



UNIVERSITAS INDONESIA

**STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
NANOEMULSI MINYAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa* Linn.
seed oil) SEBAGAI SEDIAAN NUTRASETIKA**

SKRIPSI

**AYUN ERWINA ARIFIANTI
0806327723**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI SARJANA REGULER FARMASI
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
NANOEMULSI MINYAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa* Linn.
seed oil) SEBAGAI SEDIAAN NUTRASETIKA**

SKRIPSI

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Farmasi**

**AYUN ERWINA ARIFIANTI
0806327723**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI SARJANA REGULER FARMASI
DEPOK
JUNI 2012**

SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME

Saya yang bertanda tangan di bawah ini dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi ini saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai dengan peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika di kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme, saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang dijatuhkan oleh Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 22 Juni 2012




Ayun Erwina Arifianti

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk telah saya nyatakan dengan benar.

Nama : Ayun Erwina Arifianti

NPM : 0806327723

Tanda Tangan : 

Tanggal : 22 Juni 2012

HALAMAN PENGESAHAN

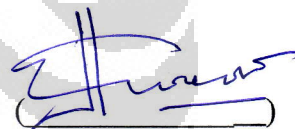
Skripsi ini diajukan oleh :

Nama : Ayun Erwina Arifianti
NPM : 0806327723
Program studi : Sarjana Reguler Farmasi
Judul skripsi : Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Nanoemulsi
Minyak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn. seed oil)
sebagai Sediaan Nutrasetika

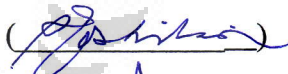
Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi.

DEWAN PENGUJI

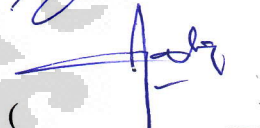
Pembimbing : Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S.



Penguji I : Pharm. Dr. Joshita Djajadisastra M.S., Ph.D



Penguji I : Dr. Katrin M.S.



Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 25 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan hanya kepada Allah SWT atas segala limpahan rahmat dan kasih sayang-Nya sehingga penulis mampu menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Penulisan skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyusunan skripsi ini, sangatlah tidak mungkin dalam menyelesaikan skripsi ini tepat pada waktunya. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, MS, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan dan fasilitas selama masa perkuliahan, penelitian hingga penulisan skripsi.
2. Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S selaku dosen pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, bantuan, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan skripsi ini.
3. Prof. Drs. Maksun Radji, M.Biomed, Apt. selaku pembimbing akademik yang telah memberikan bimbingan dan bantuan selama penulis menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI.
4. Dr. Abdul Mun'im, MS, Raditya Iswandana, S.Farm, Apt., Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan selama menempuh pendidikan di Departemen Farmasi FMIPA UI hingga penyusunan skripsi ini.
5. Pak Edi Junaedi, SP. (PT. Prima Agritech Nusantara) dan PT. BSAF Care Chemicals Indonesia yang telah bersedia memberikan bantuan bahan yang digunakan pada penelitian ini.
6. Mama, kakak, abang, mbah, om dan seseorang yang senantiasa memberikan kasih sayang, semangat, doa, dan berbagai dukungan lainnya demi kelancaran studi penulis.

7. Mbak Devfa, Bapak Imih, Mbak Lia, Mbak Ulfa serta semua laboran dan staf lain atas segala bantuan dan kerja samanya selama masa perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini.
8. Teman-temanku di Bina Antarbudaya-AFS Chapter Bogor, dan Tim Robotika Universitas Indonesia atas bantuan, semangat, dan dukungannya.
9. Partner penelitianku Septi Hanna, teman-teman satu bimbingan Prof. Effi, dan teman-teman penelitian, khususnya KBI Farmasetika, Teknologi Farmasi, dan Fitokimia serta teman-teman farmasi angkatan 2008 atas kerja sama, dukungan, dan kebersamaannya selama penelitian berlangsung.
10. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan namanya satu persatu yang telah membantu proses penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Penulis berharap Allah SWT berkenan membalas segala kebaikan semua pihak yang telah membantu. Penulis menyadari bahwa masih terdapat kekurangan dalam skripsi ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun untuk kesempurnaan skripsi ini. Mudah-mudahan skripsi ini memberikan manfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya dalam dunia farmasi, dan masyarakat pada umumnya.

Penulis

2012

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ayun Erwina Arifianti
NPM : 0806327723
Program Studi : Sarjana Reguler Farmasi
Departemen : Farmasi
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis karya : Skripsi

demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul :

Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Nanoemulsi Minyak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn. *seed oil*) sebagai Sediaan Nutrasetika

beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 22 Juni 2012

Yang menyatakan



(Ayun Erwina Arifianti)

ABSTRAK

Nama : Ayun Erwina Arifianti
Program Studi: Sarjana Reguler Farmasi
Judul : Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Nanoemulsi Minyak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn. *seed oil*) sebagai Sediaan Nutrasetika

Stres pada tubuh manusia akan menghasilkan banyak radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit. Kondisi ini diperparah dengan adanya radikal bebas yang banyak dihasilkan dari luar tubuh. Walaupun tubuh memiliki beberapa mekanisme pertahanan diri terhadap radikal bebas, namun pertahanan tersebut belum cukup untuk melawan tingginya paparan radikal bebas yang ada sehingga dibutuhkan asupan antioksidan dari luar seperti nutrasetika. Oleh karena itu, dikembangkan nutrasetika dari minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa* Linn.) dalam bentuk sediaan yang nanoemulsi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan dari nanoemulsi minyak biji jinten hitam. Uji kestabilan fisik dilakukan dengan pengamatan nanoemulsi yang disimpan pada tiga suhu yang berbeda, yaitu suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$); uji sentrifugasi; dan *cycling test*. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan metode peredaman radikal DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil). Hasil menunjukkan formula I memiliki stabilitas fisik terbaik dibandingkan dengan formula lainnya. Aktivitas antioksidan nanoemulsi minyak biji jinten hitam yang diformulasi lebih rendah daripada aktivitas minyak biji jinten hitam. Penyimpanan sediaan dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan.

Kata kunci : aktivitas antioksidan, d-alfa tokoferol, DPPH, minyak biji jinten hitam, nanoemulsi, nutrasetika, radikal bebas, stabilitas fisik, stres

xvi + 85 halaman: 18 gambar; 14 tabel; 16 lampiran

Daftar acuan : 52 (1976-2011)

ABSTRACT

Name : Ayun Erwina Arifianti
Study Program : Regular Bachelor of Pharmacy
Title : Physical Stability and Antioxidant Activity Nanoemulsion from Black Cumin Seed Oil (*Nigella sativa* Linn. Seed Oil) as Nutraceutical Dosage Form

Human stress produce a lot of free radical causing various illness. This condition is worsened by exogenous free radical. Although human body has several defense mechanisms to free radical, but it is not sufficient to overcome high exposure of existing free radical so that intake of nutraceutical is needed. Therefore, nutraceutical dosage form from Black Cumin seed oil (*Nigella sativa* Linn.) in nano emulsion is developed. The objective of this research was to identify physical stability and antioxidant activity of nanoemulsion from Black Cumin seed oil. Physical stability test was conducted through nanoemulsion observation in three different temperature, which are low ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), ambience ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$), and high temperature ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$); centrifugation test; and cycling test. Antioxidant activity was determined by DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical method. The result of the study showed that Formula I has the best physical stability among others. In conclusion, antioxidant activity nanoemulsion from Black Cumin seed oil is low compared to Black Cumin seed oil itself. Storage can influence antioxidant activity.

Keyword : antioxidant activity, d-alpha tocopherol, DPPH, Black Cumin seed oil, nanoemulsion, nutraceutical, free radical, physical stability, stress

xvi + 85 pages : 18 figures; 14 tables; 16 appendices

Bibliography : 52 (1976-2012)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS.....	iv
HALAMAN PENGESAHAN.....	v
KATA PENGANTAR	vii
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xiv
DAFTAR TABEL.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang.....	1
1.2. Tujuan Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1. Radikal Bebas dan Antioksidan	4
2.2. Nutrasetika	7
2.3. Tanaman Jinten Hitam	7
2.3.1 Tanaman Jinten Hitam	7
2.3.2 Deskripsi Tanaman Jinten Hitam	8
2.3.3 Deskripsi Simplisia Biji Jinten Hitam.....	8
2.3.4 Khasiat Tanaman Jinten Hitam	9
2.3.5 Kandungan Biji Jinten Hitam.....	10
2.3.6 Cara Ekstraksi Minyak Biji Jinten Hitam	12
2.4. Nanoemulsi	13
2.4.1 Deskripsi Nanoemulsi	13
2.4.2 Kelebihan dan Kekurangan Nanoemulsi.....	14
2.4.3 Formulasi dan Komposisi Nanoemulsi	15
2.4.3.1 Fase Minyak.....	15
2.4.3.2 Surfaktan.....	15
a. Deskripsi Surfaktan.....	16
b. Jenis-jenis Surfaktan	16
c. Deskripsi HLB	17
2.4.3.3 Kosurfaktan.....	18
2.4.4 Cara Pembuatan Nanoemulsi	18

2.5.	Monografi Bahan	19
2.5.1	Minyak Biji Jinten Hitam.....	19
2.5.2	Tween 80.....	19
2.5.3	Sorbitol.....	20
2.5.2	Aquademineralisata.....	20
2.6.	Stabilitas Nanoemulsi	21
2.7.	Spektrofotometri UV-Vis.....	21
2.8.	Uji Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).....	22
BAB 3.	METODE PENELITIAN.....	24
3.1.	Lokasi	24
3.2.	Bahan	24
3.3.	Alat.....	24
3.4.	Cara Kerja	25
3.4.1	Formulasi Nanoemulsi	25
3.4.2	Pembuatan Nanoemulsi Minyak Biji Jinten Hitam.....	25
3.5.3	Evaluasi Sediaan Nanoemulsi	25
3.4.3.1	Organoleptis.....	25
3.4.3.2	Uji pH	25
3.4.3.3	Penentuan Bobot Jenis.....	26
3.4.3.4	Pengukuran Distribusi Ukuran Globul	26
3.4.3.6	Uji Stabilitas Fisik	27
a.	<i>Cycling Test</i>	27
b.	Uji Sentrifugasi	27
c.	Suhu Tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$).....	27
d.	Suhu Kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$)	27
e.	Suhu Rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)	27
3.4.3.7	Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH....	28
a.	Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm	28
b.	Penyiapan Sampel Minyak Biji Jinten Hitam.....	28
c.	Penyiapan Sampel Nanoemulsi.....	28
d.	Penyiapan Sampel d-alfa Tokoferol 1300 UI	29
e.	Penyiapan Sampel Sediaan Komersial dalam Kapsul Lunak	29
f.	Uji Pendahuluan dengan Larutan DPPH 40 ppm (Uji Kualitatif)	29
g.	Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH (Uji Kuantitatif).....	29

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
4.1. Formulasi dan Pembuatan Nanoemulsi.....	31
4.2. Hasil Evaluasi Sediaan Nanoemulsi.....	32
4.2.1 Hasil Evaluasi Organoleptis.....	32
4.2.2 Uji pH.....	33
4.2.3 Penentuan Bobot Jenis	33
4.2.4 Pengukuran Distribusi Ukuran Globul.....	33
4.2.5 Uji Viskositas	34
4.2.6 Uji Stabilitas Fisik Nanoemulsi	35
4.2.6.1 Pengamatan <i>Cycling Test</i>	35
4.2.6.2 Uji Sentrifugasi	36
4.2.6.3 Penyimpanan pada Suhu Rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), Suhu Kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan Suhu Tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)	37
a. Pengamatan Organoleptis.....	37
b. Pengukuran pH	38
4.2.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	39
4.2.7.1 Uji Kualitatif DPPH.....	39
4.2.7.2 Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH.....	40
a. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum	40
b. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH	41
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	44
5.1. Kesimpulan	44
5.2. Saran	44
DAFTAR ACUAN	45

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1. Pembentukan radikal bebas	5
2.2. Efek <i>reactive oxygen species</i> (ROS)	5
2.3. Penyakit-penyakit akibat radikal bebas	6
2.4. Hubungan nutrasetika dengan produk kesehatan lainnya.....	7
2.5. Tanaman jinten hitam (<i>Nigella sativa</i> L.).....	8
2.6. Biji jinten hitam	9
2.7. Foto minyak biji jinten hitam	50
4.1. Foto awal semua formula nanoemulsi	32
4.2. Hasil <i>cycling test</i>	36
4.3. Hasil uji sentrifugasi.....	37
4.4. Grafik perubahan pH formula I pada berbagai suhu penyimpanan.....	38
4.5. Grafik perubahan pH formula II pada berbagai suhu penyimpanan	39
4.6. Grafik perubahan pH formula III pada berbagai suhu penyimpanan	39
4.7. Foto nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu rendah ($4 \pm 2^{\circ}\text{C}$)	51
4.8. Foto nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu kamar ($29 \pm 2^{\circ}\text{C}$).....	52
4.9. Foto nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu tinggi ($40 \pm 2^{\circ}\text{C}$).....	53
4.10. Spektrum serapan DPPH 40 ppm dengan pelarut toluen p.a.....	41
4.11. Hasil uji kualitatif DPPH 50 ppm terhadap minyak biji jinten hitam dan sediaan komersial	54

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
2.1. Komposisi biji jinten hitam	11
2.2. Kandungan asam lemak dari minyak lemak (<i>fixed oil</i>) <i>Nigella sativa</i> L.	12
2.3. Komponen fungsional dari minyak lemak (<i>fixed oil</i>) <i>Nigella sativa</i> L. ...	12
3.1. Formulasi nanoemulsi minyak biji jinten hitam	25
4.1. Hasil evaluasi nanoemulsi pada minggu ke-0	55
4.2. Hasil <i>cycling test</i> selama 6 siklus	36
4.3. Hasil pengamatan uji sentrifugasi 3800 rpm selama 5 jam	36
4.4. Hasil pengamatan organoleptis nanoemulsi pada suhu kamar (29±2°C) selama 8 minggu	56
4.5. Hasil pengamatan organoleptis nanoemulsi pada suhu tinggi (40±2°C) selama 8 minggu	57
4.6. Hasil pengamatan organoleptis nanoemulsi pada suhu rendah (4±2°C) selama 8 minggu	58
4.7. Hasil pengukuran pH nanoemulsi pada suhu tinggi (29±2°C), suhu rendah (4±2°C), dan suhu tinggi (40±2°C) selama 8 minggu	59
4.8. Pengukuran aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam, vitamin E, dan sediaan komersial dengan metode peredaman DPPH pada minggu ke-6	60
4.9. Pengukuran aktivitas antioksidan nanoemulsi formula I, II, dan III dengan metode peredaman DPPH pada minggu ke-6	62
4.10. Pengukuran aktivitas antioksidan nanoemulsi formula I, II, dan III dengan metode peredaman DPPH pada minggu ke-8	64

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Perhitungan HLB minyak biji jinten hitam.....	66
2. Cara perhitungan bobot jenis	68
3. Contoh perhitungan persentase inhibisi minyak biji jinten hitam dengan metode peredaman DPPH	69
4. Hasil uji Kruskal-Wallis terhadap nilai pH ketiga nanoemulsi pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama pengukuran 8 minggu.....	70
5. Hasil pengukuran viskositas nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) di minggu ke-0	72
6. Hasil pengukuran viskositas nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) di minggu ke-8	73
7. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula I pada minggu ke-0.....	74
8. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula II pada minggu ke-0	75
9. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula III pada minggu ke-0.....	76
10. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula I pada minggu ke-8.....	77
11. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula II pada minggu ke-8	78
12. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula III pada minggu ke-8.....	79
13. Hasil analisis komposisi asam lemak minyak biji jinten hitam	80
14. Sertifikat analisis vitamin E	82
15. Sertifikat analisis tween 80	84
16. Sertifikat analisis sorbitol.....	85

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Tidak menentunya kondisi perekonomian dapat menyebabkan banyak orang mengalami stres. Data yang didapat dari Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) yang dilakukan oleh Badan Litbang Departemen Kesehatan Republik Indonesia pada tahun 1995 menunjukkan bahwa terdapat 264 dari 1000 rumah tangga menderita stres (Widyaningsih & Latifah, 2008). Stres pada tubuh manusia akan meningkatkan produksi energi oleh sel sehingga menghasilkan banyak radikal bebas sebagai hasil buangan yang toksik. Kondisi ini diperparah dengan adanya radikal bebas yang banyak dihasilkan dari luar tubuh. Polusi udara (karbon monoksida, formaldehid, asap rokok, ozon, benzen, asbestos, dan toluen), pelarut kimia dalam produk pembersih, lem, dan cat, obat-obatan yang diresepkan dokter atau dijual bebas, parfum, pestisida, polusi air (kloroform, klorin), radiasi UV, makanan yang mengandung senyawa kimia pertanian seperti pupuk kimia dan pestisida, makanan jadi yang mengandung peroksida lemak yang tinggi, pengawet makanan dan makanan yang dibakar, digoreng ataupun dimasak dengan suhu tinggi merupakan berbagai sumber radikal bebas yang poten. Radikal bebas yang dihasilkan tersebut dapat menyebabkan berbagai penyakit pada manusia seperti kanker, Alzheimer, abnormalitas reperfusi jantung, penyakit ginjal, fibrosis, aterosklerosis, infark miokard, dan lain-lain (Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010; Bagchi & Puri, 1998).

Walaupun tubuh memiliki beberapa mekanisme pertahanan diri terhadap radikal bebas seperti rangkaian enzim antioksidan yaitu glutathion peroksidase, superoksida dismutase, dan katalase, serta senyawa antioksidan non enzim, yaitu glutathion dan ubikuinol, namun pertahanan tersebut belum cukup untuk melawan tingginya paparan radikal bebas yang ada sehingga dibutuhkan asupan antioksidan dari luar seperti nutrasetika. Penggunaan antioksidan dari luar tubuh telah terbukti memberikan efek protektif terhadap penyakit-penyakit yang terjadi akibat radikal bebas (Bagchi & Puri, 1998).

Nutrasetika merupakan pengembangan dari sediaan farmasi yang menggunakan komponen non nutrisi dari bahan makanan, baik sebagai bahan utama maupun sebagai rempah-rempah untuk membantu penyembuhan ataupun pencegahan timbulnya suatu penyakit. Salah satu contohnya adalah tanaman jinten hitam (*Nigella sativa* Linn.).

Tanaman jinten hitam yang dikenal sebagai *Habatussaudah*, *Black Cumin* atau *Kalonji* merupakan salah satu tanaman yang telah lama digunakan sebagai bumbu masak diberbagai negara termasuk Indonesia dan negara-negara di kawasan Timur Tengah (Sultan, Butt, Anjum, Jamil, Akhtar, & Nasir, 2009; Wahyuni, 2009). Di Indonesia, tanaman jinten hitam ini banyak ditanam pada daerah Dieng, Lembang, dan daerah pegunungan dengan ketinggian > 700 m di atas permukaan laut (Wahyuni, 2009).

Biji jinten hitam mengandung 0,4-0,45 % b/b minyak atsiri, lebih dari 30 % minyak dengan 85 % total asam lemak tidak jenuh, beberapa triglikosida flavonol, karven, d-limonena, simena dan terpen lainnya, glukosida saponin, protein 22,7 %, asam amino, alkaloid, asam organik, tanin, resin, mineral (Fe, Na, Cu, Zn, P dan Ca), vitamin (asam askorbat, tiamin, niasin, piridoksin, dan asam folat), sterol bebas, dan lain-lain (Zaoui, Cherrah, Mahassini, Alaoui, Amarouch, & Hassar, 2002b; Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989; Ramadan, 2007). Banyak aktivitas biologis dari biji jinten hitam yang telah dilaporkan seperti anthelmintik, antibakteri, antiinflamasi, antitumor, antioksidan, imunomodulator, diuretik, antihipertensi, antidiabetes, antiasma, obat penyakit paru-paru, dan antiarthritis (Haq, Abdullatif, Lobo, Khabar, Sheth, & Al-Sedairy, 1995; Zaoui, Cherrah, Mahassini, Alaoui, Amarouch, & Hassar, 2002a; El-Beshbishy, Mohamadin, & Abdel-Naim, 2009; Tubesha, Iqbal, & Ismail, 2011). Banyak peneliti yaitu Ismail et al. (2010), Khattak et al. (2008), dan Thippeswamy dan Naidu (2005) yang telah melaporkan bahwa *Nigella sativa* memiliki aktivitas antioksidan yang menjanjikan melalui penurunan kekuatan dan inhibisi dari peroksidasi (Tubesha, Iqbal, & Ismail, 2011).

Biji atau bubuk jinten hitam yang diperdagangkan sekarang ini biasanya dikemas dalam bentuk kapsul ataupun minyak biji jinten hitam dalam kemasan botol (Wahyuni, 2009). Pengembangan minyak biji jinten hitam menjadi salah

satu nutrasetika dalam bentuk sediaan yang stabil seperti nanoemulsi menjadi sangat potensial jika terkait dengan banyaknya khasiat yang dimiliki. Nanoemulsi merupakan salah satu bentuk sediaan yang stabil, jernih, tidak merusak sel normal manusia dan hewan, memiliki ukuran globul yang sangat kecil, dan dapat meningkatkan bioavailabilitas nutrasetika (Fanun, 2010; Bhatt & S. Madhav, 2011; Donsi, Wang, & Huang, 2011). Oleh karena itu, pada penelitian ini minyak biji jinten hitam diformulasi sebagai nanoemulsi. Aktivitas antioksidan yang dimiliki oleh biji jinten hitam pun sangat potensial untuk dikembangkan dalam menangkal radikal bebas yang dapat menyebabkan berbagai penyakit sehingga dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil).

1.2 Tujuan penelitian

Mengetahui stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan dari nanoemulsi minyak biji jinten hitam.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas merupakan molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan pada lapisan terluarnya sehingga menjadi tidak stabil (Powers, Deruisseau, Quindry, & Hamilton, 2004). Untuk mendapatkan kestabilannya, radikal bebas yang sangat tidak stabil dan reaktif ini akan menyerang senyawa lain untuk mengambil elektron yang dibutuhkannya. Hal ini akan memulai suatu reaksi berantai yang beruntun hingga menyebabkan terjadinya kerusakan sel hidup.

Tahapan pembentukan radikal bebas biasanya dibagi menjadi 3 proses yaitu (Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010):

a. Inisiasi

Reaksi yang menghasilkan peningkatan jumlah radikal bebas. Reaksi ini dapat terjadi dari pembentukan radikal bebas dari senyawa yang stabil atau melibatkan radikal bebas dengan senyawa yang stabil untuk membentuk lebih banyak radikal bebas.

