



UNIVERSITAS INDONESIA

**STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EMULSI GANDA TIPE W/O/W
MINYAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa* Linn.)
SEBAGAI SEDIAAN NUTRASETIKA**

SKRIPSI

SEPTI HANNA DWISARI

0806328083

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI FARMASI

DEPOK

JUNI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**STABILITAS FISIK DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN
EMULSI GANDA TIPE W/O/W
MINYAK BIJI JINTEN HITAM (*Nigella sativa* Linn.)
SEBAGAI SEDIAAN NUTRASETIKA**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana Farmasi

SEPTI HANNA DWISARI

0806328083

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

PROGRAM STUDI 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, 25 Juni 2012



Septi Hanna Dwisari

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Septi Hanna Dwisari

NPM : 0806328083

Tanda Tangan :



Tanggal : 25 Juni 2012

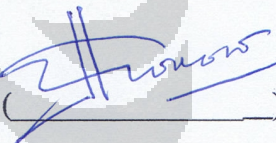
HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Septi Hanna Dwisari
NPM : 0806328083
Program Studi : Farmasi
Judul Skripsi : Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Emulsi Ganda Tipe W/O/W Minyak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn.) Sebagai Sediaan Nutrasetika.

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi pada Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

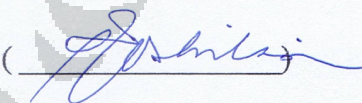
DEWAN PENGUJI

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



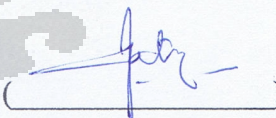
(_____)

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



(_____)

Penguji II: Dr. Katrin, M.S.



(_____)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 25 Juni 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas berkat dan rahmat-Nya, penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi ini. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia

Penulis menyadari bahwa tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, baik selama masa perkuliahan maupun hingga penyusunan skripsi, akan sangat sulit bagi penulis untuk dapat menyelesaikan skripsi ini. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati penulis menghaturkan rasa hormat dan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S. selaku pembimbing skripsi yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan dan membimbing penulis selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
2. Prof. Dr. Yahdiana Harahap, M.S, selaku ketua Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan dan dukungan kepada penulis untuk melaksanakan penelitian ini.
3. Sutriyo S.Si., M.Si., Apt selaku Kepala Laboratorium Farmasetika dan Ibu Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc., Apt. selaku Kepala Laboratorium Teknologi Farmasetika Departemen Farmasi FMIPA UI yang telah memberikan nasehat dan ijin untuk melaksanakan penelitian di laboratorium yang dipimpinnya.
4. Dra. Maryati Kurniadi M.Si., Apt. selaku pembimbing akademik atas segala perhatian, motivasi dan bimbingan akademiknya selama ini.
5. Dr. Abdul Mun'im, MS., dan Raditya Iswandana S. Farm. Apt., yang dengan senang hati selalu membantu dan menjawab pertanyaan-pertanyaan penulis meskipun bukan dosen pembimbing skripsi penulis.
6. Bapak dan Ibu staf pengajar Departemen Farmasi FMIPA UI atas ilmu pengetahuan dan bantuan yang telah diberikan.
7. Keluarga tercinta Ibu dan Bapak, serta Mbak Endah dan Mas Yayok yang

tak henti-hentinya memberikan dukungan semangat dan doa.

8. Bapak Edi Junaedi, SP. (PT Prima Agritech Nusantara) dan PT. BSAF Care Chemical Indonesia atas bantuan bahan untuk penelitian ini.
9. Rekan-rekan mahasiswa penelitian laboratorium farmasetika, mahasiswa bimbingan Prof. Dr. Effionora Anwar, M.S. (Mayang, Novia, Iwan, Delly, Kak Anon, Kak Erni, Kak Ajeng, dan Kak Edi), terutama Ayun Erwina, rekan seperjuangan yang telah memberikan banyak bantuan dan dukungan selama melaksanakan penelitian ini.
10. Teman-teman angkatan 2008, khususnya Nadia, Fara, Rizkianna, Qothrunnada, Sri Rahayu, Putri Wahyu, dan Devi yang selalu membantu dan mendukung dalam perkuliahan di Departemen Farmasi.
11. Para laboran, bapak satpam, dan mas-mas OB, terutama Mbak Devfa, Mbak Lia, dan Pak Imih yang selalu membantu mahasiswa penelitian dengan senang hati.
12. Seluruh pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu per satu atas segala bantuan baik secara langsung maupun tidak langsung kepada penulis.

