphic, A. 2021. Assessment of the Suitability of Methods for Testing the Antioxidant Activity of Anti-Aging Creams. *Applied Sciences* 11(4): 1358.
- Jaya, G., Snehal, M. & Navin B. 2015. Formulation and Characterization of Herbal Cream Containing Fenugreek Seed Extracts. *International Journal of Scientific and Research Publications*. Vol 5: 10.
- Khorsidian, N., Yousefi, M. & Arab, M. 2016. Fenugreek: Potential Applications as a Functional Food and Nutraceutical. *Nutrition and Food Sciences Research*, 3(1): 5-16.
- Kommanaboyina, B. & Rhodes, C.T. 1999. Trends in Stability Testing, with Emphasis on Stability during Distribution and Storage. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 25: 857-868.
- Lukic, M., Pantelic, I. & Savic, S.D. 2021. Towards Optimal pH of the Skin and Topical Formulations: From the Current State of the Art to Tailored Products. *Cosmetics*, 8(69).
- Mauro, T.M., Fluhr, J.W., Behne, M.J. & Brown, B.E. 2004. Stratum Corneum Acidification in Neonatal Skin: Secretory Phospholipase A2 and the Sodium/Hydrogen Antiporter-1 Acidify Neonatal Rat Stratum Corneum. *Journal of Investigative Dermatology*, 122(2): 320-329.
- Mimica-Dukic, N., Sibul, F. & Orcic, D. 2016. Essential Oils as Powerful Antioxidants: Misconception or Scientific Fact?. Cornell University.
- Mishra, A.P., Sakara, S. & Tiwari, P. 2014. Formulation and Evaluation of Herbal Antioxidant Face Cream of *Nardostachys jatamansi* Collected from Indian Himalayan Region. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*. Vol 4 (2): S679-S682.
- Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD). 2005. Guidance Notes on Dermal Absorption.
- Pimpale, A. 2018. Formulation and Evaluation of Antibacterial, Antifungal Cream of Garlic Oil. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development (IJTSRD)*, 3(1).
- Saeed, N., Khan, M.R. & Shabir, M. 2012. Antioxidant Activity, Total Phenolic and Total Flavonoid Contents of Whole Plant Extracts *Torilis leptophylla* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, volume 12, Article number: 221
- Sarkic, A. & Stappen, I. 2018. Essential Oils and Their Single Compounds in Cosmetics—A Critical Review. *Cosmetics*, 5 (11).
- Savary, G., Picard, C. & Grisel, M. 2016. Cosmetics and Personal Care Products. *Natural Polymers*: 219-261
- Shetty, A., Janda, M. & Fry, K. 2021. Clinical Utility of Skin Cancer and Melanoma Risk Scores for Population Screening: TROPCS study. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venerology*.
- Skrovankova, S., Sumczynski, D., Mlcek, J., Jurikova, T. & Sochor, J. 2012. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *International Journal of Molecular Sciences*, 16: 24673-24706.
- Viviane, C. K., Regis, A. N., Mariana, R. B & Margareth, L. A. 2015. Physical Chemistry Evaluation of Stability, Spreadability, *in vitro* Antioxidant, and Photo-protective Capacities of Topical Formulations Containing *Calendula officinalis* L. Leaf Extract. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. Vol. 51.
- Waqas, M. K., Akhtari, N., Ahmad, M., Murtaza, G., Khan, H. M. S., Iqbal, M., Rasul, A., Bhatti, NS. 2010. Formulation and Characterization of a Cream Containing Extract of Fenugreek Seeds. *Acta Pol Pharm* 67: 173-8.
- Wirasuta, I.M., Triastuti, N.K., Deviyanthi, K.S., Sartika, D.S. & Utari, P.D. 2018. Formulation of The Body Scrub Cream from Purple Sweet Potato (*Ipomoea batatas* L.). *IJPST* - 5(1), 26-30.
- Wissal, A., Mohamed, A., Fatouma, M. & Ouassil, M. 2021. Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Trigonella foenum-graecum* Essential Oil from The Region of Settat (Morocco). *Pharmacology Online* (2): 434-442.
- Zhang, Z.Z., Lee, E.E. & Sudderth, J. 2016. Glutathione Depletion, Pentose Phosphate

Pathway Activation, and Hemolysis in Erythrocytes Protecting Cancer Cells from Vitamin C-induced Oxidative Stress. *Journal of Biochemical Chemistry*, 291(94): 22861-22867.