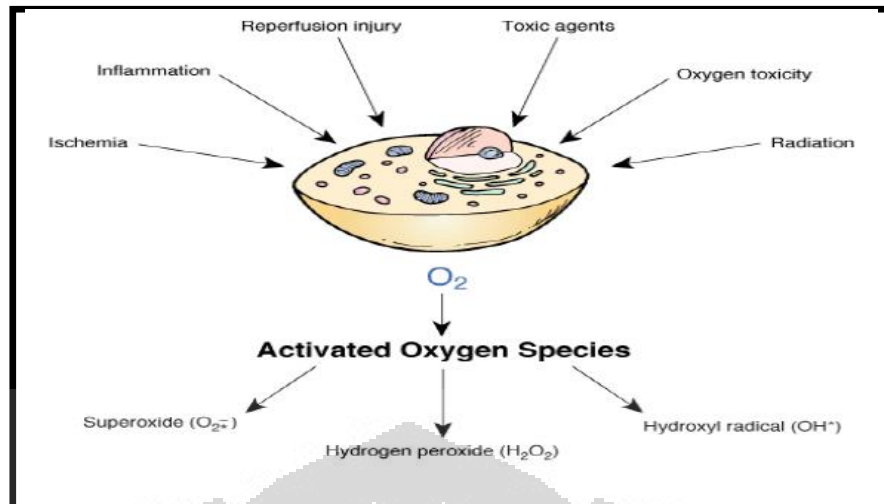
b. Propagasi

Reaksi yang melibatkan radikal bebas dengan jumlah radikal bebas yang sama dengan reaksi inisiasi.

c. Terminasi

Reaksi yang menghasilkan penurunan jumlah radikal bebas. Biasanya 2 radikal bebas membentuk senyawa yang lebih stabil seperti $2\text{Cl}^{\cdot} \rightarrow \text{Cl}_2$.

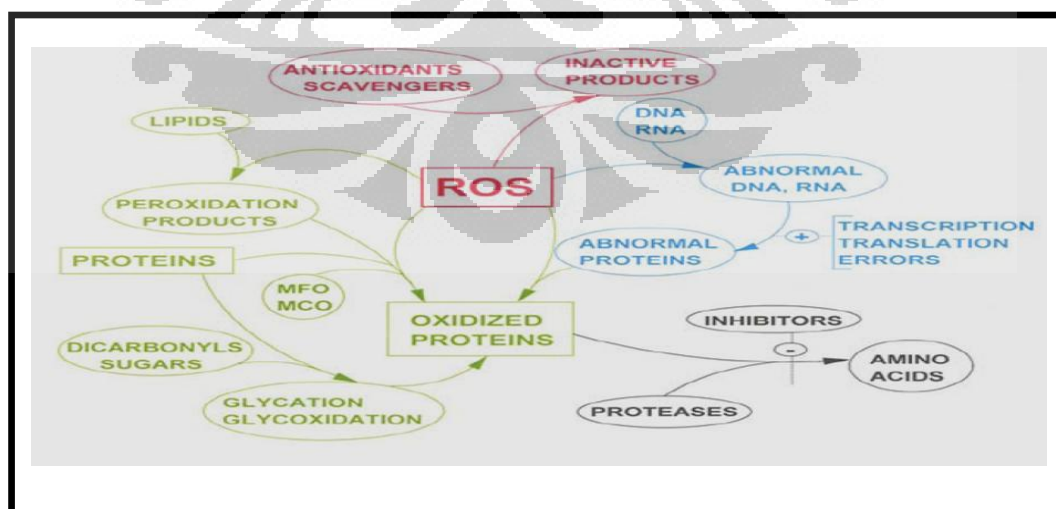
Reactive Oxygen Species (ROS), salah satu radikal bebas yang ada, merupakan molekul yang sangat kecil dan sangat reaktif karena adanya elektron yang tidak berpasangan pada lapisan terluarnya. ROS terbentuk sebagai produk alamiah hasil metabolisme normal dari oksigen dan memiliki peran penting dalam pemberian sinyal antar sel. Dalam kondisi stres dan kondisi lainnya (Gambar 2.1.), jumlah ROS dapat meningkat secara dramatis yang akan menghasilkan kerusakan signifikan pada struktur sel.



[Sumber : Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010, telah diolah kembali]

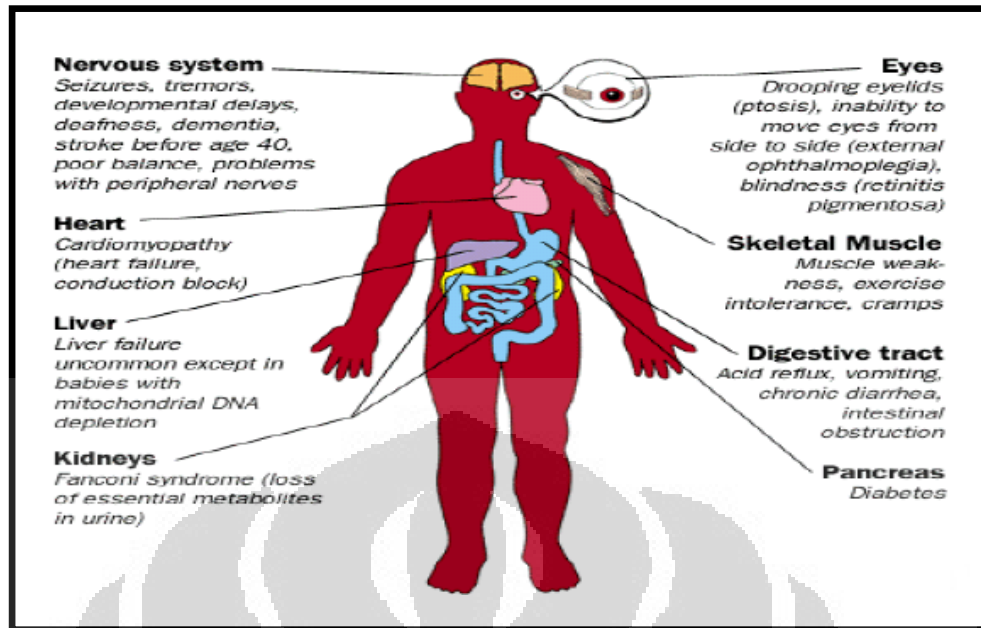
Gambar 2.1 Pembentukan radikal bebas

Secara umum, efek berbahaya *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) yang sering terjadi pada sel (Gambar 2.2) adalah kerusakan DNA, oksidasi dari asam lemak tidak jenuh pada lemak, oksidasi asam amino pada protein, dan inaktivasi enzim spesifik melalui oksidasi dari kofaktor enzimnya (Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010). Radikal bebas tersebut dapat menyebabkan berbagai penyakit pada manusia (Gambar 2.3) seperti kanker, Alzheimer, abnormalitas reperfusi jantung, penyakit ginjal, fibrosis, aterosklerosis, infark miokard, dan lain-lain (Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010; Bagchi & Puri, 1998).



[Sumber : Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010, telah diolah kembali]

Gambar 2.2. Efek *Reactive Oxygen Spesies* (ROS)



[Sumber : Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010, telah diolah kembali]

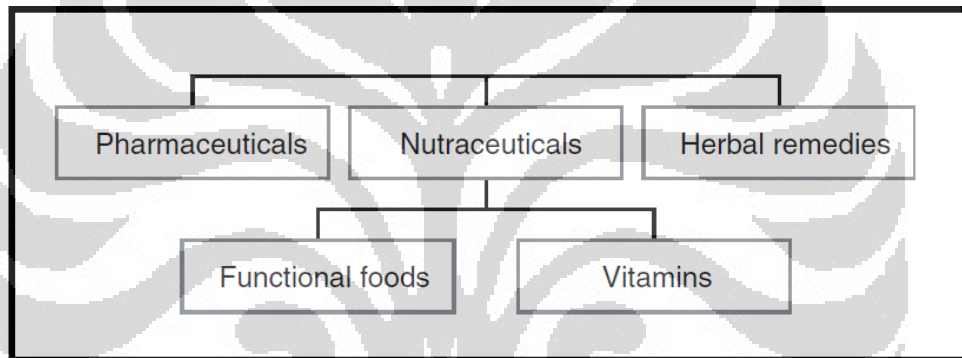
Gambar 2.3. Penyakit-penyakit akibat radikal bebas

Antioksidan dapat didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang dapat menghambat oksidasi dan mampu menetralkan efek berbahaya dari oksidasi pada jaringan tubuh. Antioksidan akan mencegah kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas (Sarma, Mallick, & Ghosh, 2010).

Tubuh sebenarnya memiliki beberapa mekanisme pertahanan diri terhadap radikal bebas. Pertahanan diri yang pertama adalah rangkaian enzim antioksidan yaitu glutathion peroksidase, superoksida dismutase, dan katalase. Beberapa mineral esensial seperti selenium, tembaga, mangan, dan zink penting dalam pembentukan atau aktivitas dari enzim-enzim tersebut. Oleh karena itu, jika asupan nutrisi mineral tersebut tidak cukup terpenuhi, maka pertahanan enzim dalam melawan radikal bebas dapat terganggu. Pertahanan tubuh yang kedua adalah senyawa antioksidan yang diproduksi pada metabolisme normal dalam tubuh, yaitu glutathion dan ubikuinol (Bagchi & Puri, 1998). Selain itu, asupan antioksidan dari luar tubuh seperti dari makanan atau nutrasetika sangat penting dalam menjaga kesehatan apalagi saat keseimbangan antara produksi radikal bebas dan antioksidan dalam tubuh terganggu.

2.2 Nutrasetika

Nutrasetika merupakan pengembangan dari sediaan farmasi yang menggunakan komponen non nutrisi dari bahan makanan, baik sebagai bahan utama maupun sebagai rempah-rempah untuk membantu penyembuhan ataupun pencegahan timbulnya suatu penyakit. Jumlah nutrasetika yang berada dipasaran semakin meningkat pada 20 tahun terakhir. Namun sayangnya, masyarakat masih mengalami kebingungan dalam hal persepsi mengenai nutrasetika dengan produk kesehatan lainnya. Hubungan sebenarnya antara nutrasetika dan produk kesehatan lainnya dapat dilihat pada Gambar 2.4. Farmasetika biasanya digolongkan sebagai obat menurut hukum sedangkan pengobatan herbal dapat digolongkan dengan obat karena berasal dari alam (Lockwood, 2007).



[Sumber : Lockwood, 2007, telah diolah kembali]

Gambar 2.4. Hubungan nutrasetika dengan produk kesehatan lainnya

2.3 Tanaman Jinten Hitam

2.3.1 Taksonomi Jinten Hitam

- Kerajaan : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Subdivisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Bangsa : Ranunculales
- Suku : Ranunculaceae
- Marga : Nigella
- Jenis : *Nigella sativa* (Hutapea, 1994).

2.3.2 Deskripsi Tanaman Jinten Hitam

Berdasarkan *Materia Medica* Jilid III (1979a), tanaman jinten hitam atau yang sering disebut jinten hitam pahit merupakan terna setahun berbatang tegak dengan batang yang biasanya berusuk dan berbulu kasar, rapat atau jarang-jarang serta bulu-bulu berkelenjar. Bentuk daun lanset berbentuk garis dengan panjang 1,5-2 cm, ujung meruncing, dan terdapat 3 tulang daun berbulu. Daun bagian bawah bertangkai dan bagian atas duduk. Daun pembalut bunga kecil. Kelopak bunga 5, bundar telur dengan ujungnya agak meruncing hingga agak tumpul, pangkal mengecil membentuk sudut yang pendek dan besar. Mahkota bunga umumnya 8, agak memanjang, lebih kecil dari kelopak bunga, berbulu jarang, dan pendek. Bibir bunga 2 dengan bibir bagian atas pendek, lanset, dan ujung memanjang berbentuk benang dan bibir bagian bawah berujung tumpul. Benang sari banyak dan gundul dengan kepala sari berwarna kuning, jorong dan sedikit tajam. Buah bulat telur atau agak bulat dengan biji hitam, jorong bersudut 3 tidak beraturan yang sedikit membentuk kerucut, dan panjang 3 mm serta berkelenjar.



[sumber: Kress, 2011, telah diolah kembali]

Gambar 2.5. Tanaman jinten hitam (*Nigella sativa* L.)

2.3.3 Deskripsi Simplisia Biji Jinten Hitam

Berdasarkan *Materia Medica* Jilid III (1979a), biji jinten hitam adalah biji *Nigella sativa* L. dengan kadar minyak atsiri tidak kurang dari 0,2 % v/b. Biji

jinten hitam memiliki pemerian berbau khas aromatik dengan rasa yang pahit. Secara makroskopik, bijinya agak keras berbentuk limas ganda dengan kedua ujungnya meruncing, limas yang satu lebih pendek dari yang lain, bersudut 3 sampai 4, panjang 1,5 mm sampai 2 mm, lebar lebih kurang 1 mm; permukaan luar berwarna hitam kecokelatan, hitam kelabu sampai hitam, berbintik-bintik, kasar, berkerut, kadang-kadang dengan beberapa rusuk membujur atau melintang. Pada penampang melintang biji terlihat kulit biji berwarna coklat kehitaman sampai hitam; endosperm berwarna kuning kemerahan, kelabu atau kelabu kehitaman; lembaga berwarna kuning pucat sampai kelabu (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979a).



[sumber: Kress, 2011, telah diolah kembali]

Gambar 2.6. Biji jinten hitam

2.3.4 Khasiat Tanaman Jinten Hitam

Tanaman jinten hitam secara tradisional digunakan sebagai stimulan, karminatif (pengeluaran angin dari dalam tubuh manusia), emenagoga (peluruh haid), dan diaforetika (peluruh keringat) (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1989b). Banyak aktivitas biologis dari tanaman ini yang telah dilaporkan seperti anthelmintik, antibakteri, antiinflamasi, antitumor, antioksidan, imunomodulator, diuretik, antihipertensi, antidiabetes, antiasma, obat penyakit paru-paru, dan antiarthritis (Haq, Abdullatif, Lobo, Khabar, Sheth, & Al-Sedairy,

1995; Zaoui, Cherrah, Mahassini, Alaoui, Amarouch, & Hassar, 2002a; El-Beshbishy, Mohamadin, & Abdel-Naim, 2009; Tubesha, Iqbal, & Ismail, 2011).

Timokuinon merupakan kandungan utama yang berperan sebagai antioksidan dalam biji jinten hitam. Efek farmakologis dari timokuinon telah banyak diteliti. Timokuinon paling banyak terkandung dalam minyak esensial dari biji jinten hitam, tetapi minyak komersial yang beredar dipasaran adalah minyak lemaknya atau *fixed oil*. Namun, berdasarkan analisis GC-MS dari 6 sampel minyak esensial biji jinten hitam dan minyak biji jinten hitam komersial menunjukkan komponen menguap kualitatif yang identik. Perbedaan hanya sebatas dari komposisi kuantitatif (Burits & Bucar, 2000).

Berbagai penelitian yang telah dilakukan menunjukkan khasiat antioksidan dari minyak biji jinten hitam. Kadar β -sitosterol yang tinggi dari minyak biji jinten hitam cukup efektif dalam menurunkan kolesterol darah dan dapat mencegah penyakit jantung koroner (Cheikh-Rouhou, Besbes, Hentati, & Blecker, 2007). Pada percobaan Houghton et al. (1995) mengungkapkan bahwa baik minyak biji jinten hitam dengan timokuinon sebagai kandungan utamanya dapat menghambat peroksidasi pada fosfolipid otak. Nagi et al. (1999) pun melaporkan adanya efek protektif timokuinon pada tikus yang diinduksi hepatotoksik oleh terbutilhidroperoksida dan efek hepatoprotektif pada tikus yang diinduksi karbon tetraklorida. Selain itu, Burits & Bucar (2000) mengungkapkan adanya efek protektif renal pada mencit melalui aktivitas antioksidannya. Efek hepatoprotektif, efek protektif terhadap nefropati yang diinduksi doxorubicin, dan efek melawan kardiotoxikitas yang diinduksi doxorubicin dari minyak esensial dan timokuinon ditemukan melalui mekanisme antioksidan (Ramadan, 2007).

2.3.5 Kandungan Biji Jinten Hitam

Secara umum, komposisi biji jinten hitam adalah minyak, karbohidrat, protein, serat, abu, saponin, dan air (Tabel 2.1). Biji jinten hitam mengandung 0,4-0,45 % b/b minyak atsiri, lebih dari 30 % minyak dengan 85 % total asam lemak tidak jenuh, beberapa triglikosida flavonol, karven, d-limonena, simena, dan terpen lainnya, glukosida saponin, protein 22,7 %, asam amino, alkaloid, asam organik, tanin, resin, mineral (Fe, Na, Cu, Zn, P, dan Ca), vitamin (asam askorbat,

tiamin, niasin, piridoksin, dan asam folat), sterol bebas, dan lain-lain (Sultan, Butt, Anjum, Jamil, Akhtar, & Nasir, 2009; Zaoui, Cherrah, Mahassini, Alaoui, Amarouch, & Hassar, 2002b; Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979a; Ramadan, 2007). Tingginya asam lemak tidak jenuh (asam oleat, linoleat, linolenat, dan eikosadienoat) dibandingkan dengan asam lemak jenuh (asam laurat, miristat, dan stearat) (Tabel 2.2) membuat minyak biji jinten hitam baik untuk dikonsumsi manusia (Nickavar, Mojab, Javidnia, & Amoli, 2003). Namun, komposisi biji jinten hitam akan bervariasi sesuai dengan distribusi geografinya, dan waktu pemanenan.

Selain itu, Atta-ur-Rahman et al. (1985, 1992, 1995) telah dapat mengisolasi alkaloid nigelisin (indazol), alkaloid nigelimin (isokuinolin), dan alkaloid nigelidin (indazol) dari biji jinten hitam. Lipase pun telah ditemukan dalam bijinya oleh Duke (1992). Ghosheh et al. (1999) mengungkapkan bahwa kandungan senyawa yang aktif secara farmakologi pada minyak biji jinten hitam adalah timokuinon, ditimokuinon, timohidrokuinon, dan timol (Ramadan, 2007).

Berbagai macam bentuk tokoferol seperti α -, β -, γ - δ - dan karotenoid pun ditemukan dalam minyak lemak (*fixed oil*) dari *Nigella sativa* Linn (Tabel 2.3). Kandungan α -, β -, γ -, δ - tokoferol, dan karotenoid yang ada sebanyak $182,56 \pm 6,82$; $18,56 \pm 0,13$; $142,97 \pm 7,56$; $17,62 \pm 0,20$; dan $88,95 \pm 3,91$ mg/kg-minyak sehingga total tokoferol dan karotenoid yang terkandung sebesar $450,66 \pm 16,21$ mg/kg-minyak (Sultan, Butt, Anjum, Jamil, Akhtar, & Nasir, 2009).

Tabel 2.1. Komposisi biji jinten hitam

Komposisi	% Rentang (b/b)
Minyak	31-35,5
Karbohidrat	16-19,9
Protein	33-34
Serat	4,5-6,5
Abu	3,7-7
Saponin	0,013
Air	5-7

[sumber: El-Tahir & Bakeet, 2006, telah diolah kembali]

Tabel 2.2. Kandungan asam lemak dari minyak lemak (*fixed oil*) *Nigella sativa* L.

Asam Lemak	Persentase
Asam Laurat	0,6
Asam Miristat	0,5
Asam Palmitat	12,5
Asam Stearat	3,4
Asam Oleat	23,4
Asam Linoleat	55,6
Asam Linolenat	0,4
Asam Eikosadinat	3,1
Total Asam Lemak	99,5

[Sumber : Nickavar, Mojab, Javidnia, & Amoli, 2003, telah diolah kembali]

Tabel 2.3. Komponen fungsional dari minyak lemak (*fixed oil*) *Nigella sativa* L.

Parameter (mg/kg minyak)	Persentase
Timokinon	201,31 ± 13,17
Tokoferol total	361,71 ± 10,23
α-tokoferol	182,56 ± 6,82
β-tokoferol	18,56 ± 0,13
γ-tokoferol	142,97 ± 7,56
δ-tokoferol	17,62 ± 0,20
Karotenoid	88,95 ± 3,91
Total tokoferol dan karotenoid	450,66 ± 16,21

[Sumber : Sultan, Butt, Anjum, Jamil, Akhtar, & Nasir, 2009, telah diolah kembali]

2.3.6 Cara Ekstraksi Minyak Biji Jinten Hitam

Ekstraksi minyak dari dari *Nigella sativa* Linn. dapat dilakukan dengan berbagai metode. Metode pertama yaitu cara ekstraksi berdasarkan *American Oil Chemist's Society* atau AOCS (1998). Biji jinten hitam yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam labu gelap lalu ditambahkan n-heksan dengan perbandingan 1:6 dan diaduk dalam *shaker* selama 4 jam (kecepatan 180 U/menit). Selanjutnya, campuran tersebut disentrifugasi selama 15 menit dalam 1000 g pada suhu ruangan (20°C). Supernatan lalu disaring menggunakan kertas saring. Prosedur

ekstraksi diulangi dua kali dan pelarut yang dikumpulkan dihilangkan menggunakan evaporator berputar pada suhu 40°C. Minyak biji jinten hitam akan tertinggal dengan pengeringan menggunakan nitrogen tekanan tinggi (Cheikh-Rouhou, Besbes, Hentati, & Blecker, 2007).

Metode kedua adalah dengan cara sokhletasi dengan petroleum eter selama 4 jam lalu ekstrak dipisahkan dengan tekanan rendah. Ekstrak konsentrat sebanyak 1 ml dilarutkan dalam campuran 20 ml petroleum eter dan 2 ml metanol-KOH 2 M lalu campuran tersebut dikocok selama 2 menit dan didiamkan selama 10 menit. Lapisan bagian atas yang terbentuk dipisahkan lalu dicuci dengan air (Nickavar, Mojab, Javidnia, & Amoli, 2003).

Selain itu, dapat dilakukan cara *cold shocking* serbuk *Nigella sativa* yang didapatkan dari hasil proses mekanik biji *Nigella sativa* dengan pelarut heksan 3 x 1,5 liter selama 3 x 24 jam. Setelah proses ekstraksi selesai, pelarut heksan dihilangkan dalam tekanan atmosfer rendah sehingga didapatkan ekstrak berminyak yang berwarna coklat *chestnut* (Zaoui, Cherrah, Mahassini, Alaoui, Amarouch, & Hassar, 2002b).

2.4 Nanoemulsi

2.4.1 Deskripsi Nanoemulsi

Nanoemulsi dapat didefinisikan sebagai emulsi dengan ukuran globul yang sangat kecil. Nanoemulsi dibagi menjadi 2 tipe yaitu sistem stabil termodinamika dan metastabil. Namun, perbedaan antara nanoemulsi dengan sistem stabil termodinamika dan metastabil masih kurang begitu jelas. Berbeda dengan sistem stabil termodinamika, kestabilan sistem metastabil bergantung pada metode pembuatan. Nanoemulsi dapat memiliki stabilitas kinetik yang tinggi dan transparan seperti sistem stabil termodinamika (mikroemulsi). Walaupun metastabil, nanoemulsi dapat memiliki stabilitas lebih dari beberapa bulan atau bahkan lebih dari beberapa tahun karena adanya misel surfaktan sebagai penstabil (Fanun, 2010).

Ukuran globul nanoemulsi lebih kecil daripada gelombang cahaya tampak sehingga terlihat transparan. Ukuran rata-rata nanoemulsi memiliki kisaran 1-100 nm (Mason, Wilking, Meleson, Chang, & Graves, 2006). Karena transparan dan

biasanya encer, sedikit tanda ketidakstabilan dapat dengan mudah terlihat (Fanun, 2010).