Penulis menyadari masih banyak kekurangan dalam penulisan skripsi ini. Namun, penulis berharap semoga skripsi ini dapat berguna bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Penulis
2012

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

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

Nama : Septi Hanna Dwisari
NPM : 0806328083
Program Studi : 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 Emulsi Ganda Tipe W/O/W Minyak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn.) 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 : 25 Juni 2012
Yang menyatakan



(Septi Hanna Dwisari)

ABSTRAK

Nama : Septi Hanna Dwisari
Program Studi : Farmasi
Judul : Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Emulsi Ganda Tipe W/O/W Minyak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn.) sebagai Sediaan Nutrasetika.

Minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa* Linn.) berpotensi sebagai salah satu sumber zat aktif untuk nutrasetika, terutama antioksidannya, juga berbagai asam lemak, tokoferol, fenol, dan β -karoten. Minyak biji jinten hitam diformulasikan dalam emulsi ganda tipe W/O/W kemudian diamati stabilitas fisik, aktivitas antioksidan dalam sediaan, dan uji kesukaan. Dua formula dibuat dalam variasi penambahan NaCl 0,05M (formula 1 dan 3), tetapi tidak untuk dua formul lain (formula 2 dan 4) kemudian setiap formula divariasikan dengan konsentrasi tween 80 yang berbeda pada fase eksternal yaitu 1% (b/b) (formula 1 dan 2) dan 2% (b/b) (formula 3 dan 4). Stabilitas fisik diamati dari penyimpanan suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$), kamar ($27-30^\circ\text{C}$), dan tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$), serta uji mekanik dan cycling test. Keseluruhan formula stabil dalam suhu kamar dan suhu rendah. Pada suhu tinggi dan cycling test, formula 3 (NaCl 0,05 M dan tween 80 2% (b/b)) memiliki kestabilan yang lebih baik daripada formula lainnya. Aktivitas antioksidan diuji menggunakan peredaman DPPH. Aktivitas antioksidan dalam sediaan lebih baik dibandingkan minyak karena penambahan protein kedelai berpotensi sebagai antioksidan juga. Penyimpanan sediaan akan menurunkan aktivitas antioksidan sediaan akibat autooksidasi. Formula emulsi ganda tipe W/O/W tersebut telah dapat memperbaiki aroma dan rasa minyak biji jinten hitam, tetapi belum untuk penampilannya.

Kata kunci : antioksidan, DPPH, emulsi ganda, minyak biji jinten hitam, *Nigella sativa* Linn., nutrasetika, stabilitas fisik, W/O/W, uji kesukaan

xiv+103 halaman : 16 gambar; 4 tabel; 18 lampiran

Daftar Pustaka : 56 (1979-2011)

ABSTRACT

Name : Septi Hanna Dwisari
Program Study : Pharmacy
Title : Physical Stability and Antioxidant Activity of W/O/W Typed
Double Emulsion from Black Cumin Seed Oil (*Nigella sativa*
Linn.) as Nutraceutical Dosage Form

Black cumin seed oil (*Nigella sativa* Linn.) is potential as one of active substances for nutraceutical, especially antioxidant, it also contains various fatty acids, tocopherol, phenol, and β -carotene. Black cumin seed oil was formulated in W/O/W typed double emulsion to be observed physical stability, antioxidant activity, and hedonic test. Two formulas were made with the addition of NaCl 0,05M (formula 1 and 3) but not for the others (formula 2 and 4) then each formulas varied with different concentration of tween 80 in the external phase which is 1% (w/w) (formula 1 and 2) and 2% (w/w) (formula 3 and 4). Physical stability test including the storage in low ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$), ambience ($27-30^{\circ}\text{C}$), and high temperature ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$); mechanical test; and cycling test. All formulas were stable in ambience and low temperature. Whereas, in high temperature and cycling test, formula 3 (NaCl 0,05 M with tween 80 2% (w/w)) had better stability than others. Antioxidant activity was determined by DPPH silencing methods. The entire formulas have better antioxidant activity than the oil itself because of soy protein which is potential as antioxidant. Storage would reduce antioxidant activity because of autooxidation in formulas. Formulation W/O/W typed double emulsion has been able to improve the odour and flavor of black cumin seed oil, but not for the appearance.