LAMPIRAN 1

WRITTEN INFORMED CONSENT Informed Consent to Participate in a Research Study

Universiti Kebangsaan Malaysia,
Campus of Kuala Lumpur.

Title of Research Project : Formulation and Evaluation of Fenugreek Essential Oil
Enriched Cosmeceutical Skin Cream With Antioxidant
Properties
Name of Researcher : Bashobhini Suresh Kumar
Phone Number of Researcher: 019-5739812

A. PURPOSE AND BACKGROUND

The purpose of your participation in this research is to help the researcher in evaluating the physical properties of fenugreek seed oil enriched antioxidant cream in regards to its sensory evaluation and skin irritability test.

B. PROCEDURES

If you agree to participate in this research study, the following will be required :

1. You will be required to apply the creams prepared in different concentrations of fenugreek seed essential oil in circular motion on your dorsal left-hand surface.
2. Wash the cream off with water after ten seconds of application.
3. Check for any signs of irritation within the next 24 hours of application and kindly fill up the score in the given table at the end of the form.
4. This information will be used by the researcher for skin irritability as well as creams organoleptic characteristic evaluation.

C. RISKS

The application of the cream is generally safe, but you may experience some reaction such as redness and itchiness at the application site if you are allergic to the components in the cream.

D. CONFIDENTIALITY

The records from this study are confidential and will only be accessible to research personnel involved. No individual identities will be used in any reports or publications resulting from the study. All data's resulting from the study will be disclosed upon completion of the research project.

E. BENEFITS OF PARTICIPATION

The study is voluntary in basis. The anticipated benefit of your participation in this study is by contributing to the researcher on evaluating the organoleptic properties and skin irritability test of the fenugreek seed essential oil enriched antioxidant cream.

F. VOLUNTARY PARTICIPATION

Your decision whether to participate in this study is voluntary. If you choose to participate in this study, you can withdraw your consent and discontinue participation at any time without prejudice.

BORANG PEMAKLUMAN PERSETUJUAN

CONSENT

YOU ARE MAKING A DECISION WHETHER OR NOT TO PARTICIPATE IN A RESEARCH STUDY. YOUR SIGNATURE BELOW INDICATES THAT YOU HAVE DECIDED TO PARTICIPATE IN THE STUDY AFTER READING ALL OF THE INFORMATION ABOVE AND YOU UNDERSTAND THE INFORMATION IN THIS

FORM, AND HAVE HAD ANY QUESTIONS ANSWERED PRIOR

Signature of Research Participant

Date

Formulation and Evaluation of Fenugreek Seed Essential Oil Enriched
Cosmeceutical Skin Cream With Antioxidant Properties

SENSORY ANALYSIS

Sensory attributes	Description	F1F2F3
Appearance	Refers to colour and glossiness of the cream (Scale: 1- no colour or glossiness, 10 – deep colour	

	and very glossy)
Consistency	Refers to the liquid/semisolid feel of the cream (Scale: 1- solid, 10- watery)
Smell	Odour of cream (Scale: 1- no smell, 10- extremely strong smell)
Spreadability	Refers to the amount area the cream could cover during a circular application (Scale: 1- does not spread well, 10- extremely spreadable)
Adhesion	Refers to the amount of cream that stays on the finger upon contact (Scale: 1- does not stick to finger, 10- easily sticks on the finger)
Skin smell	Odour on skin upon application (Scale: 1- no smell, 10 – extremely strong smell)

SKIN IRRITABILITY ANALYSIS

Scoring Criteria

0 No reaction

1 Redness *Redness – Skin colour turn red without itchiness

2 Erythema *Erythema – Any abnormal redness with itchiness

3 Ulceration

Cream formulation	Scores	Comments (optional)
F1		
F2		
F3		

Thank you for your participation.