Ukuran globul yang sangat kecil menyebabkan penurunan gaya gravitasi yang besar dan gerak Brown yang dapat mencegah terjadinya sedimentasi atau *creaming* sehingga dapat meningkatkan stabilitas fisik. Nanoemulsi dapat stabil secara kinetik karena ukuran globul yang sangat kecil sehingga stabil dari sedimentasi dan *creaming*. Ukuran globul yang kecil pun dapat mencegah flokulasi. Nanoemulsi dapat menghasilkan tegangan permukaan yang sangat rendah dan luas permukaan yang besar antara fase minyak dan air (Fanun, 2010).

Nanoemulsi terbagi menjadi 3 tipe sejak pembuatan nanoemulsi pertama pada tahun 1940-an, yaitu nanoemulsi minyak dalam air (O/W), air dalam minyak (W/O), dan bikontinu. Perubahan antara ketiga tipe tersebut dapat diperoleh dengan memvariasikan komponen dari nanoemulsi (Bhatt & S. Madhav, 2011).

2.4.2 Kelebihan dan Kekurangan Nanoemulsi

Nanoemulsi memiliki kelebihan sebagai berikut (Fanun, 2010; Bhatt & S. Madhav, 2011; Donsi, Wang, & Huang, 2011) :

- a. Ukuran globul yang sangat kecil menyebabkan penurunan gaya gravitasi dan gerak Brown sehingga dapat mencegah sedimentasi atau *creaming*
- b. Ukuran globul yang kecil dapat mencegah terjadinya flokulasi
- c. Nanoemulsi memiliki luas permukaan yang besar dari sistem emulsi memungkinkan penetrasi yang cepat dari bahan aktif
- d. Tidak merusak sel normal dari manusia dan hewan sehingga baik untuk tujuan terapeutik pada manusia dan hewan
- e. Dapat diberikan secara oral jika dalam formula mengandung surfaktan yang biokompatibel
- f. Merupakan cara yang paling efektif untuk meningkatkan bioavailabilitas dari nutrasetika

Disisi lain, seperti halnya mikroemulsi, karena sistem penghantaran obat sebaiknya biokompatibel, pemilihan eksipien untuk pembuatan nanoemulsi menjadi terbatas. Penggunaan surfaktan dalam jumlah besar yang dibutuhkan untuk pembuatan nanoemulsi pun menjadi hal yang tidak diinginkan. Oleh karena

itu, pemilihan yang tepat dari komponen nanoemulsi dan konsentrasinya menjadi sangat penting (Talegaonkar, S., Azeem, A., Ahmad, F.J., Khar, R.K., Pathan, S.A. & Khan, Z.I. 2008).

2.4.1 Formulasi dan Komposisi Nanoemulsi

Komponen nanoemulsi terdiri dari minyak, air dan surfaktan atau sering ditambahkan kosurfaktan.

2.4.1.1 Fase Minyak

Komponen minyak yang digunakan memiliki kemampuan berpenetrasi berbeda yang nantinya akan mengembang di daerah grup ekor dari lapisan surfaktan sehingga mempengaruhi HLB. Minyak rantai pendek dapat berpenetrasi pada area grup ekor lebih baik daripada rantai panjang alkana sehingga dapat menurunkan HLB. Asam lemak jenuh seperti asam laurat, miristat, dan kaprat dan asam lemak tidak jenuh seperti asam oleat, linoleat, dan linolenat telah banyak dipelajari sejak lama dan ditemukan memiliki sifat peningkat penetrasi masing-masing. Ester asam lemak seperti ester dari etil atau metil asam laurat, miristat, dan oleat pun dapat digunakan sebagai fase minyak. Jika fase minyak akan ditambahkan obat, disarankan menggunakan obat yang lipofilik atau yang memiliki kelarutan tinggi didalam fase minyak tersebut agar dapat meminimalkan volume dalam formulasi (Talegaonkar, S., Azeem, A., Ahmad, F.J., Khar, R.K., Pathan, S.A. & Khan, Z.I. 2008).

2.4.1.2 Surfaktan

Surfaktan memegang peranan yang penting dalam pembentukan nanoemulsi. Surfaktan menurunkan tegangan permukaan antara fase minyak dan air, menurunkan jumlah energi yang dibutuhkan untuk merusak globul, dan menghasilkan ukuran globul yang lebih kecil (Silva, et al., 2011). Karena nanoemulsi memiliki luas permukaan yang besar, konsentrasi surfaktan yang tinggi dibutuhkan sebagai penstabil (Mason, Wilking, Meleson, Chang, & Graves, 2006).

a. Deskripsi Surfaktan

Surfaktan merupakan senyawa yang memiliki gugus lipofil dan hidrofил didalam molekulnya yang dapat menurunkan tegangan permukaan. Jika surfaktan dimasukkan ke dalam air, maka semua molekulnya akan berkumpul pada permukaan cairan yang berorientasi sedemikian rupa sehingga bagian hidrofилnya masuk ke dalam cairan dan bagian hidrofobnya terbalik terhadap fase batasnya (udara atau dinding wadah). Adanya penambahan minyak pada air yang telah mengandung surfaktan akan membuat surfaktan berorientasi sedemikian rupa juga sehingga gugus lipofil mengarah ke fase minyak sehingga terbentuk lapisan tipis yang menyaluti batas antar permukaan secara total. Pada penambahan surfaktan, tegangan permukaan mula-mula akan turun sangat cepat mencapai harga tertentu yang selanjutnya tidak akan berkurang meskipun dilakukan penambahan surfaktan. Harga tertentu ini dikenal dengan CMC (*Critical Micelle Concentration*) (Voight, 1995).

b. Jenis-jenis Surfaktan

Surfaktan dapat dibagi menjadi surfaktan ionik (anionik dan kationik), non-ionik dan amfoter. Contoh surfaktan anionik adalah sabun alkali (natrium palmitat, natrium stearat), sabun logam (kalsium palmitat, aluminium stearat), sabun amin (trietanolamin), senyawa tersulfatasi (natrium lauril sulfat, natrium setil sulfat, natrium stearil sulfat), senyawa tersulfonasi (natrium setil sulfonat), garam dari asam empedu (natrium glikolat), saponin, dan gom arab. Contoh dari surfaktan kationik adalah senyawa amonium kuarterner (alkoniumbromida, benzalkoniumbromida, setrimid).

Berbeda dengan surfaktan ionik, surfaktan non-ionik bereaksi netral, sedikit dipengaruhi elektrolit dan netral terhadap pengaruh kimia. Hal tersebut menjadi keuntungan tersendiri sehingga surfaktan non-ionik banyak digunakan dalam farmasetika. Contoh surfaktan non-ionik adalah alkohol lemak tinggi dan alkohol sterin (setil alkohol, stearil alkohol, kolesterol), ester parsial asam lemak dari alkohol bervalensi banyak (etilmonostearat, gliserolmonooleat, gliserolmonostearat), ester parsial asam lemak dari sorbitan (Span® 20, 40, 60, 65, 80 dan 85), ester parsial asam lemak dari polioksilensorbitan (Tween® 20, 21,

40, 60, 61, 65, 80, 81, dan 85), ester sorbitol dari polioksietilen (G-1702, G-1425, G1144), ester asam lemak dari polioksietilen (Myrj® 45, 49, 51, 52, 53 dan 59), eter alkohol lemak dari polioksietilen (Brij® 30, 35, 52), ester asam lemak dari sakharosa (sakharosadistearat, sakharosadioleat), dan ester asam lemak dari poligliserol (Drewpole®).

Surfaktan amfoter merupakan senyawa kimia yang memiliki gugus kationik dan anionik di dalam molekulnya sehingga dapat memberikan karakter anionik atau kationik tergantung kondisi mediumnya. Contohnya adalah protein dan lesitin (Voight, 1995).

c. Deskripsi HLB

Konsep HLB (*Hidrophile-Lipophile-Balance*) ditemukan oleh Griffin untuk surfaktan non-ionik. Griffin menyusun setiap surfaktan ke dalam harga bilangan tanpa dimensi yang dihitung dari perbandingan stoikhiometri bagian lipofil dan hidrofil surfaktan sehingga harga HLB berisi informasi keseimbangan hidrofil-lipofil yang dihasilkan dari ukuran dan kekuatan gugus hidrofil dan lipofil. Dengan adanya HLB, identifikasi surfaktan menurut sifat amfifilnya dan klasifikasi tujuan penggunaan yang sesuai menjadi mungkin dilakukan.

Berdasarkan tujuan pemakaiannya, sistem HLB mengikuti skala angka skala 1 sampai 20 berdasarkan Tabel 2.4. Harga batas dominasi antara senyawa lipofil dan hidrofil adalah 10. Secara umum, surfaktan dengan HLB rendah (3-6) digunakan pada pembuatan W/O sedangkan surfaktan dengan HLB tinggi (8-18) lebih sesuai digunakan dalam pembuatan O/W (Voight, 1995).

Tabel 2.4 Sistem HLB

Rentang HLB	Aplikasi
1-3	Bahan anti busa
3-6	Emulgator W/O
7-9	Bahan pembasah
8-18	Emulgator O/W
13-15	Zat-zat aktif pencuci
15-18	Mediator larutan

[Sumber: Voight, 1995, telah diolah kembali]

Untuk surfaktan jenis tertentu seperti turunan polioksietilen dari alkohol lemak dan ester asam lemak dari alkohol bervalensi banyak, harga HLB-nya pun dapat ditentukan dengan rumus :

$$HLB = 20 \left(1 - \frac{VZ}{SZ}\right) \quad (2.1)$$

Harga HLB juga dapat dihitung langsung dari formula kimianya dimana sifat hidrofil dan lipofil dari setiap gugus yang ditentukan melalui pengukuran koalensi lalu disusun sehingga menghasilkan harga tertentu yaitu :

$$HLB = \Sigma \text{ harga gugus hidrofil} + n (\text{harga gugus dari } -\text{CH}_2) + 7 \quad (2.2)$$

dimana n merupakan jumlah gugus dalam molekul. Harga positif dihasilkan oleh gugus hidrofil sedangkan harga negatif dihasilkan oleh gugus hidrofob. Formula di atas tidak dapat digunakan untuk senyawa yang tidak jenuh, stereoisomer atau posisi isomer (Voight, 1995).

2.4.1.3 Kosurfaktan

Penggunaan surfaktan rantai tunggal secara sendirian pada kebanyakan kasus tidak cukup dapat menurunkan tegangan permukaan agar dapat membentuk nanoemulsi. Keberadaan kosurfaktan dapat meningkatkan fleksibilitas dari film. Penambahan alkohol rantai pendek hingga sedang (C_3 - C_8) biasa dijadikan kosurfaktan yang nantinya dapat menurunkan tegangan permukaan dan meningkatkan fluiditas permukaan (Talegaonkar, S., Azeem, A., Ahmad, F.J., Khar, R.K., Pathan, S.A. & Khan, Z.I. 2008).

2.4.2 Cara Pembuatan Nanoemulsi

Pada beberapa kasus, pembuatan nanoemulsi membutuhkan aplikasi teknik khusus. Nanoemulsi ini dapat dibuat dengan teknis mekanikal yang berbeda. Salah satu metode pembuatan nanoemulsi adalah teknik energi tinggi seperti ultrasonikasi, mikrofluidisasi, dan homogenizer bertekanan tinggi. Pembuatan nanoemulsi dengan energi tinggi ini bergantung pada pembentukan ukuran globul yang kecil dengan adanya surfaktan atau campuran surfaktan dengan masukan energi yang tinggi. Selama pembuatan, beberapa parameter seperti tekanan homogenizer, jumlah siklus homogenisasi, dan suhu homogenisasi dapat berubah

yang nantinya akan mempengaruhi ukuran globul nanoemulsi yang sangat penting dalam stabilitas fisik sistem tersebut.

Metode pembuatan dengan energi tinggi tidak dapat digunakan pada beberapa kasus terutama untuk molekul yang labil. Pada kasus tersebut, digunakan teknik emulsifikasi dengan menggunakan energi rendah seperti emulsifikasi spontan atau suhu inversi fase (Fanun, 2010). Metode emulsifikasi spontan sering digunakan karena mudah dibuat dalam skala laboratorium, tidak membutuhkan peralatan yang rumit atau temperatur yang tinggi, dan secara umum dapat menghasilkan ukuran globul yang kecil (Kelmann, Kuminek, Teixeira, & Koester, 2007).

2.5 Monografi Bahan

2.5.1 Minyak biji jinten hitam

Minyak biji jinten hitam memiliki pemerian cairan berminyak berwarna coklat *chestnut* (Gambar 2.7), dan memiliki bau yang khas dengan HLB 17,5 (Lampiran 1). Minyak ini biasa diberikan sebanyak 1 ml/kg berat badan pada tikus secara oral. Toksisitasnya rendah berdasarkan tingginya nilai LD50 yaitu 28,8 ml/kg berat badan secara peroral (Zaoui, Cherrah, Mahassini, Alaoui, Amarouch, & Hassar, 2002a, 2002b).

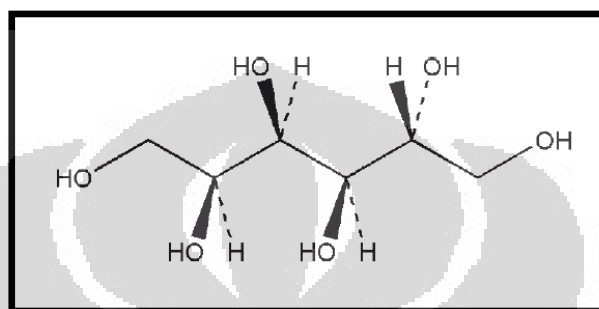
2.5.2 Tween 80

Polioksietilen 80 sorbitan monooleat atau yang lebih dikenal sebagai Tween 80 atau Polisorbat 80 merupakan salah satu ester parsial asam lemak dari polioksilensorbitan yang termasuk dalam surfaktan golongan nonionik dengan rumus molekul $C_{64}H_{124}O_{26}$ dan berat molekul 1310. Tween 80 memiliki pemerian berupa cairan berwarna kuning, memiliki bau yang khas, memberikan rasa hangat pada kulit, dan berasa pahit. Tween 80 dapat larut dalam dengan air dan alkohol. HLB dari Tween 80 adalah 15. Tween 80 stabil terhadap elektrolit dan asam lemah. Sebaiknya, Tween 80 disimpan di dalam wadah yang tertutup rapat, terlindung dari cahaya, dan di tempat yang sejuk dan kering.

Tween 80 dapat digunakan sebagai agen pendispersi, agen pengemulsi, agen pelarut, agen pensuspensi, dan agen pembasah. Tween 80 ini telah

digunakan secara luas dalam kosmetik, produk makanan, dan formulasi farmasetika secara oral, parenteral atau topikal karena dianggap tidak bersifat toksik dan tidak menimbulkan iritasi (Rowe, R.C., P.J. Sheskey, dan S.C. Owen., 2009).

2.5.3 Sorbitol



[Sumber : Rowe, R.C., P.J. Sheskey, dan S.C. Owen., 2009, telah diolah kembali]

Gambar 2.8. Rumus struktur sorbitol

Sorbitol atau D-glusitol memiliki rumus molekul $C_6H_{14}O_6$ dan berat molekul 182,17 dengan pemerian serbuk higroskopis yang tidak berbau, dan berwarna putih atau hampir tidak berwarna. Sorbitol memiliki rasa yang enak, dingin, dan manis (50-60% dari kemanisan sukrosa). Sorbitol dapat larut dalam 0,5 bagian air dan agak larut dalam metanol.

Sorbitol telah luas digunakan sebagai eksipien pada berbagai formulasi farmasetika, kosmetik, dan produk makanan. Sorbitol berfungsi sebagai humektan, plasticizer, agen penstabil, agen pemanis, diluen tablet, dan kapsul. Sorbitol juga biasanya digunakan untuk mensubstitusi gliserin dan propilen glikol dalam kisaran konsentrasi 25-90%. Efek samping dari sorbitol dapat terjadi karena aksinya sebagai laksatif osmotik saat diberikan secara oral. Oleh karena itu, penggunaan diatas 20g/perhari pada dewasa sebaiknya dihindari (Rowe, R.C., P.J. Sheskey, dan S.C. Owen., 2009).

2.5.4 Aquademineralisata

Aquademineralisata adalah air murni yang diperoleh dengan cara penyulingan yang telah dihilangkan mineralnya. Air murni dapat diperoleh

dengan cara penyulingan, pertukaran ion, osmosis terbalik, atau dengan cara yang sesuai (Rowe, R.C., P.J. Sheskey, dan S.C. Owen., 2009).

2.6 Stabilitas Nanoemulsi

Menurut Djajadisastra (2004), stabilitas didefinisikan sebagai kemampuan suatu produk obat atau kosmetik untuk bertahan dalam spesifikasi yang diterapkan sepanjang periode penyimpanan dan penggunaan untuk menjamin identitas, kekuatan, kualitas, dan kemurnian produk.

Ketidakstabilan fisika dari sediaan ditandai dengan adanya pemucatan warna atau munculnya warna, timbul bau, perubahan atau pemisahan fase, pecahnya emulsi, pengendapan suspensi atau *caking*, perubahan konsistensi, pertumbuhan kristal, terbentuknya gas, dan perubahan fisik lainnya. Kestabilan dari suatu emulsi ditandai dengan tidak adanya penggabungan fase dalam, tidak adanya *creaming*, dan memberikan penampilan, bau, warna, dan sifat-sifat fisik lainnya yang baik (Martin, Swarbick, & Cammarata, 1983). Kestabilan fisik suatu emulsi atau suspensi dapat dipengaruhi oleh faktor-faktor yang mempengaruhi kestabilan kimia dari bahan pengemulsi (emulgator), agen pensuspensi (*suspending agent*), antioksidan, pengawet, dan bahan aktif (Djajadisastra, 2004).

Parameter-parameter yang digunakan dalam uji kestabilan fisik :

- a. Organoleptis
- b. Uji pH
- c. Ukuran Globul
- d. *Cycling Test*
- e. Uji Sentrifugasi
- f. Uji Viskositas

2.7 Spektrofotometer UV-Vis

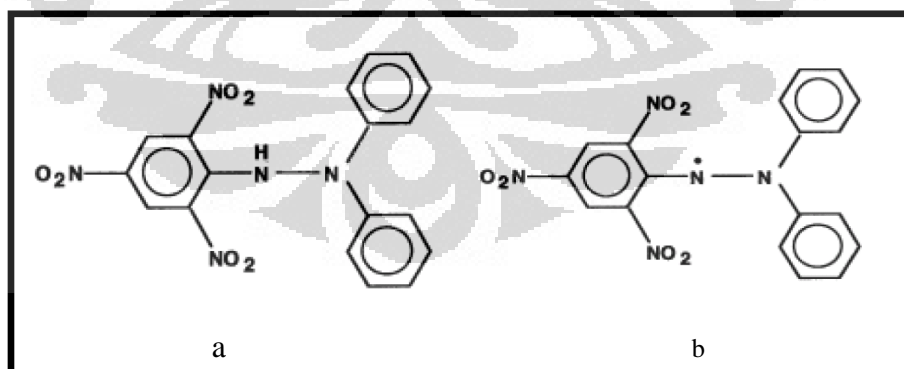
Spektrum UV-Vis merupakan hasil interaksi antara radiasi elektromagnetik (REM) dengan molekul. REM merupakan bentuk energi radiasi yang mempunyai sifat gelombang dan partikel (foton). Karena bersifat sebagai gelombang, maka beberapa parameter perlu diketahui, misalnya panjang gelombang (λ), frekuensi (ν), bilangan gelombang ($\bar{\nu}$), dan serapan (A). Kromofor

adalah gugus fungsional yang mengabsorpsi radiasi ultraviolet dan tampak, jika mereka diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi (auksokrom). Hampir semua kromofor mempunyai ikatan rangkap berkonjugasi. Auksokrom adalah gugus fungsional seperti $-\text{OH}$, $-\text{NH}_2$, NO_2 , $-\text{X}$, yaitu gugus yang mempunyai elektron nonbonding dan tidak mengabsorpsi radiasi UV jauh. Spektrofotometer UV-Vis digunakan terutama untuk analisa kuantitatif, tetapi juga dapat untuk analisa kualitatif (Harmita, 2006).

Faktor-faktor yang mempengaruhi spektrum serapan (Harmita, 2006):

- Jenis pelarut (polar, non polar), pelarut yang dipilih tidak boleh memberikan absorbansi pada daerah panjang gelombang dilakukannya pengukuran sampel. Pelarut yang umum digunakan air, etanol, metanol, dan n-heksan.
- pH larutan
- Kadar larutan, jika konsentrasi tinggi akan terjadi polimerisasi yang menyebabkan λ maksimum berubah sama sekali.
- Tebal larutan, jika digunakan kuvet dengan tebal berbeda akan memberikan spektrum serapan yang berbeda.
- Lebar celah.

2.8 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)



[Sumber: Molyneux, 2004, telah diolah kembali]

Gambar 2.9. Struktur 2,2-difenil-1-picrylhydrazyl (DPPH): (a) bentuk non radikal, (b) bentuk radikal bebas

Salah satu metode pengujian antioksidan yang populer adalah metode DPPH (Molyneux, 2004). Menurut Koleva et al. (2001), metode DPPH

merupakan metode yang simpel, cepat, dan nyaman digunakan dalam skrining banyak sampel untuk mengetahui aktivitas penangkapan radikal bebas (*radical scavenging*) (Marxen, Vanselow, Lippemeier, Hintze, Ruser, & Hansen, 2007). DPPH merupakan radikal bebas yang stabil yang elektronnya dapat terdelokalisasi sehingga menghasilkan warna ungu mantap yang dapat dikarakterisasi dalam pada 520 nm. Saat larutan DPPH dicampur dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, terjadi bentuk reduksi yang ditandai dengan penurunan intensitas warna ungu. Reaksi utama yang terjadi (Molyneux, 2004) :



Keterangan :

Z^* = radikal DPPH

AH = senyawa pendonor atom hidrogen

ZH = bentuk tereduksi dari DPPH

A^* = hasil radikal bebas yang terbentuk

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi

Lokasi penelitian adalah di Laboratorium Farmasetika Non Steril, Laboratorium Formulasi Tablet, Laboratorium Fitokimia, dan Laboratorium Bioavailabilitas dan Bioekivalensi Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok.

3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa* Linn. *seed oil*) (PT. Prima Agritech Nusantara), d-alpha-tokoferol 1300 UI (Copherol® F 1300C, PT BASF Care Chemicals Indonesia), sediaan komersial minyak biji jinten hitam dalam kapsul lunak (Indonesia), tween 80 (Kao), sorbitol 70% (Cargill), dan aquademineralisata (Brataco, Indonesia). Pereaksi kimia yang digunakan adalah etanol p.a (Mallincroft), toluen p.a (Mallincroft), n-heksan p.a (Mallincroft), dan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Wako).

3.3 Alat

Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800, Jepang), pH-meter tipe 510 (Eutech Instrument, Singapura), viskometer bola jatuh Hoesppler (Haake PRUFSCHEIN, Jerman), sentrifugator (Kubota 5100, Jepang), oven (Mettler, Jerman), timbangan analitik tipe 210-LC (ADAM, Amerika Serikat), timbangan gram (O'Haus), homogenizer (Ika T25 Digital Ultra-Turrax, Jerman), *zetasizer nano* ver. 6.20 (Malvern, Amerika Serikat), lemari pendingin (Toshiba), *rotary vacuum evaporator* (Buchi R205), dan alat-alat gelas untuk analisis.