Key word : antioxidant, DPPH, double emulsion, black cumin seed oil, *Nigella sativa* Linn., nutraceutical, physical stability, W/O/W, hedonic test,
xiv + 103 pages : 16 pictures ; 4 tables; 18 appendix
Bibliography : 56 (1979 – 2011)

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME	iii
HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
HALAMAN PENGESAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	viii
ABSTRAK	ix
ABSTRACT	x
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Tujuan Penelitian	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	3
2.1. Radikal Bebas dan Antioksidan	3
2.2. Nutrasetika	5
2.3. Tanaman Jinten Hitam	6
2.3.1 Taksonomi	6
2.3.2 Deskripsi Tanaman Jinten Hitam	7
2.3.3 Deskripsi Simplisia Biji Jinten Hitam	7
2.3.4 Cara Ekstraksi Minyak Biji Jinten Hitam	8
2.3.5 Kandungan Biji Jinten Hitam	8
2.3.6 Manfaat Minyak Biji Jinten Hitam secara Studi Farmakologis	10
2.4. Emulsi Ganda	11
2.4.1 Protein	13
2.4.2 Hidrokoloid	14
2.4.3 Kompleks Protein dan Hidrokoloid	14
2.5. Formulasi Emulsi Ganda	16
2.5.1. Surfaktan	16
2.5.2. Komponen Pembentukan Emulsi Ganda	18
2.6. Stabilitas Emulsi Ganda	20
2.6.1. Destabilisasi Emulsi Sederhana	20
2.6.2. Koalesen Antara Fase Cairan Dalam dan Luar	21
2.6.3. Transportasi Air Melewati Fase Minyak	22
2.6.4. Transportasi Elektrolit Melewati Fase Minyak	22
2.7. Spektrofotometri UV-Vis	22
2.8. Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)	25
2.9. Uji Kesukaan	25

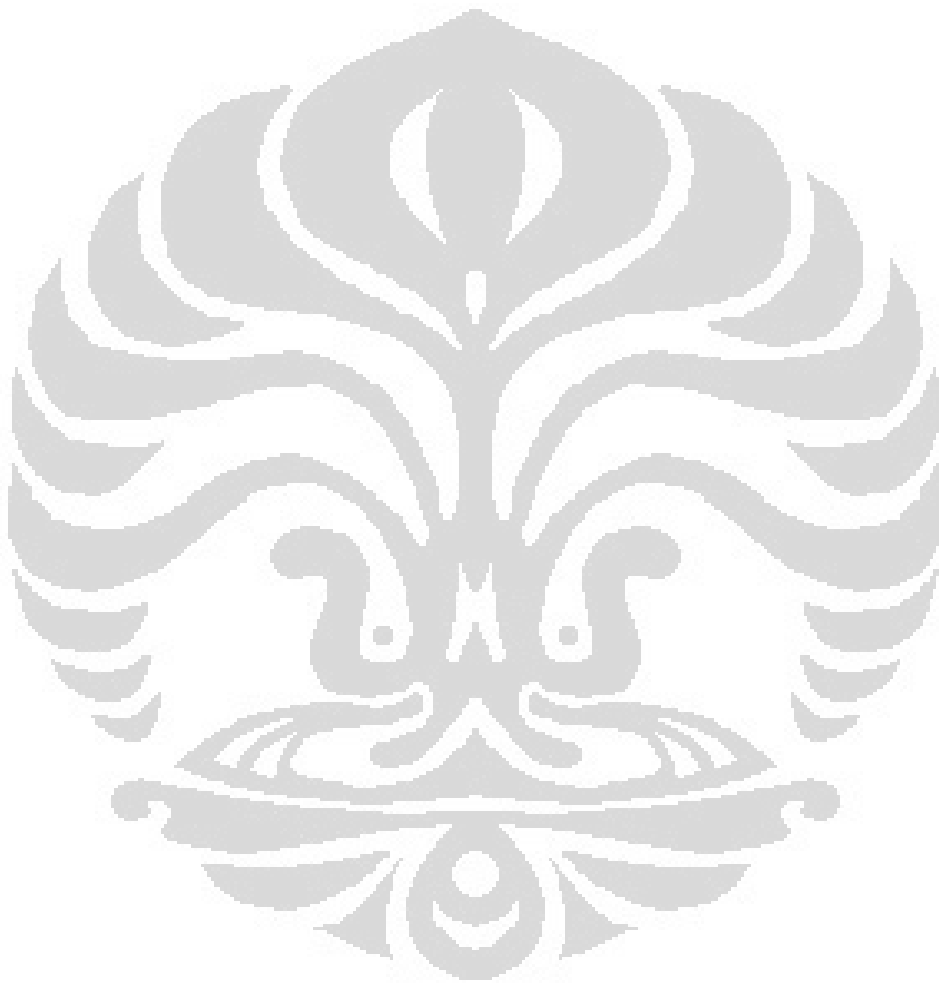
BAB 3. METODE PENELITIAN	27
3.1. Lokasi	27
3.2. Alat	27
3.3. Bahan	27
3.4. Cara Kerja	28
3.4.1 Perhitungan HLB Minyak Biji Jinten Hitam.....	28
3.4.2 Formulasi Emulsi Ganda tipe W/O/W	28
3.4.3 Cara Pembuatan.....	29
3.5. Evaluasi	30
3.5.1. Organoleptis	30
3.5.2. Ukuran Diameter Globul Rata-Rata	30
3.5.3. Uji Homogenitas	30
3.5.4. Uji Viskositas dan Sifat Alir	31
3.5.5. Uji pH	31
3.5.6. Uji Bobot Jenis	31
3.5.7. Uji Stabilitas	32
3.5.8. Uji Volume Kriming	32
3.5.9. Uji Aktivitas Antioksidan	35
3.5.10. Uji Kesukaan	35
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	36
4.1. Tinjauan Umum	36
4.2. Evaluasi	37
4.2.1. Evaluasi Awal Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam.....	37
4.2.2. Penentuan Bobot Jenis Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam	42
4.2.3. Evaluasi Stabilitas Fisik Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam	43
4.2.4. Evaluasi Volume Kriming Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam	48
4.2.5. Evaluasi Aktivitas Antioksidan Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam	49
4.2.6. Evaluasi Uji Kesukaan Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam.....	53
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	55
5.1. Kesimpulan	55
5.2. Saran	55
DAFTAR ACUAN	56