3.4 Cara kerja

3.4.1 Formulasi Nanoemulsi

Nanoemulsi dibuat menjadi 3 formula dengan fase minyak menggunakan minyak biji jinten hitam dan aquademineralisata sebagai fase air dengan perbandingan konsentrasi surfaktan tween 80 dan kosurfaktan sorbitol (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 Formulasi nanoemulsi minyak biji jinten hitam

Bahan	Formula I (%b/b)	Formula II (%b/b)	Formula III (%b/b)
Minyak biji jinten hitam	5	5	5
Tween 80	40	36	24
Sorbitol	20	24	36
Aquademineralisata	35	35	35

3.4.2 Pembuatan Nanoemulsi Minyak Biji Jinten Hitam

Tween 80 dicampurkan dengan sorbitol lalu campuran tersebut dilarutkan dalam aquademineralisata dan diaduk konstan dengan menggunakan homogenizer pada kecepatan 5000 rpm selama 1 menit. Setelah itu, minyak biji jinten hitam didispersikan sedikit demi sedikit hingga 3 menit sambil dihomogenkan dengan homogenizer. Nanoemulsi menjadi jernih setelah didiamkan selama 24 jam.

3.4.3 Evaluasi Sediaan Nanoemulsi

3.4.3.1 Organoleptis

Pengamatan secara organoleptis diamati terjadinya perubahan bentuk, warna, dan bau. Pemeriksaan dilakukan setiap 2 minggu selama 8 minggu.

3.4.3.2 Uji pH

Uji pH dapat dilakukan menggunakan pH meter pada suhu ruang. Pertama-tama elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan pH 7. Elektroda lalu dicelupkan ke dalam sediaan hingga nilai pH muncul di layar. Hasil pH dicatat (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

3.4.3.3 Penentuan Bobot Jenis

Bobot jenis diukur menggunakan piknometer pada suhu 29°C. Piknometer yang bersih dan kering ditimbang (A g) lalu diisi dengan air dan ditimbang (A1 g). Air dikeluarkan dari piknometer dan piknometer dibersihkan. Sediaan nanoemulsi lalu diisikan ke dalam piknometer dan ditimbang (A2 g). Bobot jenis sediaan diukur dengan perhitungan sebagai berikut (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995) :

$$\text{Bobot jenis} = \frac{A2-A}{A1-A} \times \rho_{\text{air (suhu 29°C)}} \quad (3.2)$$

3.4.3.4 Pengukuran Distribusi Ukuran Globul

Distribusi ukuran globul dari nanoemulsi diukur menggunakan *zetasizer* pada suhu 25°C .

3.4.3.5 Uji Viskositas

Pengukuran viskositas dilakukan menggunakan alat viskometer bola jatuh Hoesppler dengan bola jenis *stainless steel*. Nanoemulsi dimasukkan ke dalam suatu tabung gelas yang hampir vertikal dengan volume tertentu. Bola yang digunakan dimasukkan ke dalam tabung dan salah satu sisi tabung ditutup rapat agar nanoemulsi tidak keluar dan tabung tidak bocor, sedangkan sisi yang lainnya ditutup sebelum nanoemulsi dimasukkan ke dalam tabung gelas. Tabung gelas lalu dibalik sehingga bola akan mulai bergerak ke bawah. Waktu yang diperlukan bola untuk jatuh diantara garis putih awal dan garis putih akhir yang ada pada tabung gelas dihitung dengan teliti. Percobaan ini dilakukan sebanyak tiga kali dan dihitung rata-ratanya. Viskositas nanoemulsi diukur berdasarkan perhitungan sebagai berikut:

$$\text{Viskositas} = B \rho_b - \rho_f t \quad (3.3)$$

dimana B merupakan konstanta bola (mPa.s.cm³/g.s), ρ_b merupakan kerapatan bola (g/cm³), ρ_f merupakan kerapatan cairan (g/cm³), dan t merupakan waktu yang diperlukan bola jatuh (detik) (Martin, A., J. Swarbrick, & A. Cammarata, 1983).

3.4.3.6 Uji Stabilitas Fisik

a. *Cycling Test*

Sediaan disimpan pada suhu dingin $\pm 4^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam, lalu dikeluarkan dan ditempatkan pada suhu $\pm 40^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam (1 siklus). Percobaan ini diulang sebanyak 6 siklus lalu dilakukan pengamatan dan evaluasi yang dibandingkan dengan sediaan sebelumnya.

b. Uji Sentrifugasi

Nanoemulsi dalam tabung sentrifugasi dimasukkan ke dalam sentrifugator dengan kecepatan putaran 3800 rpm selama 5 jam. Uji sentrifugasi bertujuan untuk mengetahui kestabilan sediaan nanoemulsi dengan cara mengamati pemisahan fase setelah disentrifugasi. Uji ini diperlukan untuk mengetahui efek guncangan pada saat transport produk terhadap tampilan fisik produk. Becher menyatakan bahwa sentrifugasi pada 3750 rpm dalam suatu radius 10 cm selama 5 jam setara dengan efek gravitasi kira-kira selama 1 tahun (Rieger, M.M, 1994).

c. Suhu Tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sediaan disimpan pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), dan pengukuran pH setiap 2 minggu.

d. Suhu Kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Sediaan disimpan pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), dan pengukuran pH setiap 2 minggu. Pengukuran viskositas dilakukan pada minggu ke-0 dan ke-8.

e. Suhu Rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Nanoemulsi disimpan pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas), dan pengukuran pH setiap 2 minggu.

3.4.3.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya senyawa antioksidan (AH) akan mendonorkan hidrogen (H) pada DPPH sehingga mengubah radikal bebas DPPH yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning pucat. Lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 520 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis (Molyneux, 2004).

a. Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm

Timbang 10,0 mg DPPH lalu masukkan ke dalam labu ukur 50,0 ml lalu cukupkan volumenya dengan toluen p.a hingga 50,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi larutan 200 ppm. Dari larutan tersebut, dipipet sebanyak 20,0 ml kemudian ditambahkan toluen p.a hingga 100,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi larutan 40 ppm.

b. Penyiapan Sampel Minyak Biji Jinten Hitam

Timbang 500,0 mg minyak biji jinten hitam kemudian masukkan ke dalam labu ukur 50,0 ml. Volume dicukupkan dengan toluen p.a hingga 50,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi larutan 10000 ppm sebagai larutan induk. Dari larutan induk tersebut, dilakukan pengenceran sebanyak 5 konsentrasi berbeda dengan bantuan pipet volume dan labu ukur, yaitu pada konsentrasi 200, 400, 800, 1000, dan 5000 ppm.

c. Penyiapan Sampel Nanoemulsi

Sampel nanoemulsi sebanyak 10,0 gram dimasukkan ke dalam corong pisah lalu ditambahkan etanol p.a dan n-heksan p.a masing-masing 10 ml. Setelah itu, dilakukan pengocokan selama 15 menit. Lapisan bagian atas dipisahkan lalu dilakukan penambahan kembali n-heksan p.a 10 ml. Pengocokan kembali dilakukan selama 3 kali dengan tiap pengocokan masing-masing 15 menit dan pemisahan lapisan bagian atas setelah masing-masing pengocokan. Semua lapisan bagian atas yang telah dipisahkan lalu dievaporasi dengan *rotary vacuum evaporator* (40 rpm, suhu 30°C) hingga tersisa lapisan minyak berwarna kekuningan pada dasar labu evaporator. Lapisan minyak tersebut dilarutkan dalam

labu ukur dengan toluen p.a hingga volume total 25,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk sebesar 400000 ppm. Dari larutan induk tersebut dilakukan pengenceran sebanyak 4 konsentrasi berbeda dengan bantuan pipet volume dan labu ukur, yaitu pada konsentrasi 50000, 100000, 120000, dan 200000 ppm.

d. Penyiapan Sampel d-alpha Tokoferol 1300 UI

Sampel d-alpha tokoferol 1300 UI ditimbang sebanyak 500,0 mg lalu dilarutkan dengan toluen p.a dalam labu ukur 50,0 ml sehingga menghasilkan larutan induk 10000 ppm. Larutan induk tersebut diencerkan dengan bantuan pipet volume dan labu ukur menjadi 5 konsentrasi berbeda, yaitu 5, 10, 20, 30, dan 40 ppm.

e. Penyiapan Sampel Sediaan Komersial dalam Kapsul Lunak

Sampel sediaan komersial minyak biji jinten hitam dalam kapsul lunak dikeluarkan isinya lalu ditimbang sebanyak 500,0 mg. Selanjutnya sampel tersebut dilarutkan dalam labu ukur 50,0 ml dengan toluen p.a sehingga menjadi larutan induk 10000 ppm. Dari larutan induk tersebut, dilakukan pengenceran untuk memperoleh 4 konsentrasi, yaitu 300, 400, 1000, dan 5000 ppm menggunakan bantuan pipet volume dan labu ukur.

f. Uji Pendahuluan dengan Larutan DPPH 40 ppm (Uji Kualitatif)

Larutan sampel ditotolkan pada kertas *whattmann* kemudian disemprot dengan larutan DPPH 40 ppm, maka akan memberikan warna kuning yang intensif.

g. Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH (Uji Kuantitatif)

Larutan sampel sebanyak 1 ml ditambahkan 4 ml DPPH 40 ppm. Kemudian campuran larutan diinkubasi dalam tabung tertutup rapat agar terlindung dari cahaya pada suhu ruang (*ambience temperature*, 27-30°C) selama 30 menit. Campuran sampel-DPPH dihomogenkan agar reaksi berjalan sempurna.

Hasil inkubasi diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm.

Aktivitas inhibisi radikal bebas dikalkulasi dengan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = 1 - [A_s/A_c] \times 100 \quad (3.4)$$

dimana A_s merupakan serapan sampel dalam larutan DPPH dan A_c merupakan serapan kontrol yaitu larutan DPPH tanpa sampel (El-Beshbishy, Mohamadin, & Abdel-Naim, 2009).

Pengukuran aktivitas antioksidan pada nanoemulsi dilakukan terhadap dua kelompok nanoemulsi, yaitu :

- a. Kelompok sampel nanoemulsi pertama, yaitu kelompok nanoemulsi yang dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan tanpa mendapat perlakuan
- b. Kelompok sampel nanoemulsi kedua, yaitu kelompok nanoemulsi yang dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan setelah penyimpanan selama 8 minggu pada suhu kamar ($29 \pm 2^\circ\text{C}$).

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Formulasi dan Pembuatan Nanoemulsi

Pada penelitian ini, dibuat formulasi nanoemulsi minyak biji jinten hitam dengan variasi konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan. Formulasi ini kemudian diamati stabilitas fisik dan aktivitas antioksidannya sebelum dan setelah berada di dalam sediaan. Formula tersebut merupakan formula dasar untuk nutrasetika sehingga nantinya dapat dikembangkan lebih lanjut untuk oral atau bahkan ditambahkan zat aktif tertentu.

Berbeda dengan surfaktan ionik, surfaktan non-ionik bereaksi netral, sedikit dipengaruhi elektrolit dan netral terhadap pengaruh kimia. Hal tersebut menjadi keuntungan tersendiri sehingga pada penelitian ini digunakan surfaktan non-ionik. Salah satu kriteria yang penting dalam pemilihan surfaktan dalam nanoemulsi adalah persyaratan nilai HLB yang harus lebih besar dari 10 untuk membuat nanoemulsi minyak dalam air sehingga digunakan tween 80 yang memiliki HLB 15. Untuk mendapatkan tegangan permukaan, jarang didapatkan hanya dengan satu surfaktan. Oleh karena itu, biasanya penambahan kosurfaktan menjadi penting meningkatkan fleksibilitas dari film (Shakeel, Baboota, Ahuja, Ali, Aqil, & Shafiq, 2007). Dalam penelitian ini digunakan sorbitol 70 % sebagai kosurfaktan.

Pembuatan nanoemulsi dilakukan dengan cara pengadukan konstan campuran tween 80, sorbitol, dan air lalu dilakukan titrasi minyak biji jinten hitam sedikit demi sedikit sehingga didapatkan sediaan nanoemulsi yang homogen, jernih, dan memiliki ukuran partikel yang kecil. Kecepatan pengadukan divariasikan mulai dari 1000-30000 rpm. Lama pengadukan pun divariasikan mulai dari 3-7 menit untuk mendapatkan nanoemulsi yang optimum.

Dari berbagai percobaan pendahuluan, didapatkan kondisi optimum untuk membuat nanoemulsi yaitu pada kecepatan pengadukan 5000 rpm, waktu pengadukan 3 menit, dan dilakukan pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$). Setelah terbentuk, nanoemulsi lalu disimpan di dalam wadah gelas yang tidak tembus cahaya dan

tertutup rapat untuk mencegah kontaminasi serta penguraian sifat antioksidan karena cahaya.

4.2 Hasil Evaluasi Sediaan Nanoemulsi

4.2.1 Hasil Evaluasi Organoleptis

Ketiga formula nanoemulsi masing-masing telah dilakukan evaluasi awal yang hasilnya dapat dilihat pada Tabel 4.1. dan foto sediaan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1. Foto awal semua formula nanoemulsi

Karakteristik masing-masing formula sebagai berikut:

a. Formula I

Formula I memiliki warna kuning coklat (Pantone 123 c), jernih, berbau khas minyak biji jinten hitam, memiliki pH 6,27; ukuran globul rata-rata 1,838 nm, viskositas 5328,9965 cps, dan bobot jenis 1,0899 g/ml.

b. Formula II

Formula II memiliki warna kuning coklat (Pantone 123 c), jernih, berbau khas minyak biji jinten hitam, memiliki pH 6,05; ukuran globul rata-rata 2,385 nm, viskositas 2103,1393 cps, dan bobot jenis 1,0957 g/ml.

c. Formula III

Formula III memiliki warna kuning coklat (Pantone 123 c), jernih, berbau khas minyak biji jinten hitam, memiliki pH 6,00; ukuran globul rata-rata 60,210 nm, viskositas 159,5385 cps, dan bobot jenis 1,1075 g/ml.

Pengamatan organoleptis ketiga formula nanoemulsi minyak biji jinten hitam menunjukkan bahwa nanoemulsi berwarna kuning kecoklatan (Pantone 123

c). Warna tersebut terbentuk dari perpaduan warna minyak biji jinten hitam sendiri yang berwarna coklat dan tween 80 yang berwarna kuning. Ketiga formula yang dibuat tidak memiliki perbedaan warna yang signifikan. Bau khas minyak biji jinten hitam pun masih tercium dalam sediaan.

4.2.2 Uji pH

Secara umum, pH ketiga formula nanoemulsi cenderung bersifat netral yaitu formula I, II, dan III secara berturut-turut (6,27; 6,05; 6,00). Hal ini dikarenakan bahan-bahan yang digunakan berada pada kisaran pH netral seperti tween 80 memiliki pH 7 (menurut COA), sorbitol memiliki pH 3,5-7 (menurut USP32-NF27), dan aquademineralisata memiliki pH 7. Walaupun demikian, terlihat sedikit perbedaan pH diantara formula tersebut. Formula I dengan kandungan tween 80 tertinggi dan sorbitol terendah memiliki pH yang tertinggi mendekati netral. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi tween 80 dan semakin rendah konsentrasi sorbitol pada sediaan, akan membuat pH sediaan cenderung mendekati netral (pH 7).

4.2.3 Penentuan Bobot Jenis

Bobot jenis ketiga formula diukur menggunakan piknometer pada suhu kamar (29°C). Berdasarkan pengukuran dan perhitungan (Tabel 4.1 dan Lampiran 2), didapatkan hasil bobot jenis formula I, II, dan III berturut-turut yaitu 1,0899 g/ml, 1,0957 g/ml, dan 1,1075 g/ml. Pengukuran bobot jenis sediaan perlu dilakukan untuk melihat kontinuitas bobot jenis jika ada pengulangan pembuatan sediaan.

4.2.4 Pengukuran Distribusi Ukuran Globul

Ukuran globul merupakan hasil dari kesetimbangan dinamik antara efek yang cenderung menurunkan ukuran partikel dan efek yang membuat koalesens (Salager, et al., 2001). Berdasarkan hasil pengukuran pada minggu ke-0 dengan menggunakan *zetasizer* pada Lampiran 7-9, diketahui ukuran globul rata-rata pada formula I, II, dan III secara berturut-turut yaitu 1,838 nm, 2,385 nm, dan 60,210 nm. Hal ini terjadi karena peningkatan energi pengadukan cenderung menurunkan

ukuran globul karena lebih mempengaruhi mekanisme pemecahan globul daripada laju koalesens. Selain itu, peningkatan energi pengadukan diharapkan dapat memperluas area dimana penurunan tegangan permukaan dapat memperkecil ukuran globul (Salager, et al., 2001).

Penurunan ukuran globul yang signifikan terlihat dengan tingginya konsentrasi tween 80 hingga 40 % yang menghasilkan ukuran globul terkecil yaitu 1,838 nm. Data tersebut menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi tween 80 yang semakin meningkat akan menurunkan ukuran globul nanoemulsi. Hal ini terjadi dikarenakan adanya peningkatan absorpsi surfaktan diantara permukaan minyak-air, dan penurunan tegangan permukaan dalam sistem sehingga mendukung terbentuknya nanoemulsi dengan ukuran globul lebih kecil (Salim, Basri, Rahman, Abdullah, Basri, & Salleh, 2011). Oleh karena itu, kombinasi antara peningkatan konsentrasi surfaktan dan energi pengadukan cenderung menghasilkan penurunan ukuran globul (Salager, Andérez, Briceño, de Sánchez, & de Gouveia, 2002).

Setelah penyimpanan pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu, dilakukan kembali pengukuran diameter globul rata-rata masing-masing nanoemulsi. Hasil pengukuran diameter globul rata-rata pada formula I, II, dan III secara berturut-turut yaitu 8,215 nm, 9,742 nm, dan 10,410 nm seperti pada Lampiran 10-12. Hal ini terjadi karena tidak adanya energi pengadukan setelah penyimpanan sehingga meningkatkan laju koalesens (Salager, et al., 2001). Sedangkan pada formula III yang memiliki kandungan sorbitol tertinggi, terjadi penurunan ukuran globul nanoemulsi. Hal ini sesuai dengan hasil penelitian Piao & Adachi (2006) yang juga menggunakan sorbitol.

4.2.5 Uji Viskositas

Nanoemulsi pada masing-masing formula yang dihasilkan berbentuk cair sehingga memiliki tipe aliran Newton. Oleh karena itu, nilai viskositas dari masing-masing formula diukur menggunakan viskometer bola jatuh Hoesppler dengan bola jenis *stainless steel*. Viskositas suatu sediaan dipengaruhi oleh beberapa faktor diantaranya adalah faktor pencampuran atau pengadukan saat proses pembuatan sediaan, pemilihan zat pengental dan surfaktan, proporsi fase

terdispersi, dan ukuran partikel (Ansel, 1989). Viskositas awal ketiga formula nanoemulsi dapat dilihat pada Lampiran 5. Formula I, II, dan III memiliki viskositas secara berurutan yaitu 5328,9965 cps; 2103,1393 cps; dan 159,5385 cps. Hal tersebut menunjukkan semakin rendah kandungan tween 80 dalam sediaan akan mengakibatkan penurunan viskositas. Menurut Koocheki & Kadkhodae (2011), peningkatan konsentrasi tween 80 akan meningkatkan viskositas karena tween 80 menurunkan ukuran globul. Adanya penurunan ukuran globul akan meningkatkan jumlah partikel terkait usaha yang dilakukan suatu sistem untuk menjaga massa yang konstan. Jumlah globul kecil yang lebih banyak tersebut akan meningkatkan interaksi antar globul sehingga terjadi peningkatan viskositas (Fletcher, 2012).

Viskositas setelah penyimpanan selama 8 minggu pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) mengalami penurunan dari viskositas awal yang dapat dilihat Lampiran 6. Hal ini terjadi karena adanya pembesaran ukuran globul yang akan menurunkan interaksi antar globul sehingga viskositas menurun (Fletcher, 2012).

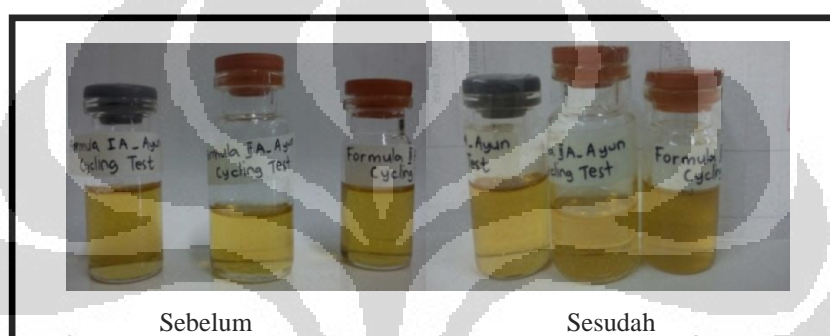
4.2.6 Uji Stabilitas Fisik Nanoemulsi

4.2.6.1 Pengamatan *Cycling test*

Cycling test dilakukan dengan menyimpan nanoemulsi pada suhu dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 24 jam lalu dipindahkan ke dalam suhu $40\pm 2^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam (1 siklus). Percobaan tersebut diulang sebanyak 6 siklus lalu diamati perubahannya dan dibandingkan dengan nanoemulsi sebelumnya. Berdasarkan hasil pengamatan *cycling test* pada ketiga formulasi (Tabel 4.2), formula I dan II menunjukkan hasil yang stabil dimana secara organoleptis sama dengan sebelumnya, tidak terbentuk kristal, dan tidak mengalami pemisahan fase. Formula III menunjukkan ketidakstabilan nanoemulsi dengan adanya pemisahan fase. Hal ini dikarenakan kandungan tween dalam formula tersebut paling sedikit dibandingkan formula lainnya (24 %) sehingga tidak mampu menjaga kestabilan nanoemulsi.