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1.	Tanaman <i>Nigella sativa</i> Linn	7
Gambar 2.2.	Skema stabilisasi deplesi	14
Gambar 2.3.	Skema ilustrasi (a) <i>reverse micellar transport</i> , (b) difusi melewati lamela surfaktan yang tipis, dan (c) perpindahan air melalui surfaktan terhidrasi	15
Gambar 2.4.	Skema yang merepresentasikan adsorpsi permukaan surfaktan monomerik dan polimerik	18
Gambar 2.5.	Skema yang merepresentasikan kemungkinan ketidakstabilan pada emulsi ganda W/O/W	22
Gambar 2.6.	Struktur 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH).....	25
Gambar 3.1.	Skema pembagian variasi formula emulsi ganda	29
Gambar 4.1.	Foto globul formula 1 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-0 pada suhu kamar (27-30°C)	41
Gambar 4.2.	Foto globul formula 2 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-0 pada suhu kamar (27-30°C)	41
Gambar 4.3.	Foto globul formula 3 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam Minggu ke-0 pada suhu kamar (27-30°C)	42
Gambar 4.4.	Foto globul formula 4 emulsi ganda tipe W/O/W minyak iji jinten hitam minggu ke-0 pada suhu kamar (27-30°C)	42
Gambar 4.5.	Foto hasil <i>cycling test</i> formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam	44
Gambar 4.6.	Kurva perubahan viskositas keempat formula sediaan pada kecepatan 5 rpm, minggu ke-0 dan ke-8	47
Gambar 4.7.	Kurva perubahan pH sediaan pada penyimpanan suhu tinggi (40±2°C), kamar (27-30°C), dan rendah (4±2°C) selama 8 minggu.....	46
Gambar 4.8.	Kurva perubahan diameter globul internal dan eksternal rata-rata formula sediaan pada penyimpanan suhu kamar minggu ke-0 dan ke-8.....	48
Gambar 4.9.	Grafik perubahan aktivitas antioksidan formula emulsi ganda minyak biji jinten hitam pada minggu ke-4 dan ke-8	53

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Komposisi biji jinten hitam.....	9
Tabel 2.2. Komposisi kimia minyak biji jinten hitam.....	9
Tabel 2.3. Rentang HLB dan area aplikasinya.....	17
Tabel 3.1. Formula emulsi ganda minyak biji jinten hitam.....	28



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Skema pembuatan emulsi ganda	60
Lampiran 2.	Foto minyak biji jinten hitam.....	61
Lampiran 3.	Foto perbandingan hasil uji stabilitas formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	61
Lampiran 4.	Foto perbandingan hasil uji stabilitas formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada suhu kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	62
Lampiran 5.	Foto perbandingan hasil uji stabilitas formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu.....	63
Lampiran 6.	Hasil reogram formula 1 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0 dan ke-8	64
Lampiran 7.	Hasil reogram formula 2 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0 dan ke-8	64
Lampiran 8.	Hasil reogram formula 3 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0 dan ke-8	65
Lampiran 9.	Hasil reogram formula 4 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0 dan ke-8	65
Lampiran 10.	Foto globul formula 1 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-8 pada suhu kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$).....	66
Lampiran 11.	Foto globul formula 2 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-8 pada suhu kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$)	66
Lampiran 12.	Foto globul formula 3 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-8 pada suhu kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$)	67
Lampiran 13.	Foto globul formula 4 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-8 pada suhu kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$)	67
Lampiran 14.	Foto hasil uji mekanik (sentrifugasi) formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam	68
Lampiran 15.	Hasil uji pendahuluan (kualitatif) minyak biji jinten hitam dengan penyemprotan larutan DPPH-toluen 40 ppm	68
Lampiran 16.	Foto hasil uji volume kriming formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam selama 8 minggu	69
Lampiran 17.	Spektrum serapan larutan DPPH 40 ppm dalam toluen.....	70
Lampiran 18.	Hasil pengamatan evaluasi emulsi ganda minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0.....	71
Lampiran 19.	Hasil pengukuran viskositas seluruh formula emulsi ganda menggunakan spindel 2 pada minggu ke-0.....	72
Lampiran 20.	Hasil pengukuran viskositas seluruh formula emulsi ganda dengan menggunakan spindel 2 pada minggu ke-8	73
Lampiran 21.	Hasil pengamatan organoleptis	74
Lampiran 22.	Hasil pengukuran pH emulsi ganda minyak biji jinten hitam pada berbagai suhu penyimpanan	76
Lampiran 23.	Berat jenis emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam.....	77

Lampiran 24.	Hasil <i>cycling test</i>	77
Lampiran 25.	Hasil uji mekanik (sentrifugasi)	78
Lampiran 26.	Hasil uji volume kriming selama 8 minggu penyimpanan	78
Lampiran 27.	Pengukuran aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam, sediaan komersial dalam kapsul lunak, dan <i>d- alpha tocopherol</i> 1300 UI dengan metode peredaman DPPH	79
Lampiran 28.	Pengukuran aktivitas antioksidan emulsi ganda minyak biji jinten hitam dengan metode peredaman DPPH setelah 4 minggu	80
Lampiran 29.	Pengukuran aktivitas antioksidan emulsi ganda minyak biji jinten hitam dengan metode peredaman DPPH setelah 8 minggu	81
Lampiran 30.	Perhitungan HLB minyak biji jinten hitam	82
Lampiran 31.	Perhitungan diameter globul rata-rata	83
Lampiran 32.	Contoh perhitungan persentase inhibisi aktivitas antioksidan menggunakan metode peredaman DPPH	87
Lampiran 33.	Cara perhitungan bobot jenis	87
Lampiran 34.	Uji willcoxon pH formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu ruang ($27-30^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu	88
Lampiran 35.	Uji willcoxon IC_{50} formula emulsi ganda tipe WOW minyak biji jinten hitam setelah penyimpanan suhu ruang ($27-30^{\circ}\text{C}$) pada minggu ke-4 dan minggu ke-8	90
Lampiran 36.	Hasil data kuesioner kesukaan sampel emulsi ganda minyak biji jinten hitam dan minyak biji jinten hitam	91
Lampiran 37.	Uji distribusi normal kolmogorov-smirnov terhadap nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa sampel	92
Lampiran 38.	Uji homogenitas varian lavene terhadap nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa sampel	92
Lampiran 39.	Hasil uji kruskal-wallis terhadap nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa formula	92
Lampiran 40.	Uji willcoxon dari nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa semua formula terhadap kontrol minyak biji jinten hitam ..	95
Lampiran 41.	Lembar penilaian uji hedonik emulsi ganda minyak biji jinten hitam	97
Lampiran 42.	Sertifikat analisis minyak biji jinten hitam	98
Lampiran 43.	Sertifikat analisis tween 80	100
Lampiran 44.	Sertifikat analisis xanthan gum	101
Lampiran 45.	Sertifikat analisis <i>d-alpha tocopherol</i> 1300 UI	103
Lampiran 46.	Sertifikat analisis sorbitol	104