Tabel 4.2. Hasil *cycling test* selama 6 siklus

Nanoemulsi	Sebelum	Sesudah		
	Pengamatan Organoleptis	Pengamatan Organoleptis	Pemisahan Fase	Kristalisasi
Formula I	Kuning coklat, jernih, bau khas minyak biji jinten hitam	Kuning coklat, jernih, bau khas minyak biji jinten hitam	Tidak terjadi	Tidak terjadi
Formula II	Kuning coklat, jernih, bau khas minyak biji jinten hitam	Kuning coklat, jernih, bau khas minyak biji jinten hitam	Tidak terjadi	Tidak terjadi
Formula III	Kuning coklat, jernih, bau khas minyak biji jinten hitam	Kuning coklat, jernih, bau khas minyak biji jinten hitam	Terjadi pemisahan fase	Tidak terjadi

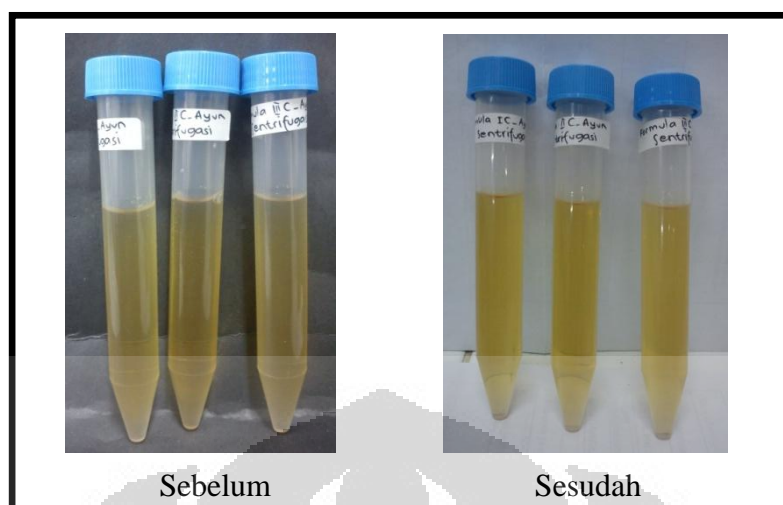
**Gambar 4.2.** Hasil *cycling test*

4.2.6.2 Uji Sentrifugasi

Ketiga formula nanoemulsi disentrifugasi dengan kecepatan putaran 3800 rpm selama 5 jam. Hasil uji tersebut dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Gambar 4.3 menunjukkan tidak terjadi pemisahan fase pada formula I dan II sehingga kedua formula ini memiliki kestabilan selama 1 tahun (Rieger, M.M, 1994). Pada formula III, terjadi pemisahan fase sehingga formula tersebut tidak stabil secara mekanik. Hal ini terjadi karena kandungan tween dalam formula tersebut paling sedikit dibandingkan formula lainnya (24 %) sehingga tidak mampu menjaga kestabilan nanoemulsi.

Tabel 4.3. Hasil pengamatan uji sentrifugasi 3800 rpm selama 5 jam

Nanoemulsi	Sebelum	Sesudah
Formula I	Stabil	Stabil
Formula II	Stabil	Stabil
Formula III	Stabil	Terjadi pemisahan fase



Gambar 4.3. Hasil uji sentrifugasi

4.2.6.3 Penyimpanan pada Suhu Rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), Suhu Kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan Suhu Tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$)

a. Pengamatan Organoleptis

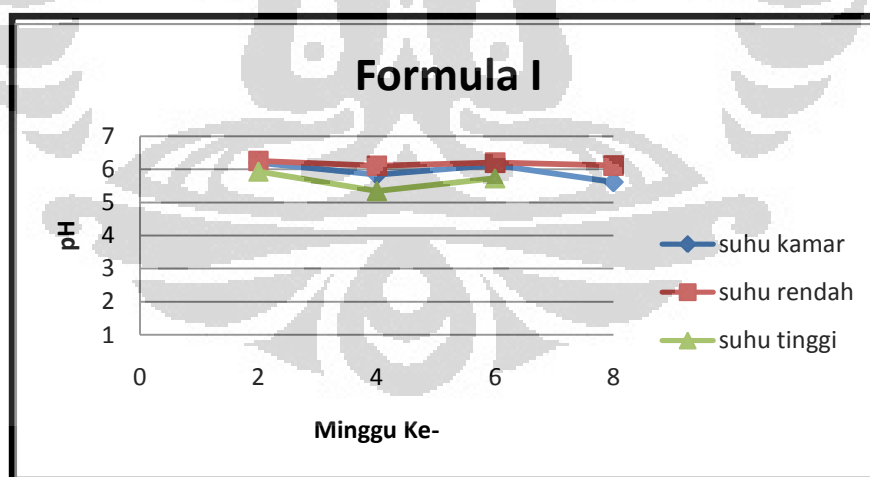
Hasil pengamatan uji stabilitas ketiga formula nanoemulsi pada berbagai suhu selama 8 minggu dapat dilihat pada Gambar 4.4-4.9 dan Tabel 4.4-4.6. Pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), ketiga formula nanoemulsi tidak mengalami perubahan warna, bau, dan kejernihan serta tidak terjadi pemisahan sehingga dapat dikatakan ketiga formula stabil dalam suhu rendah. Pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$), ketiga formula nanoemulsi tidak mengalami pemisahan tetapi hanya formula I yang tetap jernih hingga minggu ke-4 dibandingkan formula lain yang berkabut. Hal ini mungkin terjadi dikarenakan adanya oksidasi akibat tidak ada penambahan pengawet ataupun antioksidan dalam formula. Penambahan pengawet dan antioksidan dalam formula tidak dilakukan agar hasil pengamatan menjadi tidak bias karena pada penelitian ini akan diamati aktivitas antioksidan secara alami dari sediaan.

Pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$), formula I dan II tetap jernih dan tidak mengalami pemisahan fase hingga minggu ke-4 sedangkan formula III sudah berkabut sejak minggu ke-2. Hal ini menunjukkan formula III paling tidak stabil pada suhu tinggi dibandingkan dengan formula lainnya. Pada formula III,

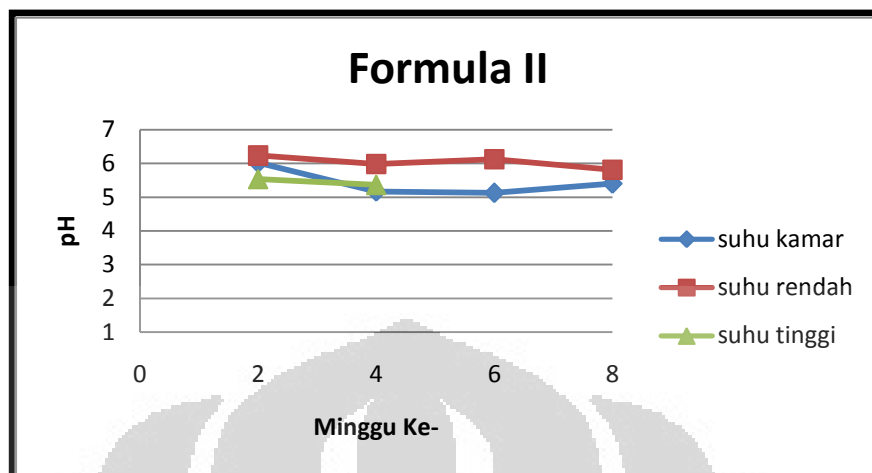
kandungan tween 80 paling sedikit dibandingkan formula lainnya (24 %) sehingga tidak mampu menjaga kestabilan nanoemulsi.

b. Pengukuran pH

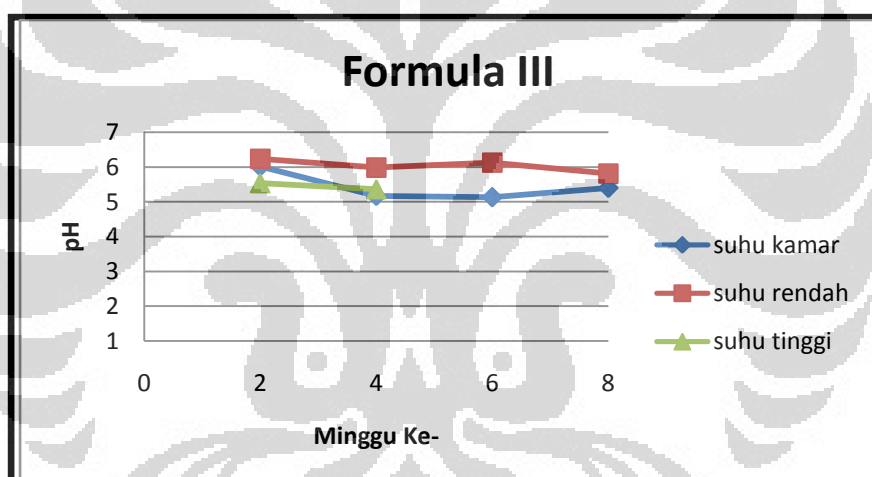
Pada pengujian stabilitas fisik, dilakukan penyimpanan nanoemulsi pada berbagai suhu yaitu suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$), dan suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) dengan hasil evaluasi pengukuran yang dapat dilihat pada Tabel 4.7. Penyimpanan suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu ruang ($27-30^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu tidak memberikan perbedaan pH yang signifikan pada setiap minggunya setelah dilakukan analisis data menggunakan uji Kruskal-Wallis dengan SPSS 19 yang terdapat pada Lampiran 4. Hal tersebut menunjukkan bahwa ketiga formula cukup stabil pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu ruang ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) karena salah satu parameter ketidakstabilan suatu sediaan adalah adanya perubahan pH yang signifikan. Pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$), tidak dapat dilakukan pengamatan perubahan pH karena nanoemulsi cepat mengalami pemisahan fase yaitu pada sekitar minggu ke-6. Jika telah terjadi pemisahan fase, pengukuran pH sediaan akan menjadi bias karena sediaan sudah tidak terdistribusi secara homogen.



Gambar 4.4. Grafik perubahan pH formula I pada berbagai suhu penyimpanan



Gambar 4.5. Grafik perubahan pH formula II pada berbagai suhu penyimpanan



Gambar 4.6. Grafik perubahan pH formula III pada berbagai suhu penyimpanan

4.2.7 Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)

4.2.7.1 Uji Kualitatif DPPH

Uji kualitatif dilakukan untuk mengetahui apakah sampel minyak biji jinten hitam dan sediaan komersial benar mengandung antioksidan. Hasil pada kertas *whattmann* (Gambar 4.11) menunjukkan adanya warna kuning yang intensif pada hasil penotolan sampel yang disemprot dengan larutan DPPH 50 ppm sehingga dapat disimpulkan kedua sampel mengandung antioksidan.

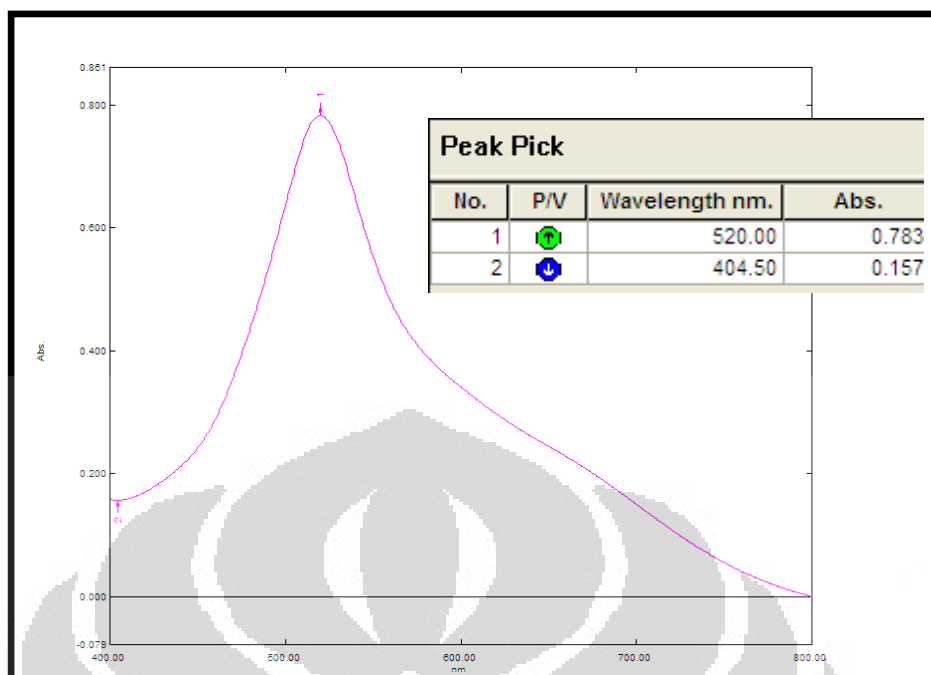
4.2.7.2 Uji Peredaman Radikal Bebas DPPH

Penggunaan metode DPPH sebagai uji aktivitas antioksidan merupakan metode yang simpel, cepat, dan nyaman digunakan dalam skrining banyak sampel untuk mengetahui aktivitas penangkapan radikal bebas (*radical scavenging*) (Marxen, Vanselow, Lippemeier, Hintze, Ruser, & Hansen, 2007). Prinsip kerja metode DPPH adalah adanya senyawa antioksidan (AH) akan mendonorkan hidrogen (H) pada DPPH sehingga mengubah radikal bebas DPPH yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning pucat. Lalu diukur serapannya pada panjang gelombang 520 nm dengan Spektrofotometer UV-Vis (Molyneux, 2004). DPPH yang tersisa diukur serapannya setelah jangka waktu tertentu yaitu 30 menit untuk memberikan kesempatan terjadinya reaksi.

Penentuan aktivitas antioksidan diawali dengan pengukuran serapan minyak biji jinten hitam, blanko positif berupa d- alfa tokoferol 1300 IU, dan sediaan komersial minyak biji jinten hitam dalam kapsul lunak. Selanjutnya dilakukan pengukuran sediaan nanoemulsi pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 agar dapat mengevaluasi aktivitas antioksidan sediaan selama penyimpanan. Peredaman DPPH ini menggunakan pelarut toluen p.a karena minyak biji jinten hitam dapat larut didalamnya dan DPPH pun dapat terlarut dengan cukup stabil. Inkubasi dilakukan pada suhu kamar (29°C) selama 30 menit dalam tabung terlindung cahaya sesuai dengan metode pengukuran aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam yang dilakukan oleh Ramadan, Kroh, & Morsel (2003).

a. Pengukuran Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum yang digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH ini adalah panjang gelombang maksimum dari larutan DPPH dalam toluen p.a. Untuk menentukan panjang gelombang maksimum tersebut, larutan DPPH 40 ppm diukur dengan spektrofotometer UV-Vis lalu dilihat panjang gelombang maksimum dan serapannya. Panjang gelombang DPPH maksimum yang dihasilkan adalah pada panjang gelombang 520 nm yang ditandai dengan adanya puncak. Spektrum serapan dari DPPH dapat dilihat pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10. Spektrum serapan DPPH 40 ppm dengan pelarut toluen p.a

b. Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH dinyatakan dalam IC_{50} atau konsentrasi yang mampu menghambat DPPH sebesar 50 %. Semakin kecil IC_{50} suatu sampel, maka semakin kuat aktivitas antioksidan sampel tersebut. Contoh perhitungan IC_{50} untuk semua sampel dapat dilihat pada Lampiran 3.

Aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam sendiri ternyata belum dapat menyamai aktivitas antioksidan blanko positif yaitu d-alfa tokoferol 1300 IU. Hal tersebut ditunjukkan dengan IC_{50} minyak biji jinten hitam sebesar 726,8423 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan IC_{50} d-alfa tokoferol 1300 IU sebesar 7,7093 $\mu\text{g/ml}$. Walaupun demikian, nilai IC_{50} minyak biji jinten hitam yang telah dilakukan Sultan, M. T., Butt, M. S., & Anjum, F. M. (2009) dengan metode DPPH pun tidak berbeda jauh dengan hasil yang didapatkan yaitu sebesar $515 \pm 20,1 \mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} yang lebih besar ini kemungkinan dikarenakan proses autooksidasi yang terjadi selama ekstraksi, distribusi, atau bahkan saat penyimpanan sampel. Perbedaan sumber tanaman dan variasi lingkungan pun dapat mengakibatkan perbedaan kandungan antioksidan.

Penggunaan satu metode pengukuran aktivitas antioksidan untuk minyak biji jinten hitam ternyata masih belum dapat menggambarkan keseluruhan aktivitas antioksidan minyak tersebut. Hal ini terjadi karena kandungan antioksidan minyak biji jinten hitam yang kompleks seperti asam lemak, tokoferol, fenol, dan β -karoten sehingga terdapat berbagai mekanisme antioksidan dalam minyak biji jinten hitam. Oleh karena itu, sangat disarankan untuk menggunakan lebih dari satu macam uji aktivitas antioksidan dan minimal menggunakan salah satu uji yang berhubungan dengan biologis (Badarinath, Rao, Chetty, Ramkanth, Rajan, & Gnnaprakash, 2010).

Nilai IC_{50} d-alfa tokoferol 1300 IU 7,7093 $\mu\text{g/ml}$ ini tidak jauh berbeda dengan nilai IC_{50} alfa tokoferol yang pernah diteliti, yaitu $7,3 \pm 0,308 \mu\text{g/ml}$ (Myers, 2004). Sedangkan untuk sediaan komersial dalam kapsul lunak ternyata menghasilkan aktivitas antioksidan lebih rendah dari minyak biji jinten hitam yang digunakan yaitu memiliki IC_{50} sebesar 2508,3084 $\mu\text{g/ml}$. Walaupun pernyataan 100 % minyak biji jinten hitam murni tertera dalam kemasan sediaan komersial tersebut, kemungkinan masih adanya penambahan bahan tertentu atau terjadi autooksidasi selama proses ekstraksi, produksi dan distribusi hingga ke tangan konsumen.

Pengukuran aktivitas antioksidan sediaan nanoemulsi seharusnya dilakukan pada minggu ke-0 tetapi penentuan cara ekstraksi sediaan yang tepat untuk menghasilkan kembali minyak biji jinten hitam yang akan diuji aktivitas antioksidannya ternyata membutuhkan waktu optimasi yang lebih lama. Hal ini mengakibatkan penentuan aktivitas antioksidan yang optimal terjadi pada minggu ke-6 yaitu IC_{50} berturut-turut formula I, II, dan III adalah 51839,8961; 39620,4172; dan 37011,8176. Kandungan minyak biji jinten hitam pada ketiga formula sebesar 5 % sehingga IC_{50} sediaan seharusnya berkisar pada nilai 15000 $\mu\text{g/ml}$ namun IC_{50} sediaan yang didapatkan lebih tinggi. Hal ini mungkin terjadi karena terjadi autooksidasi selama ekstraksi minyak dari nanoemulsi.

Aktivitas antioksidan ketiga formula nanoemulsi pada minggu ke-8, secara berturut-turut IC_{50} ketiga formula nanoemulsi yaitu 18371,0923; 29520,7956; dan 25623,0009 $\mu\text{g/ml}$. IC_{50} sediaan yang menjadi lebih tinggi yang berarti bahwa aktivitas antioksidan sediaan terlihat semakin meningkat seiring dengan lamanya

penyimpanan. Hal ini terjadi karena kestabilan nanoemulsi pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) relatif menurun pada minggu ke-8 sehingga memudahkan ekstraksi minyak dari nanoemulsi walaupun cara ekstraksi yang digunakan sama dengan sebelumnya. Selain itu, temperatur, kelembapan, kontak udara dengan sediaan, cahaya, dan ada atau tidaknya antioksidan dan prooksidan dalam sediaan dapat mempengaruhi reaksi oksidasi (Meyer, 1976). Oleh karena itu, untuk membuat sediaan menggunakan minyak biji jinten hitam sebagai antioksidan perlu ditambahkan antioksidan sintetik atau dikombinasikan dengan antioksidan alami lain seperti vitamin E.



BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Nanoemulsi minyak biji jinten hitam formula I memiliki stabilitas fisik terbaik dibandingkan dengan formula lainnya
2. Aktivitas antioksidan nanoemulsi minyak biji jinten hitam yang diformulasi lebih rendah daripada aktivitas minyak biji jinten hitam
3. Penyimpanan sediaan dapat mempengaruhi aktivitas antioksidan

5.2 Saran

Untuk membuat sediaan menggunakan minyak biji jinten hitam sebagai antioksidan, perlu ditambahkan antioksidan sintetik atau dikombinasikan dengan antioksidan alami lainnya. Sediaan ini dapat dikembangkan lebih lanjut dengan penambahan zat aktif tertentu untuk tujuan terapi tertentu pula.

DAFTAR ACUAN

- Ansel, Howard. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi Edisi IV*. Jakarta: UI Press, 387-388.
- Badarinath, A., Rao, K.M., Chetty, C.M., Ramkanth, S., Rajan, T., & Gnnaprakash, K. (2010). A Review on In-vitro Antioxidant Methods: Comparisons, Correlation, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research Vol. 2, No. 2*, 1276-1285.
- Bagchi, K., & Puri, S. (1998). Free Radicals and Antioxidants in Health and Disease. *Eastern Mediterranean Health Journal Volume 4 Issue 2*, 350-360.
- Bhatt, P., & S. Madhav, S. (2011). A Detailed Review on Nanoemulsion Drug Delivery System. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research Vol 2*, 2482-2489.
- Burits, M., & Bucar, F. (2000). Antioxidant Activity of Nigella sativa Essential Oil. *Phytotherapy Research 14*, 323-328.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., & Blecker, C. (2007). Nigella sativa L.: Chemical Composition and Physicochemical Characteristics of Lipid Fraction. *Food Chemistry 101*, 673-681.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979a). *Materia Medika Indonesia Jilid III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 112-117.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979b). *Vademenum Bahan Obat Alam*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 99-100.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia
- Djajadisastra, J. (2004). *Cosmetic Stability*. Departemen Farmasi Fakultas Matematika & Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok: Seminar Setengah Hari HIKI.
- Donsi, F., Wang, Y., & Huang, Q. (2011). Freezeethaw Stability of Lecithin and Modified Starch-based Nanoemulsions. *Food Hydrocolloids 25*, 1327-1336.

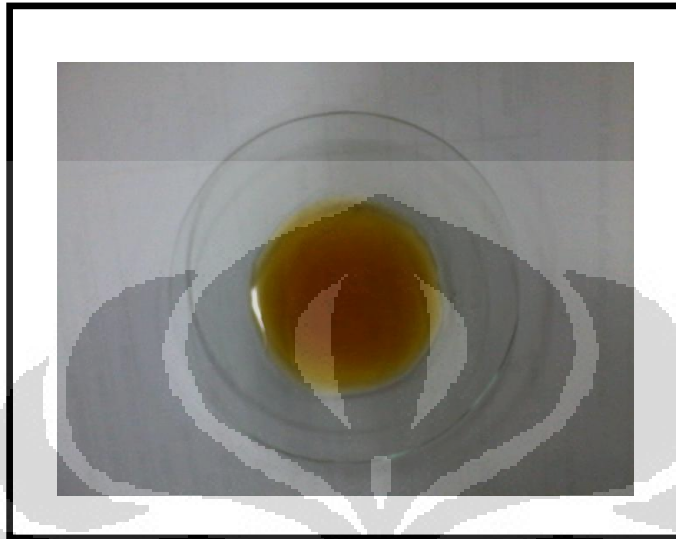
- El-Beshbishy, H. A., Mohamadin, A. M., & Abdel-Naim, A. B. (2009). In Vitro Evaluation of the Antioxidant Activities of Grape Seed (*Vitis vinifera*) Extract, Blackseed (*Nigella sativa*) Extract, and Curcumin. *Journal of Taibah University Medical Science* 4(1), 23-35.
- El-Tahir, K. E.-D., & Bakeet, D. M. (2006). The Black Seed *Nigella sativa* Linnaeus - A Mine for Multi Cures: A Plea for Urgent Clinical Evaluation of Its Volatile Oil. *J T U Med Sci*, 1-19.
- Fanun, M. (2010). *Colloids in Drug Delivery*. Florida: CRC Press.
- Fletcher, J. (2012). Making the Connection - Particle Size, Size Distribution, and Rheology. CHEMIE.DE Information Service GmbH. www.chemeurope.com/en/whitepapers/61207/making-the-connection-particle-size-size-distribution-and-rheology.html.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI, 16-39.
- Haq, A., Abdullatif, M., Lobo, P. I., Khabar, K. S., Sheth, K. V., & Al-Sedairy, S. T. (1995). *Nigella sativa*: Effect on Human Lymphocytes and Polymorphonuclear Leukocyte Phagocytic Activity. *Immunopharmacology* 30, 147-155.
- Hutapea, J.R. (1994). *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI Badan Penelitian & Pengembangan Kesehatan.
- Kelmann, R. G., Kuminek, G., Teixeira, H. F., & Koester, L. S. (2007). Carbamazepine Parenteral Nanoemulsions Prepared by Spontaneous Emulsification Process. *International Journal of Pharmaceutics* 342, 231-239.
- Koocheki, A., & Kadkhodae, R. (2011). Effect of Alyssum homolocarpum Seed Gum, Tween 80, and NaCl on Droplets Characteristics, Flow Properties, and Physical Stability of Ultrasonically Prepared Corn Oil-in-Water Emulsions. *Food Hydrocolloids* 25, 1149-1157
- Kress, H. (2011). <http://www.henriettesherbal.com/files/images/photos/p09/nigella-sativa-3.jpg>
- Lide, D. R. & Haynes, W. M. (2010). *CRC Handbook of Chemistry and Physics 90th edition*. Florida : CRC Press

- Lockwood, B. (2007). *Nutraceuticals Second Edition*. Illinois: Pharmaceutical Press
- Martin, A., J., & Cammarata, A. (1983). *Farmasi Fisik Jilid II edisi ketiga* terjemahan. dari *Physical Pharmacy* oleh Joshita. Jakarta: UI Press, 1154, 1077- 1096.
- Marxen, K., Vanselow, K. H., Lippemeier, S., Hintze, R., Ruser, A., & Hansen, U.-P. (2007). Determination of DPPH Radical Oxidation Caused by Methanolic Extracts of Some Microalgal Species by Linear Regression Analysis of Spectrophotometric Measurements. *Sensors* 7, 2080-2095.
- Mason, T. G., Wilking, J. N., Meleson, K., Chang, C. B., & Graves, S. M. (2006). Nanoemulsions: Formation, Structure, and Physical Properties. *Journal of Physics: Condensed Matter* 18, 635-666.
- Meyer, L. H. (1976). *Food Chemistry*. Michigan: Van Nostrand Reinhold Company.
- Molyneux, P. (2004). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2), 211-219.
- Myers, R. L. (2004). The IC50 Rating for Antioxidant Effectiveness. *eBytes Issue 8 CNC copyright*, 1-3.
- Nickavar, B., Mojab, F., Javidnia, K., & Amoli, M. A. (2003). Chemical Composition of the Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Z. Naturforsch* 58c, 629-631.
- Pantone. (2011). *Pantone Calibrated*. Pantone Inc. www.grafiport.com
- Piao, J.& Adachi, S. (2006). Stability of O/W Emulsions Prepared Using Various Monoacylsugar Alcohols as an Emulsifier. *Innovative Food Science and Emerging Technologies* 7, 211–216.
- Powers, S. K., Deruisseau, K. C., Quindry, J., & Hamilton, K. L. (2004). Dietary Antioxidants and Exercise. *Journal of Sports Sciences*, 81-94.

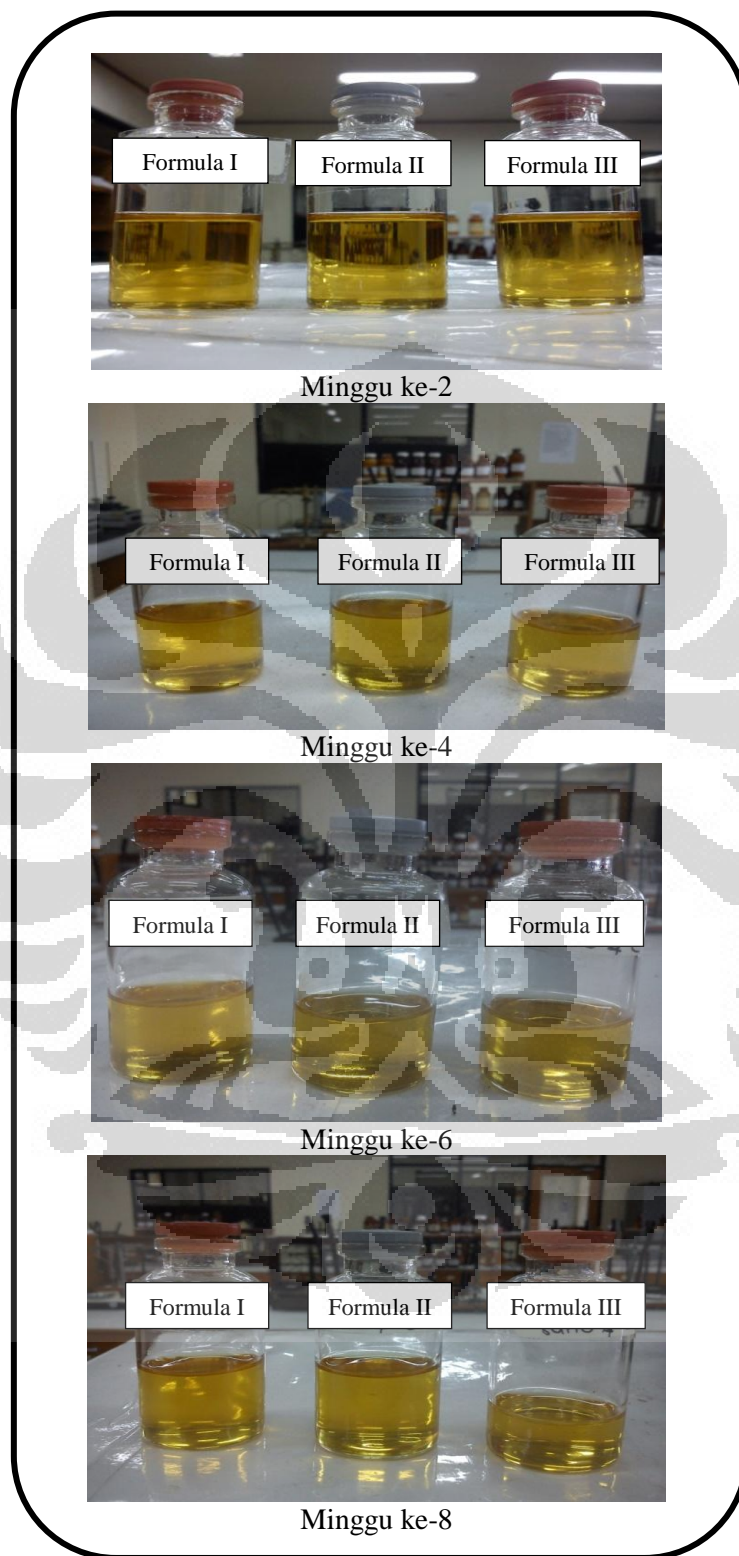
- Ramadan, M. F. (2007). Nutritional Value, Functional Properties and Nutraceutical Applications of Black Cumin (*Nigella sativa* L.): an Overview. *International Journal of Food Science and Technology* 42, 1208-1218.
- Ramadan, M. F., Kroh, L. W., & Morsel, J.-T. (2003). Radical Scavenging Activity of Black Cumin (*Nigella sativa* L.), Coriander (*Coriandrum sativum* L.), and Niger (*Guizotia abyssinica* Cass.) Crude Seed Oils and Oil Fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 51 (24), 6961–6969.
- Rao, J. & McClements, D.J. (2011). Formation of Flavor Oil Microemulsions, Nanoemulsions and Emulsions: Influence of Composition and Preparation Method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 59, 5026–5035.
- Rieger, M.M. (1994). *Emulsi*. Dalam : Lachman. L., H.A. Lieberman, & J.L. Kanig. *Teori dan Praktek Farmasi Industri I*. Terjemahan: Siti Suyatmi. UI Press. Jakarta : 1029-1081.
- Rowe, R.C., P.J. Sheskey, & S.C. Owen. (2009). *Handbook of Pharmaceutic Excipients 6th edition*. London: Pharmaceutical Press and American Pharmacists Association.
- Salager, J. R., Marquez, L., Mira, I., Perez, M., Ramirez, M., Tyrode, E., Zambrano, N., Choplin, L. (2001). Emulsification Efficiency Related to The Combination of Mechanical Energy Input and System Formulation and Composition Variables. *International Symposium on Mixing in Industrial Processes*, 280-284.
- Salager, J. L., Andérez, J. M., Briceño, M. I., de Sánchez, M. P., & de Gouveia, M. R. (2002). Emulsification Yield Related to Formulation and Composition Variables as Well as Stirring Energy. *Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia v.25 n.3 Maracaibo dic.*, 1-16.
- Salim, N., Basri, M., Rahman, M. B., Abdullah, D. K., Basri, H., & Salleh, A. B. (2011). Phase Behaviour, Formation and Characterization of Palm-Based Esters Nanoemulsion Formulation containing Ibuprofen. *J Nanomedic Nanotechnol Vol 2 Issue 4*, 1-5.
- Sarma, A. D., Mallick, A. R., & Ghosh, A. K. (2010). Free Radicals and Their Role in Different Clinical Conditions: An Overview. *International Journal of Pharma Sciences and Research Vol.1(3)*, 185-192.

- Shakeel, F., Baboota, S., Ahuja, A., Ali, J., Aqil, M., & Shafiq, S. (2007). Nanoemulsions as Vehicles for Transdermal Delivery of Aceclofenac. *AAPS PharmSciTech*, 191-199.
- Silva, H. D., Cerqueira, M. A., Souza, B. W., Ribeiro, C., Avides, M. C., Quintas, M. A., Coimbra, J.S.R., Carneiro-da-cunha, M. W., Vicente, A.A. (2011). Nanoemulsions of b-Carotene Using a High-energy Emulsification–evaporation Technique. *Journal of Food Engineering* 102, 130–135.
- Sultan, M. T., Butt, M. S., Anjum, F. M., Jamil, A., Akhtar, S., & Nasir, M. (2009). Nutritional Profile of Indigenous Cultivar of Black Cumin Seeds and Antioxidant Potential. *Pak. J. Bot.*, 41(3), 1321-1330.
- Talegaonkar, S., Azeem, A., Ahmad, F.J., Khar, R.K., Pathan, S.A. & Khan, Z.I. (2008). Microemulsions: A Novel Approach to Enhanced Drug Delivery. *Recent Patents on Drug Delivery & Formulation*, 238-257.
- Tubessa, Z., Iqbal, S., & Ismail, M. (2011). Effects of Hydrolysis Conditions on Recovery of Antioxidants from Methanolic Extracts of *Nigella Sativa* Seeds. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5(22), 5393-5399.
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi 5*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Wahyuni, S. (2009). Peluang Budidaya dan Manfaat Jintan Hitam (*Nigella sativa*). *Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri* Volume 15 No 1, 23-25.
- Widyaningsih, N. N., & Latifah, M. (2008). Pengaruh Keadaan Sosial Ekonomi, Gaya Hidup, Status Gizi, dan Tingkat Stres terhadap Tekanan Darah. *Jurnal Gizi dan Pangan* 3 (1), 1-6.
- Zaoui, A., Cherrah, Y., Mahassini, N., Alaoui, K., Amarouch, H., & Hassar, M. (2002a). Acute and Chronic Toxicity of *Nigella sativa* Fixed Oil. *Phytomedicine* 9, 69-74.
- Zaoui, A., Cherrah, Y., Mahassini, N., Alaoui, K., Amarouch, H., & Hassar, M. (2002b). Effects of *Nigella sativa* Fixed Oil on Blood Homeostasis in Rat. *Journal of Ethnopharmacology* 79, 23-26.

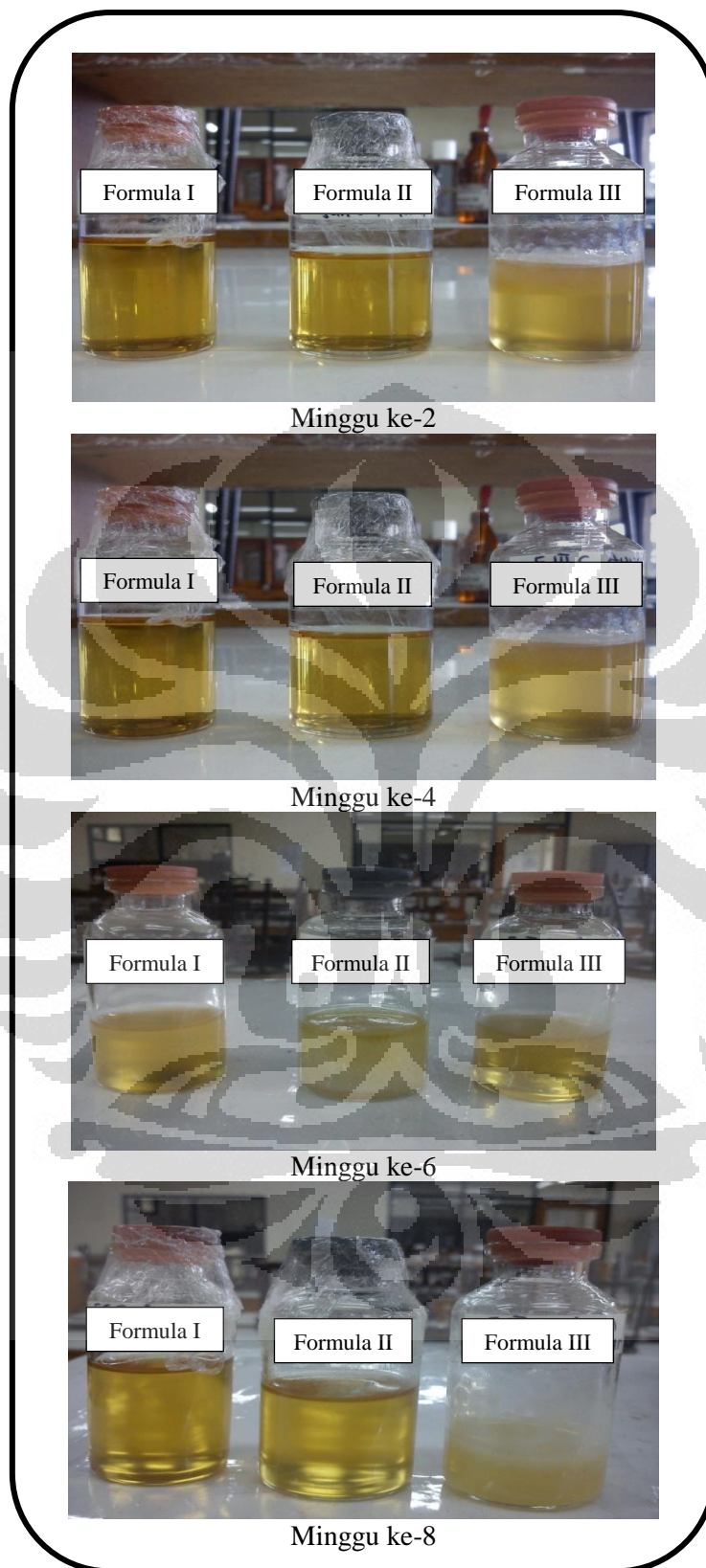




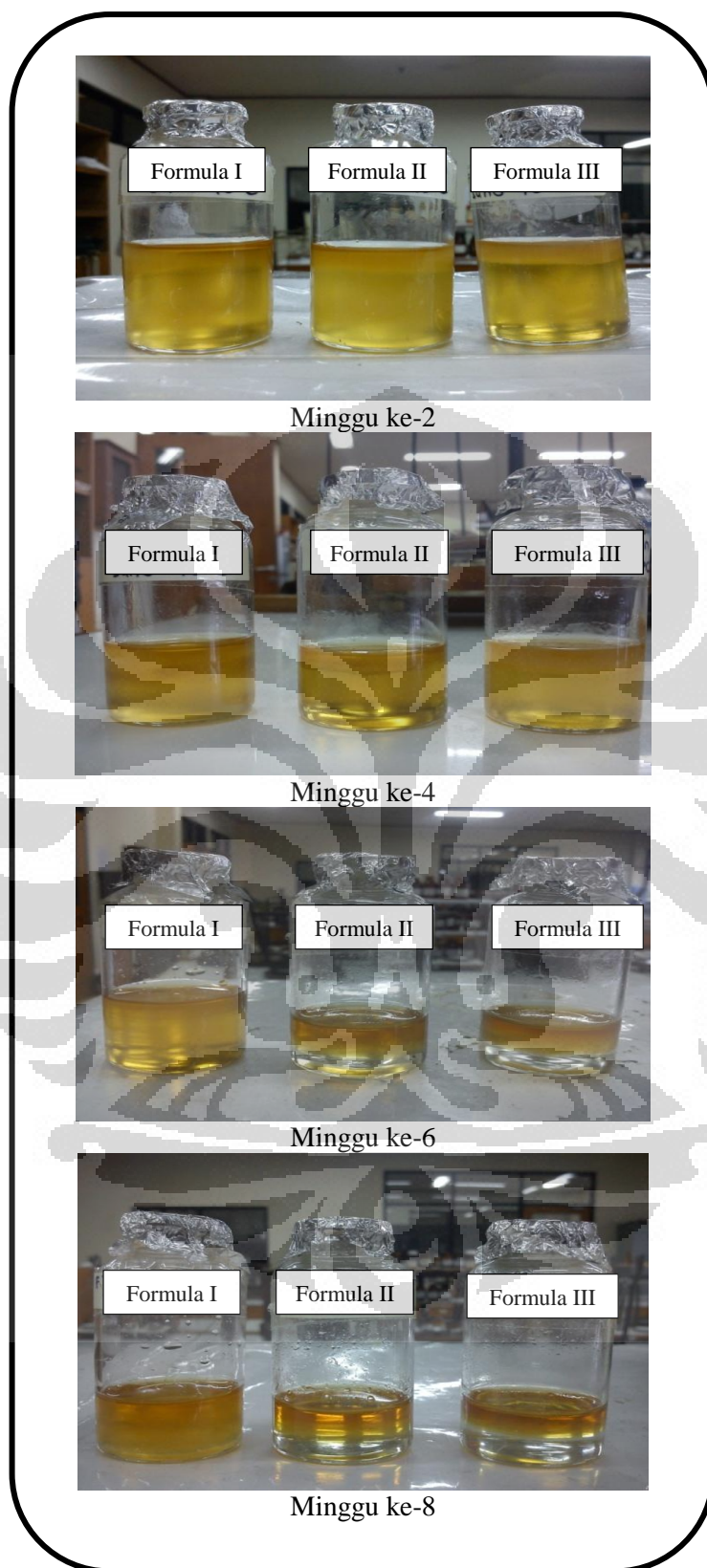
Gambar 2.7. Foto minyak biji jinten hitam



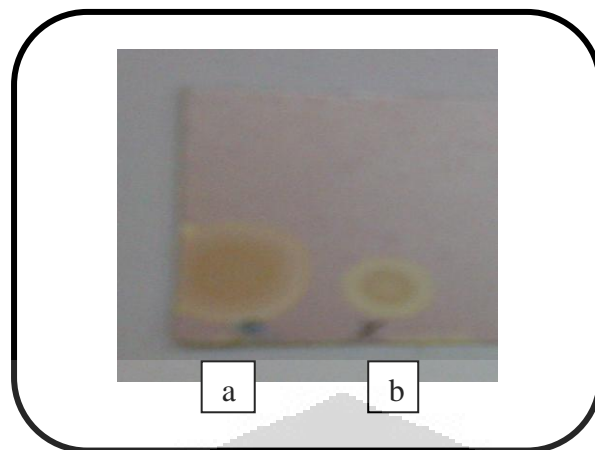
Gambar 4.7. Foto nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu rendah ($4 \pm 2^\circ\text{C}$)



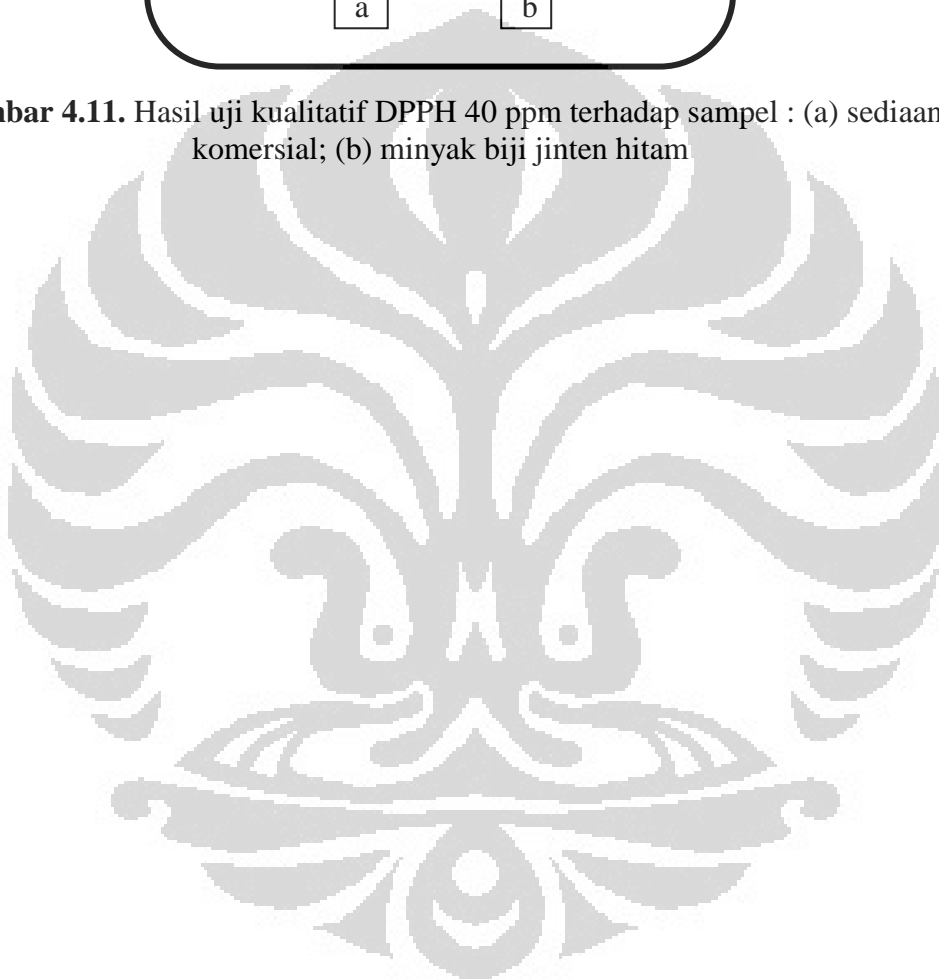
Gambar 4.8. Foto nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$)



Gambar 4.9. Foto nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu tinggi ($40 \pm 2^\circ\text{C}$)



Gambar 4.11. Hasil uji kualitatif DPPH 40 ppm terhadap sampel : (a) sediaan komersial; (b) minyak biji jinten hitam





TABEL

Tabel 4.1. Hasil evaluasi nanoemulsi pada minggu ke-0

Nanoemulsi	Warna	Kejernihan	Bau	pH	Diameter Globul Rata-rata (nm)	Viskositas (cps)	Bobot Jenis (g/ml)
Formula I	Kuning coklat (Pantone 123 c)	Jernih	Bau khas minyak biji jinten hitam	6,27	1,838	5.328,9965	1,0899
Formula II	Kuning coklat (Pantone 123 c)	Jernih	Bau khas minyak biji jinten hitam	6,05	2,385	2.103,1393	1,0957
Formula III	Kuning coklat (Pantone 123 c)	Jernih	Bau khas minyak biji jinten hitam	6,00	60,210	159,5385	1,1075

Tabel 4.4. Hasil pengamatan organoleptis nanoemulsi pada suhu kamar ($29\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Nanoemulsi	Minggu Ke-	Warna	Bau	Kejernihan	Pemisahan
Formula I	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
Formula II	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
Formula III	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada

Tabel 4.5. Hasil pengamatan organoleptis nanoemulsi pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Nanoemulsi	Minggu Ke-	Warna	Bau	Kejernihan	Pemisahan
Formula I	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Ada
Formula II	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Tidak Jernih	Memisah
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Ada
Formula III	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Berkabut	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Tidak jernih	Memisah
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Ada

Tabel 4.6. Hasil pengamatan organoleptis nanoemulsi pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu

Nanoemulsi	Minggu Ke-	Warna	Bau	Kejernihan	Pemisahan
Formula I	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
Formula II	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
Formula III	2	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	4	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	6	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada
	8	Kuning coklat	Bau khas minyak biji jinten hitam	Jernih	Tidak ada

Tabel 4.7. Hasil pengukuran pH nanoemulsi pada suhu tinggi ($29\pm 2^\circ\text{C}$), suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$), dan suhu tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Nanoemulsi	Minggu ke-	Suhu Kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$)	Suhu Rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$)	Suhu Tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$)
Formula IA	2	6,12	6,35	5,99
	4	5,79	6,12	5,51
	6	6,21	6,20	5,62
	8	5,50	6,12	-
Formula IB	2	6,26	6,16	5,88
	4	5,88	6,10	5,18
	6	6,05	6,20	5,84
	8	5,72	6,11	-
Formula IIA	2	5,97	6,26	5,91
	4	5,10	6,02	5,69
	6	5,06	6,12	-
	8	5,39	5,73	-
Formula IIB	2	6,06	6,21	5,16
	4	5,23	5,94	5,03
	6	5,19	6,13	-
	8	5,41	5,89	-
Formula IIIA	2	5,81	6,20	5,71
	4	5,60	5,55	5,93
	6	5,67	5,85	-
	8	5,43	5,64	-
Formula IIIB	2	5,89	6,07	5,81
	4	5,33	5,55	5,87
	6	5,64	5,86	-
	8	5,72	5,66	-

Tabel 4.8. Pengukuran aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam, vitamin E dan sediaan komersial dengan metode peredaman DPPH pada minggu ke-6

Sediaan	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Sampel	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC50 (µg/ml)	IC50 rata-rata (µg/ml)
Minyak Biji Jinten Hitam	0	0,844	0	Y= 2,633+ 0,0138x R=0,999637	686,4782	726,8423
	200	0,796	5,687			
	400	0,780	7,583			
	600	0,743	11,967			
	800	0,736	12,796			
	1000	0,706	16,351			
	5000	0,241	71,445			
	0	0,843	0	Y=1,666+ 0,0126x R=0,997089	767,2064	
	200	0,798	5,338			
	400	0,781	7,355			
	800	0,772	8,422			
	1000	0,711	15,658			
	5000	0,296	64,887			
	Sediaan komersial di pasaran (kapsul Lunak)	0	0,7900			
300		0,7740	2,0253			
400		0,7660	3,0380			
1000		0,7320	7,3418			
5000		0,6180	21,7722			
10.000		0,4800	39,2405			

(lanjutan)

	0	0,7900	0	$Y = 0,6329 + 0,0004176x$	2364,0586	
	300	0,7780	1,5190	$R = 0,999386$		
	400	0,7740	2,0253			
	1000	0,7510	4,9367			
	5000	0,6120	22,5316			
	10.000	0,4590	41,8988			
	0	0,7550	0	$Y = -0,25695 + 0,00407x$	2471,7856	
	200	0,7510	0,5298	$R = 0,9999418$		
	400	0,7450	1,3245			
	800	0,7340	2,7815			
	1000	0,7240	4,1060			
	10000	0,4500	40,3974			
d- alfa tokoferol 1300 IU	0	0,7900	0	$Y = 5,56266 + 1,1721x$	37,9119	7,7093
	5	0,7010	11,2658	$R = 0,9884285$		
	10	0,6500	17,7215		7,5824	
	20	0,5800	26,5823			
	30	0,4360	44,8101			
	40	0,39100	50,5063			
	0	0,7860	0	$Y = 2,3468 + 1,2163x$	39,1804	
	5	0,7250	7,7608	$R = 0,9985363$		
	10	0,6720	14,5038		7,8361	
	20	0,5720	27,2264			
	30	0,4710	40,0763			
	40	0,3940	49,8728			

Tabel 4.9. Pengukuran aktivitas antioksidan nanoemulsi formula I, II, dan III dengan metode peredaman DPPH pada minggu ke-6

Nanoemulsi	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Sampel	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC50 (µg/ml)	IC50 rata-rata (µg/ml)
Formula I	0	0,755	0	$Y = 3,1776726 + 1,781132 \cdot 10^{-4}x$ R = 0,998126	52575,9172	51839,8961
	25000	0,668	11,6556			
	50000	0,593	21,9868			
	100000	0,574	24,1060			
	120000	0,455	38,6755			
	0	0,755	0	$Y = 2,1841484 + 1,87132 \cdot 10^{-4}x$ R = 0,999056	51103,8750	
	25000	0,667	11,5232			
	50000	0,589	21,4570			
	100000	0,573	23,9735			
	120000	0,463	39,7351			
Formula II	0	0,763	0	$Y = 3,57290792 + 2,339461 \cdot 10^{-4}x$ R = 0,998950	39620,4172	39620,4172
	50000	0,648	50,0655			
	100000	0,561	32,6343			
	120000	0,514	26,4744			
	200000	0,381	15,0721			

(lanjutan)

Nanoemulsi	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Sampel	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC50 (µg/ml)	IC50 rata-rata (µg/ml)
Formula III	0	0,766	0	$Y = 1,80839 + 2,57478 \cdot 10^{-4}x$	37433,5532	37011,8176
	50000	0,654	14,6214	$R = 0,999988$		
	100000	0,634	17,2324			
	120000	0,557	27,6821			
	200000	0,358	53,2637			
	0	0,766	0	$Y = 3,24191 + 2,5557794 \cdot 10^{-6}x$	36590,0820	
	50000	0,647	15,5352	$R = 0,999742$		
	100000	0,620	19,0600			
	120000	0,545	28,8512			
	200000	0,350	54,3081			

Tabel 4.10. Pengukuran aktivitas antioksidan nanoemulsi formula I, II, dan III dengan metode peredaman DPPH pada minggu ke-8

Nanoemulsi	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Sampel	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC50 (µg/ml)	IC50 rata-rata (µg/ml)
Formula I	0	0,772	0	$Y = 3,9542 + 5,2467 \cdot 10^{-4} x$ R = 0,999989	17552,1261	18371,0923
	25000	0,641	16,9689			
	50000	0,538	30,3109			
	100000	0,336	56,4767			
	120000	0,256	66,8394			
	0	0,772	0	$Y = 3,2526 + 4,8720 \cdot 10^{-4} x$ R = 0,9998036	19190,0584	
	25000	0,655	15,1554			
	50000	0,555	28,1088			
	100000	0,374	51,5544			
	120000	0,294	61,9171			
Formula II	0	0,786	0	$Y = 5,9074 + 3,0406 \cdot 10^{-4} x$ R = 0,997800	29002,2464	29520,7956
	50000	0,627	20,2290			
	100000	0,486	38,1679			
	120000	0,458	41,7303			
	200000	0,264	66,4122			
	0	0,793	0	$Y = 4,5271 + 3,0276 \cdot 10^{-4} x$ R = 0,996497	30039,3448	
	50000	0,648	18,2850			
	100000	0,499	37,0744			
	120000	0,471	40,6053			
	200000	0,282	64,4388			

(lanjutan)

Nanoemulsi	Konsentrasi Sampel (ppm)	Serapan Sampel	% Inhibisi	Persamaan Regresi Linear	IC50 (µg/ml)	IC50 rata-rata (µg/ml)
Formula III	0	0,786	0	$Y = 6,8457 + 3,3804 \cdot 10^{-4} x$ R= 0,998600	25532,4053	25623,0009
	50000	0,608	22,6463			
	100000	0,461	41,3486			
	120000	0,404	48,6005			
	200000	0,207	73,6641			
	0	0,793	0	$Y = 3,1251 + 3,6459 \cdot 10^{-4} x$ R= 0,999203	25713,5964	
	50000	0,630	20,5549			
	100000	0,477	39,8487			
	120000	0,412	48,0454			
	200000	0,195	75,4098			

LAMPIRAN

Lampiran 1. Perhitungan HLB minyak biji jinten hitam

Berdasarkan hasil analisis Laboratorium Analisis dan Kalibrasi Balai Besar Industri Agro menggunakan kromatografi gas, komposisi asam lemak minyak jinten hitam sebagai berikut:

asam laurat	0,07%
asam miristat	0,19%
asam palmitat	12,6%
asam stearat	2,18%
asam kaprilat	0,01%
asam kaprat	0,26%
asam oleat	17,5%
asam linoleat	66,9%
asam linolenat	0,26%
<hr/>	
Total asam lemak	99,97%

$$\text{HLB} = \Sigma (\text{kelompok hidrofilik}) - \Sigma (\text{kelompok hidrofobik}) + 7$$

HLB butuh masing-masing asam lemak:

asam laurat	: $2,1 - (-0,475 \times 11) + 7$	= 14,325
asam miristat	: $2,1 - (-0,475 \times 13) + 7$	= 15,275
asam palmitat	: $2,1 - (-0,475 \times 15) + 7$	= 16,225
asam stearat	: $2,1 - (-0,475 \times 17) + 7$	= 17,175
asam kaprilat	: $2,1 - (-0,475 \times 7) + 7$	= 12,425
asam kaprat	: $2,1 - (-0,475 \times 9) + 7$	= 13,375
asam oleat	: $2,1 - (-0,475 \times 17) + 7$	= 17,175
asam linoleat	: $2,1 - (-0,475 \times 17) + 7$	= 17,175
asam linolenat	: $2,1 - (-0,475 \times 17) + 7$	= 17,175

HLB masing-masing asam lemak dalam minyak jinten hitam:

asam laurat	: $\frac{0,07}{99,97}$ x 14,325	= 0,0100
asam miristat	: $\frac{0,19}{99,97}$ x 15,275	= 0,0290
asam palmitat	: $\frac{12,6}{99,97}$ x 16,225	= 2,0450
asam stearat	: $\frac{2,18}{99,97}$ x 17,175	= 0,3745
asam kaprilat	: $\frac{0,01}{99,97}$ x 12,425	= 0,0012
asam kaprat	: $\frac{0,26}{99,97}$ x 13,375	= 0,0348
asam oleat	: $\frac{17,5}{99,97}$ x 17,175	= 3,0065
asam linoleat	: $\frac{66,9}{99,97}$ x 17,175	= 11,4935
asam linolenat	: $\frac{0,26}{99,97}$ x 17,175	= 0,0447
Total	:	17,4415 \approx 17,50

Jadi, HLB minyak biji jinten hitam \pm 17,50

Lampiran 2. Cara perhitungan bobot jenis

Bobot jenis nanoemulsi dapat diukur dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Bobot jenis} = \frac{A2-A}{A1-A} \times \rho_{\text{air (suhu } 29^{\circ}\text{C)}}$$

A = Bobot piknometer bersih dan kering (gram)

A1= Bobot piknometer yang diisi dengan aquademineralisata (gram)

A2 = Bobot piknometer yang diisi dengan nanoemulsi (gram)

$$\rho_{\text{air (suhu } 29^{\circ}\text{C)}} = 0,9959486 \text{ g/ml}$$

Diketahui :

$$A = 13,6273 \text{ gram}$$

$$A1 = 24,2163 \text{ gram}$$

$$A2 = 25,2152 \text{ gram}$$

$$\rho_{\text{air (suhu } 29^{\circ}\text{C)}} = 0,9959486 \text{ g/ml}$$

$$\begin{aligned} \text{Bobot jenis nanoemulsi} &= \frac{25,2152 \text{ g} - 13,6273 \text{ g}}{24,2163 \text{ g} - 13,6273 \text{ g}} \times 0,9959486 \text{ g/ml} \\ &= 1,0899 \text{ g/ml} \end{aligned}$$

Lampiran 3. Contoh perhitungan persentase inhibisi minyak biji jinten hitam dengan metode peredaman DPPH

Aktivitas inhibisi radikal bebas dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = 1 - [A_s/A_c] \times 100$$

A_s = serapan sampel dalam larutan DPPH

A_c = serapan kontrol yaitu larutan DPPH tanpa sampel

Diketahui:

Serapan DPPH pada 520 nm = 0,786

Serapan Sampel 1 pada 520 nm = 0,608

$$\% \text{ inhibisi} = 1 - \left[\frac{0,608}{0,786} \right] \times 100\% = 22,6463\%$$

Lampiran 4. Hasil Uji Kruskal-Wallis terhadap nilai pH ketiga nanoemulsi pada suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$) dan dingin ($4\pm 2^\circ\text{C}$) selama pengukuran 8 minggu

Tujuan :

Untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dari nilai pH ketiga nanoemulsi pada suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$) dan dingin ($4\pm 2^\circ\text{C}$) selama pengukuran 8 minggu

Hipotesis:

H_0 = tidak ada perbedaan nilai pH ketiga nanoemulsi pada suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$) dan dingin ($4\pm 2^\circ\text{C}$) selama pengukuran 8 minggu

H_1 = ada perbedaan nilai pH ketiga nanoemulsi pada suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$) dan dingin ($4\pm 2^\circ\text{C}$) selama pengukuran 8 minggu

Taraf nyata: $\alpha = 0,05$

Kriteria penguji: Jika signifikansi $< 0,05$; maka H_0 ditolak

Jika signifikansi $> 0,05$; maka H_0 diterima

Suhu Kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$)

	Test Statistics ^{a,b}		
	Formula I	Formula II	Formula III
Chi-Square	8,451	8,012	7,793
df	4	4	4
Asymp. Sig.	,076	,091	,099

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Minggu

Karena signifikansi formula I, II, dan III pada suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$) berturut-turut (0,076); (0,091); dan (0,099) $> \alpha$ (0,05), maka H_0 diterima. Jadi, tidak ada perbedaan nilai pH ketiga nanoemulsi pada suhu kamar ($29\pm 2^\circ\text{C}$) selama pengukuran 8 minggu yang signifikan terhadap semua formula.

Suhu Dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)

Test Statistics ^{a,b}			
	Formula I	Formula II	Formula III
Chi-Square	7,139	8,780	8,834
df	4	4	4
Asymp. Sig.	,129	,067	,065

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Minggu ke

Karena signifikansi formula I, II, dan III pada suhu dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) berturut-turut (0,129); (0,067); dan (0,065) $> \alpha$ (0,05), maka H_0 diterima. Jadi, tidak ada perbedaan nilai pH ketiga nanoemulsi pada suhu dingin ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama pengukuran 8 minggu yang signifikan terhadap semua formula.

Lampiran 5. Hasil pengukuran viskositas nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu kamar ($29 \pm 2^\circ\text{C}$) di minggu ke-0

Jenis Bola	ρ_b	Nanoemulsi	t			B	ρ_f	η			Rata-rata
			1	2	3			1	2	3	
<i>Stainless steel</i> (d =11,11 mm)	7,7	Formula I	24.02	24.31	23.96	33	1,0899	5.239,5619	5.302,8205	5.444,6072	5.328,9965
		Formula II	9.71	9.63	9.61		1,0957	2.116,2158	2.098,7805	2.094,4217	2.103,1393
		Formula III	0.80	0.70	0.70		1,1075	174,0420	152,2868	152,2868	159,5385

Keterangan :

B = konstanta bola ($\text{mPa.s.cm}^3/\text{g.s}$)

t = waktu yang diperlukan bola jatuh (detik)

η = viskositas (cps)

ρ_b = kerapatan bola (g/cm^3)

ρ_f = kerapatan cairan (g/cm^3)

Lampiran 6. Hasil pengukuran viskositas nanoemulsi formula I, II, dan III pada suhu kamar ($29 \pm 2^\circ\text{C}$) di minggu ke-8

Jenis Bola	ρ_b	Nanoemulsi	t			B	ρ_f	η			Rata-rata
			1	2	3			1	2	3	
<i>Stainless steel</i> (d =11,11 mm)	7,7	Formula I	3.71	3.69	3.78	33	1,0899	809,2745	804,9119	824,5439	812,9101
		Formula II	0.41	0.37	0.38		1,0957	89,3562	80,6385	82,8179	84,2709
		Formula III	0.23	0.24	0.21		1,1075	50,0371	52,2126	45,6860	49,3119

Keterangan :

B = konstanta bola ($\text{mPa}\cdot\text{s}\cdot\text{cm}^3/\text{g}\cdot\text{s}$)

t = waktu yang diperlukan bola jatuh (detik)

η = viskositas (cps)

ρ_b = kerapatan bola (g/cm^3)

ρ_f = kerapatan cairan (g/cm^3)

Lampiran 7. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula I pada minggu ke-0

Size Distribution Report by Volume

v2.1



Sample Details

Sample Name: Sample 4 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Bu Ayu file.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 113	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.59	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorbtion: 0.01	Measurement Date and Time: Monday, March 19, 2012 ...

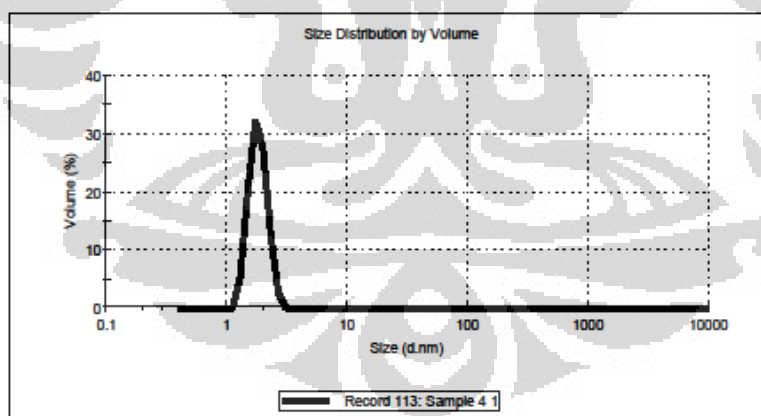
System

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 88.1	Measurement Position (mm): 4.65
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 8

Results

	Size (d.n...	% Volume	Width (d.n...
Z-Average (d.nm): 1593	Peak 1: 33.49	0.1	7.036
Pdl: 1.000	Peak 2: 1.838	99.9	0.3138
Intercept: 0.312	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 8. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula II pada minggu ke-0

Size Distribution Report by Volume

v2.1



Sample Details

Sample Name: Sample 5 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Bu Ayu file.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 114	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.59	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorbtion: 0.01	Measurement Date and Time: Monday, March 19, 2012 ...

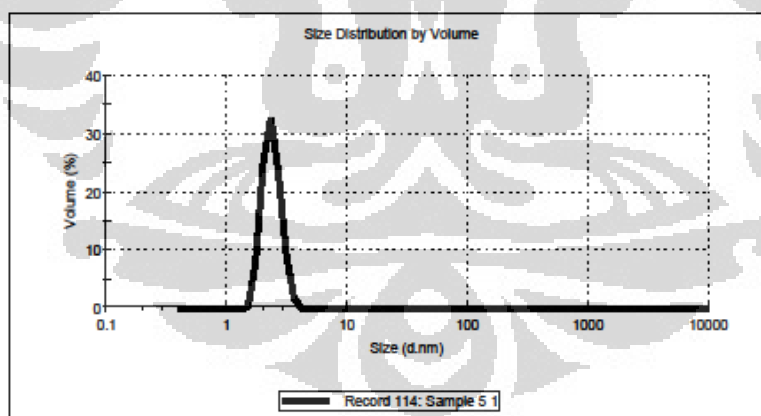
System

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 241.3	Measurement Position (mm): 0.85
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 9

Results

	Size (d.n...	% Volume	Width (d.n...
Z-Average (d.nm): 1430	Peak 1: 46.93	0.1	9.446
Pdl: 0.982	Peak 2: 2.385	99.9	0.4117
Intercept: 0.410	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 9. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula III pada minggu ke-0

Size Distribution Report by Volume

v2.1



Sample Details

Sample Name: Sample 6 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: Bu Ayu file.dts	Dispersant Name: Water
Record Number: 115	Dispersant RI: 1.330
Material RI: 1.59	Viscosity (cP): 0.8872
Material Absorbtion: 0.01	Measurement Date and Time: Monday, March 19, 2012 ...

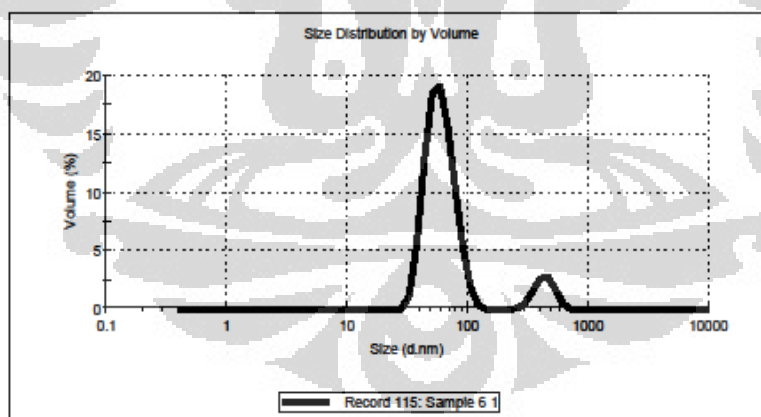
System

Temperature (°C): 25.0	Duration Used (s): 60
Count Rate (kcps): 279.5	Measurement Position (mm): 1.25
Cell Description: Disposable sizing cuvette	Attenuator: 8

Results

	Size (d.n...	% Volume	Width (d.n...
Z-Average (d.nm): 1895	Peak 1: 60.21	90.5	16.06
Pdl: 1.000	Peak 2: 434.6	9.5	79.28
Intercept: 0.747	Peak 3: 0.000	0.0	0.000

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 10. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula I pada minggu ke-8

Size Distribution Report by Volume

v2.1



Sample Details

Sample Name: 4 1
 SOP Name: mansettings.nano
 General Notes:

File Name: Mahasiswa Praktek 6.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 12 Dispersant RI: 1.330
 Material RI: 1.59 Viscosity (cP): 0.8872
 Material Absorbtion: 0.01 Measurement Date and Time: Friday, May 25, 2012 1:3...

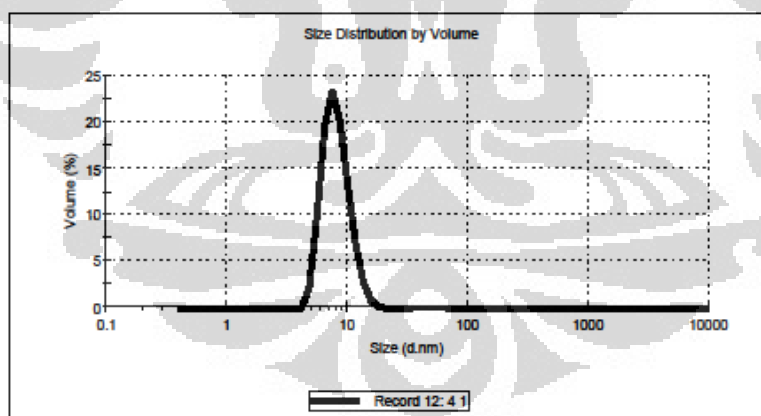
System

Temperature (°C): 25.0 Duration Used (s): 70
 Count Rate (kcps): 200.2 Measurement Position (mm): 4.65
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 9

Results

	Size (d.n...	% Volume	Width (d.n...
Z-Average (d.nm): 56.56	Peak 1: 8.215	99.6	2.116
Pdl: 0.628	Peak 2: 58.98	0.3	28.29
Intercept: 0.928	Peak 3: 218.1	0.1	87.28

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 11. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula II pada minggu ke-8

Size Distribution Report by Volume

v2.1



Sample Details

Sample Name: 5 1
 SOP Name: mansettings.nano
 General Notes:

File Name: Mahasiswa Praktek 6.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 13 Dispersant RI: 1.330
 Material RI: 1.59 Viscosity (cP): 0.8872
 Material Absorbtion: 0.01 Measurement Date and Time: Friday, May 25, 2012 1:4...

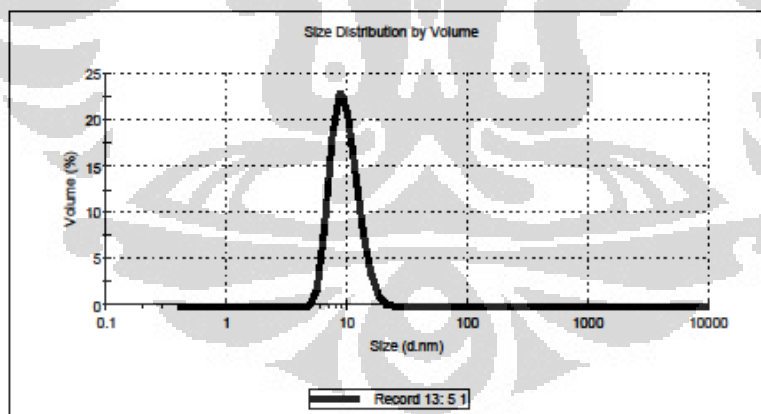
System

Temperature (°C): 25.0 Duration Used (s): 80
 Count Rate (kcps): 223.4 Measurement Position (mm): 4.65
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 9

Results

	Size (d.n...	% Volume	Width (d.n...
Z-Average (d.nm): 41.07	Peak 1: 9.742	99.9	2.553
Pdl: 0.456	Peak 2: 324.1	0.1	122.3
Intercept: 0.865	Peak 3: 5421	0.0	855.2

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 12. Hasil ukuran globul nanoemulsi formula III pada minggu ke-8

Size Distribution Report by Volume

v2.1



Sample Details

Sample Name: 6.1
 SOP Name: mansettings.nano
 General Notes:

File Name: Mahasiswa Praktek 6.dts Dispersant Name: Water
 Record Number: 14 Dispersant RI: 1.330
 Material RI: 1.59 Viscosity (cP): 0.8872
 Material Absorbtion: 0.01 Measurement Date and Time: Friday, May 25, 2012 2:0...

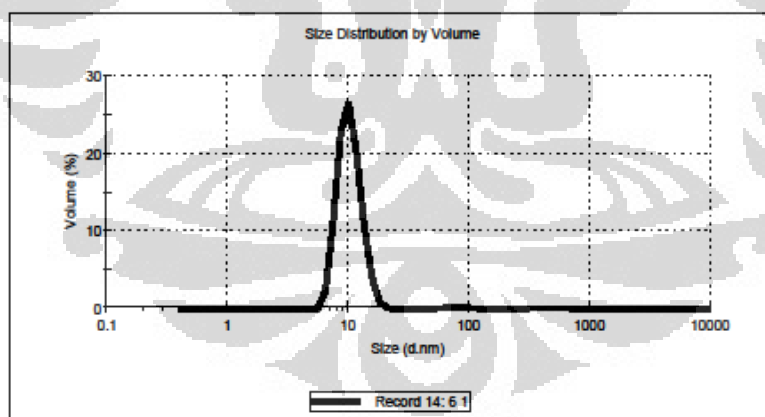
System

Temperature (°C): 25.0 Duration Used (s): 60
 Count Rate (kcps): 351.2 Measurement Position (mm): 4.85
 Cell Description: Disposable sizing cuvette Attenuator: 9



Results

	Size (d.n...	% Volume	Width (d.n...
Z-Average (d.nm): 181.4	Peak 1: 454.9	0.4	147.9
Pdl: 0.462	Peak 2: 88.16	0.5	28.56
Intercept: 0.867	Peak 3: 10.41	99.2	2.271

Result quality **Refer to quality report**



Lampiran 13. Hasil analisis komposisi asam lemak minyak biji jinten hitam

 <p>Kementerian Perindustrian REPUBLIK INDONESIA</p>	<p>BADAN PENGKAJIAN KEBIJAKAN IKLIM DAN MUTU INDUSTRI BALAI BESAR INDUSTRI AGRO <i>Center for Agro-Based Industry</i> AGRO BASED INDUSTRI CALIBRATION AND ANALYTICAL LABORATORIES (ABICAL) Jalan Ir. H. Juanda No. 11, Bogor 16122 Telp. (0251) 8324068, 8323339 Fax. (0251) 8323339</p>	 <p>KAN Komite Akreditasi Nasional Laboratorium Penguji LP-057-IDN</p>
--	---	--

Kepada :
To Ayun Erwina Arifianti
UNIVERSITAS INDONESIA
Kampus UI Depok 16424


LAPORAN HASIL UJI

TEST REPORT

<p>Balasan surat/ Permintaan tanggal : - <i>Reply to your letter/ request dated</i></p>	<p>Nomor / Number : 3455/LHU/Bd/ABICAL.1/IV/2012 Nomor Analisis Analysis Number : 3577 Nomor Seri Serial Number : 3455 Halaman/ Page : 1 dari / of 2 Tanggal penerbitan : date of issue : 17 April 2012</p>
--	---

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
The undersigned artfifs that the testing of

Contoh <i>Sample (s)</i>	: Minyak biji jinten hitam
Untuk analisis <i>for analysis</i>	: Kimia
Keterangan contoh <i>Description of sample</i>	: Dikemas dalam botol plastik tidak berlabel
Diambil dari <i>Taken from</i>	: -
Oleh <i>by</i>	: -
Tanggal penerimaan contoh <i>Date of sample</i>	: 21 Maret 2012
Tanggal pelaksanaan analisis <i>Date of analysis</i>	: 30 Maret 2012
Pengambilan contoh <i>Sampling</i>	: -
adalah sebagai berikut <i>The result to as follows</i>	: -

HASIL PENGUJIAN INI TIDAK UNTUK DIGANDAKAN
DAN HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH
TERSEBUT DIATAS. 
PENGAMBILAN CONTOH BERTANGGUNG JAWAB
ATAS KEBENARAN TANDING BARANG.

(lanjutan)

H A S I L TEST RESULT

Nomor Seri : 3455
Serial Number

Nomor / Number : 3455/LHU/Bd/ABICAL.1/ IV /2012

Nomor Analisis : 3577
Analysis Number

Halaman / Page : 2 Dari / of 2

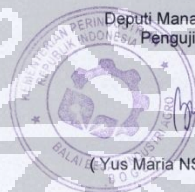
Parameter	Satuan	Hasil	Metoda Uji/Teknik
Komposisi Asam Lemak :			
Asam Lemak Jenuh :			G C
Kaprilat (C8)	%	0,01	
Kaprat (C10)	%	0,26	
Laurat (C12)	%	0,07	
Miristat (C14)	%	0,19	
Palmitat (C16-0)	%	12,6	
Stearat (C18-0)	%	2,18	
Asam Lemak Tidak Jenuh :			G C
Oleat (C18-1)	%	17,5	
Linoleat (C18-2)	%	66,9	
Linolenat (C18-3)	%	0,26	

ASLI
ORIGINAL

Laboratorium Analisis dan Kalibrasi
Balai Besar Industri Agro

Analytical and Calibration Laboratories
Center for Agro-Based Industry

Deputi Manajer Teknis
Penguujian IV




(Yus Maria NS, ST, M.Si)


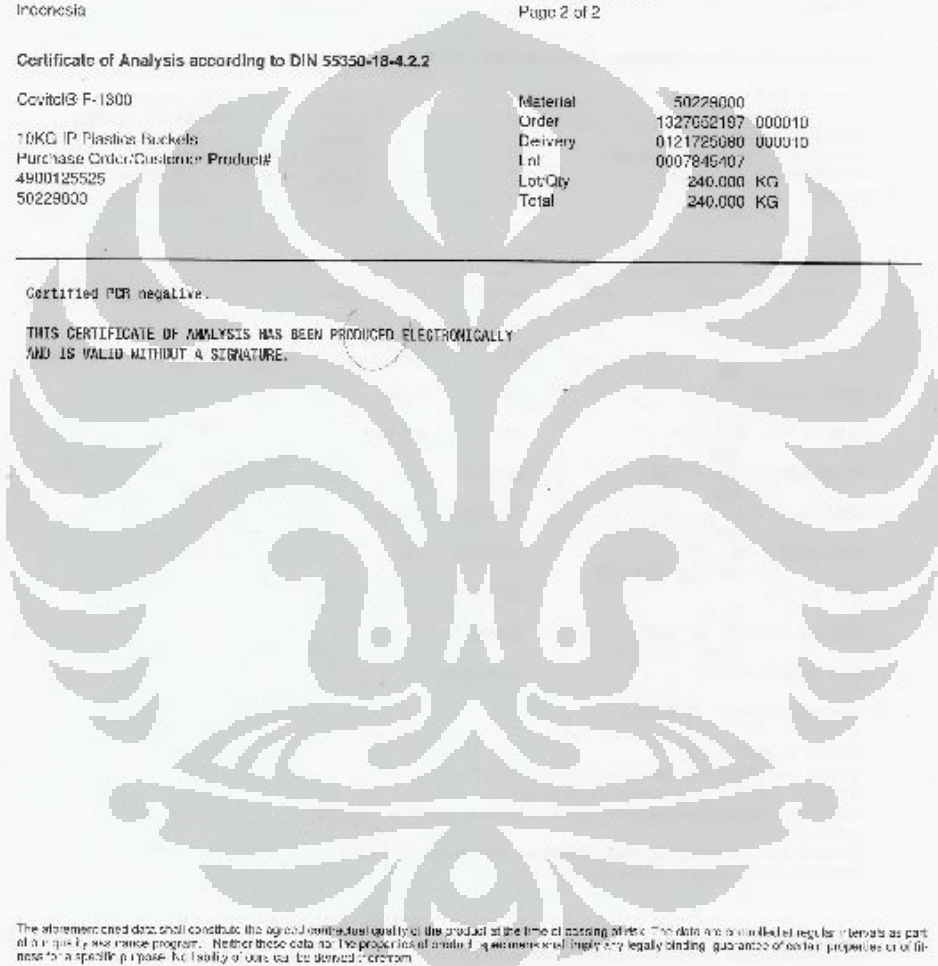
sr/ef

HASIL PENGUJIAN INI TIDAK UNTUK DIGANDAKAN
DAN HANYA BERLAKU UNTUK CONTOH-CONTOH
TERSEBUT DIATAS.
PENGAMBILAN CONTOH BERTANGGUNG JAWAB
ATAS KEBENARAN TANDING BARANG.

Lampiran 14. Sertifikat analisis vitamin E



 BASF The Chemical Company		Certificate of Analysis BASF Corporation																																									
<small>Please note that the certificate of analysis are also conveniently available online and around the clock at www.walke.com/usa/40107</small>																																											
P.T. BASF Care Chemicals Indonesia CIMANGGIS, DEPOK 16953 JAKARTA Indonesia		Fax No 000218 / 103090218724777 2011-11-01 BASF CORPORATION Certificate No 4596 Page 1 of 2																																									
Certificate of Analysis according to DIN 55350-10-1.2.2																																											
Covild® F 1300 10KG IP Plastics Buckets Purchase Order/Customer Product# 4900125525 50229800		Material Order 50229800 Order 1327002197 000010 Delivery 0121/25680 000010 Lot 0007845407 Lot/Qty 240.000 KG Total 240.000 KG																																									
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Characteristic/Method</th> <th>ICM</th> <th>Result</th> <th>Specification</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>ACTIVITY, NL H82</td> <td></td> <td>9.1</td> <td>4-1.0</td> </tr> <tr> <td>ASSAY, I.U./G H301</td> <td></td> <td>1323</td> <td>>=1300</td> </tr> <tr> <td>D-ALPHA TOC., MG/G H301</td> <td></td> <td>883</td> <td>872-1000</td> </tr> <tr> <td>IDENTIFICATION: USP METHOD C H301</td> <td></td> <td>CERTIFIED</td> <td></td> </tr> <tr> <td>SPECIFIC ROTATION H29</td> <td></td> <td>CERTIFIED</td> <td>24.8-35.0</td> </tr> <tr> <td>HEAVY METALS (PB), PPM USP 231, METHOD LL</td> <td></td> <td>CERTIFIED</td> <td><=10</td> </tr> <tr> <td>BAP, < 2 PPM CG-MS</td> <td></td> <td>CERTIFIED</td> <td></td> </tr> <tr> <td>RESIDUAL SOLVENTS, USP (467) 02800</td> <td></td> <td>CERTIFIED</td> <td></td> </tr> <tr> <td>NEXT INSPECTION DATE</td> <td></td> <td>11.08.2014</td> <td></td> </tr> </tbody> </table>				Characteristic/Method	ICM	Result	Specification	ACTIVITY, NL H82		9.1	4-1.0	ASSAY, I.U./G H301		1323	>=1300	D-ALPHA TOC., MG/G H301		883	872-1000	IDENTIFICATION: USP METHOD C H301		CERTIFIED		SPECIFIC ROTATION H29		CERTIFIED	24.8-35.0	HEAVY METALS (PB), PPM USP 231, METHOD LL		CERTIFIED	<=10	BAP, < 2 PPM CG-MS		CERTIFIED		RESIDUAL SOLVENTS, USP (467) 02800		CERTIFIED		NEXT INSPECTION DATE		11.08.2014	
Characteristic/Method	ICM	Result	Specification																																								
ACTIVITY, NL H82		9.1	4-1.0																																								
ASSAY, I.U./G H301		1323	>=1300																																								
D-ALPHA TOC., MG/G H301		883	872-1000																																								
IDENTIFICATION: USP METHOD C H301		CERTIFIED																																									
SPECIFIC ROTATION H29		CERTIFIED	24.8-35.0																																								
HEAVY METALS (PB), PPM USP 231, METHOD LL		CERTIFIED	<=10																																								
BAP, < 2 PPM CG-MS		CERTIFIED																																									
RESIDUAL SOLVENTS, USP (467) 02800		CERTIFIED																																									
NEXT INSPECTION DATE		11.08.2014																																									
Manufacturing Date: 12.09.2011 COUNTRY OF ORIGIN: USA Natural source d-alpha-tocopherol (Vitamin E) oil The shelf life for this product is 36 months. Certified indicates data obtained by statistically designed sampling audits. Complies with all monograph requirements of the current U.S. Food Chemicals Codex and U.S. Pharmacopoeia.																																											
<small>The above information does not constitute a signed contract of quality of the product at the time of passing of it. The data are controlled at regular intervals as part of our quality assurance program. Neither these data nor the appearance of individual specimens shall imply any quality finding, guarantee of certain properties or of fitness for a specific purpose. No liability of ours can be derived therefrom.</small>																																											
This is a computer-generated document. No signature is required.																																											

(lanjutan)

 BASF The Chemical Company	Certificate of Analysis BASF Corporation												
Please note that the certificate of analysis are now permanently available online and around the clock at www.worldaccount.basf.com													
P.T. BASF Care Chemicals Indonesia CIMANGGIS DEPOK 16053 JAKARTA Indonesia	Fax No 0002187103090218724777 2011-11-01 BASF CORPORATION Certificate No 4898 Page 2 of 2												
Certificate of Analysis according to DIN 55350-18-4.2.2													
Covitol® F-1800 10KG IP Plastic Buckets Purchase Order/Customer Product# 4800125525 50229000	<table border="0"> <tr> <td>Material</td> <td>50229000</td> </tr> <tr> <td>Order</td> <td>1327652197 000010</td> </tr> <tr> <td>Delivery</td> <td>0121725080 000010</td> </tr> <tr> <td>Int</td> <td>0007845107</td> </tr> <tr> <td>Lot/Qty</td> <td>240.000 KG</td> </tr> <tr> <td>Total</td> <td>240.000 KG</td> </tr> </table>	Material	50229000	Order	1327652197 000010	Delivery	0121725080 000010	Int	0007845107	Lot/Qty	240.000 KG	Total	240.000 KG
Material	50229000												
Order	1327652197 000010												
Delivery	0121725080 000010												
Int	0007845107												
Lot/Qty	240.000 KG												
Total	240.000 KG												
Certified PCR negative													
THIS CERTIFICATE OF ANALYSIS HAS BEEN PRODUCED ELECTRONICALLY AND IS VALID WITHOUT A SIGNATURE.													
													
The aforementioned data shall constitute the agreed commercial quality of the product at the time of passing of the. The data are collected regular intervals as part of a quality assurance program. Neither these data, nor the procedures involved, shall constitute any legally binding guarantee of material properties or of fitness for a specific purpose. No liability or warranty is derived therefrom.													
This is a computer-generated document. No signature is required.													

Lampiran 15. Sertifikat analisis tween 80

PT. BRATACO


 


HASIL PEMERIKSAAN

Nama Bahan : Tween 80
 Batch : J 0817/11 (2193)
 Ex : Kao
 Grade : farma

Jenis pemeriksaan	Persyaratan FI IV	Hasil
Pemerian	Cairan kental, jernih, berwarna kuning muda hingga coklat, berbau khas lemah	cairan, kuning muda, jernih, bau khas lemah
Kelarutan	Larut dalam air, dalam etanol 95%, dalam etil asetat P, tidak larut dalam minyak mineral	sesuai
Identifikasi	Menurut cara identifikasi pada F.I. ed.IV	sesuai
pH	6 - 8	7.0
Bobot Jenis	1,06 g/ml - 1,09 g/ml	1,076
Bilangan asam	Tidak lebih dari 2,2	0.84
Bilangan sabun	45-55	49.50

Kesimpulan : *Memenuhi syarat*

Pemeriksa

Tatang Suhartono
 Analis

Cikarang, 24-08-2011
 Penanggung Jawab

Dra. CITRA PRIMA G
 Apoteker
 SIK 3836/B

HEAD OFFICE : Jl. Cidang Barat No. 78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3822733 (hunting) Fax. : (021) 3822734, E-mail : brataco@brataco.com
 BRANCH OFFICE :
 • JAKARTA : Jl. Mangga Besar V No.5, Jakarta 11180 Telp. (021) 6290113 (hunting 3 lines) Fax. (021) 6292430
 : Jl. Boulevard Raya Blok TB2 No. 8, Jakarta 14240 Telp. (021) 4584699-04 Fax. (021) 4532615
 • BANDUNG : Jl. Kalerang No. 8, Bandung Telp. (022) 8077128, 8030808 Fax. (022) 8031979
 : Jl. Terusan Jakarta No. 77G, Bandung Telp. (022) 7101277, 7810308-309 Fax. (022) 7210310
 • SEMARANG : Jl. Brigjen. Katamso No. 19 Telp. (024) 8416272, 8416999 Fax. (024) 8414960
 • YOGYA : Jl. Bhayangkara No. 45, Yogyo Telp. (0274) 843349, 816390 Fax. (0274) 843349
 • SURABAYA : Jl. Tidar No. 89, Surabaya Telp. (031) 5322887, 5325067 Fax. (031) 6310465
 • MEDAN : Jl. Iskandar Muda no. 40 B, Medan Telp. (061) 4148272, 4823199 Fax. (061) 4825968
 SUB BRANCH OFFICE : TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDHARJO, DENPASAR, PALEMBANG, MAKASSAR

The Nationwide Chemicals and Ingredients Distributor

FRX NO. : 02189324659
 11 Jan. 2012 9:32PM PT
 FROM : PT BRATACO

Lampiran 16. Sertifikat analisis sorbitol



No.: 11. 05. 1. 429

CERTIFICATE OF ANALYSIS

DATE : SEPTEMBER 20, 2011
 PRODUCT : INDOSORB TS - 7
 GENERIC NAME : SORBITOL SOLUTION (70%) NON CRYSTALLIZING BP,EP
 BATCH NO. : 108141740
 MANUF DATE : AUGUST 14, 2011
 EXPIRY DATE : AUGUST 14, 2013

Definition: Sorbitol is a class of a hydrogenated, partly hydrolyzed starch. It is clear, colorless, syrupy liquid, miscible with water.

Meets requirement of: BP 2010, RP 6

No.	Item	Analysis Data	Specification
1	Appearance	Pass	Clear, colorless, syrupy liquid, miscible with water
2	Identification : A. Examine the chromatogram obtained in the assay	Pass	The principal peak in the chromatogram obtained with the test solution is similar in retention time to the principal peak to the chromatogram obtained with reference solution
	B. Angle of rotation	2.74 °	(-1.5) ° - (+3.0) °
	C. Appearance at 25° C	Pass	Clear, Syrupy Liquid
3	Appearance of solution	Pass	Clear, colorless
4	Conductivity	0.2 µS/cm	10 µS/cm Max
5	Reducing Sugars	15.1 mL	N.I.C. 12.8 ml of 0.05 M sodium thiosulphate (max 0.2% calculated as glucose equivalent) 0.15 % max.
6	Reducing Sugars after hydrolysis	8.8 ml.	N.I.C. 8.0 ml of 0.05 M sodium thiosulphate (max 9.3% calculated as glucose equivalent)
7	Lead (Pb)	Less than 0.5 ppm	0.5 ppm max.
8	Nickel (Ni)	Less than 1 ppm	1 ppm max.
9	Water	10.50 %	28.0 to 32.0 % (w/w)
10	Content :		
	- Anhydrous substance	69.50 %	66 - 72 % (w/w)
	- D-Sorbitol	82.20 %	81.0 - 85.0 %
11	Microbiological Test :		
	Total aerobic microbial count	Less than 500 cfu/ml	500 cfu/ml max.
	Total Mold & Yeast	Less than 100 cfu/ml	100 cfu/ml max.
	- E.coli	Negative	Negative

ANALYST IN CHARGE


 PT. SUGILAH SUGAR COFFEE DERIVED LK
 PABONO
 FINAL PRODUCT ASSURANCE