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pencemaran lingkungan dan gaya hidup yang tidak sehat merupakan sumber utama radikal bebas bagi tubuh yang dapat mengakibatkan degradasi sel. Degradasi sel ini kemudian dapat menyebabkan hilangnya sebagian atau seluruh dari fungsi sel tubuh. Fakta yang ada adalah keberadaan radikal bebas dalam tubuh dapat mengakibatkan cepatnya onset dan evolusi lebih dari 100 macam penyakit (kardiovaskular, neurologi, endokrin, pernapasan, imunitas, iskemia, penyakit saluran cerna, pertumbuhan tumor dan kanker) (Selles dan Garrido, 2010). Salah satu upaya untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan memanfaatkan sediaan nutrasetika mengandung antioksidan yang berpotensi mengurangi reaksi oksidasi.

Nutrasetika adalah suatu bahan yang memiliki efek farmakologi terhadap tubuh, berasal dari bahan yang biasanya digunakan sebagai makanan, baik sebagai bahan utama maupun sebagai rempah-rempah, misalnya tanaman jinten hitam. Salah satu komponen jinten hitam yang dapat digunakan sebagai bahan aktif dalam sediaan nutrasetika adalah minyaknya.

Minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa* Linn. *fixed oil*) atau yang dikenal dengan *habattusauda* sudah sering dimanfaatkan masyarakat secara tradisional sebagai bumbu masakan dan pengobatan, terutama oleh masyarakat di Timur Tengah. Minyak ini dipercaya berkhasiat mengatasi masalah pernapasan juga pencernaan, parasit dan inflamasi (Longe, 2005). Bahkan minyak ini juga disebutkan sebagai penyembuh segala penyakit dalam kitab suci agama Islam (Sultan, 2009). Minyak biji jinten hitam ini terbukti mengandung berbagai asam lemak, tokoferol, fenol, dan β -karoten yang berperan sebagai antioksidan. Oleh karena itu, minyak biji jinten hitam memiliki potensi yang besar sebagai salah satu sumber nutrasetika, terutama antioksidannya. Terlebih lagi di Indonesia sudah banyak ditemukan sediaan minyak biji jinten hitam ini, tetapi belum bervariasi. Umumnya sediaan yang ada berupa minyak murni, kapsul lunak, dan ada pula yang mencampurkannya dengan madu. Hal ini dikarenakan minyak biji jinten

hitam kurang stabil dalam sediaan dan rasanya yang sedikit pahit. Dalam penelitian kali ini, minyak biji jinten hitam akan dibuat dalam bentuk sediaan emulsi ganda.

Emulsi ganda (*double emulsions*) merupakan suatu sistem kompleks yang dikenal pula dengan istilah ‘emulsi dalam emulsi’, dimana droplet dari fase terdispersi itu sendiri juga terkandung droplet terdispersi yang lebih kecil (Garti dan Bisperink, 1998). Terdapat dua tipe emulsi ganda, yaitu tipe O/W/O (minyak/air/minyak) dan tipe W/O/W (air/minyak/air). Sediaan emulsi ganda sesungguhnya terlihat cukup menjanjikan dalam berbagai teknologi, terutama di bidang makanan, farmakologi dan ilmu pemisahan. Terlihat dari kelebihan emulsi ganda tipe W/O/W dalam industri makanan, yaitu kemampuannya melindungi komponen aktif dari lingkungan, mengendalikan pelepasan aroma dan rasa, juga untuk menghasilkan makanan dengan kandungan minyak atau lemak rendah (Garti dan Aserin, 1996).

Pembuatan sediaan emulsi ganda dengan menggunakan minyak alam merupakan tantangan tersendiri terutama dalam hal stabilitasnya. Di sisi lain minyak biji jinten hitam dapat berperan sebagai fase minyak sekaligus bermanfaat sebagai antioksidan. Oleh karena itu, pembuatan emulsi ganda minyak biji jinten hitam yang stabil sangat diharapkan penulis sehingga dapat dimanfaatkan di masyarakat lebih optimal.

1.2 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan dari emulsi ganda minyak biji jinten hitam tipe W/O/W dengan variasi keberadaan NaCl dalam sediaan dan konsentrasi emulgator sekunder yang ditambahkan.

BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Radikal Bebas dan Antioksidan

Radikal bebas adalah molekul dengan jumlah elektron ganjil sehingga tidak berpasangan. Elektron ini sangat reaktif dan juga selalu berusaha mencari pasangan (Packer dan Cadenas, 2001). Radikal bebas diproduksi secara normal oleh metabolisme tubuh dan akibat faktor luar seperti paparan radiasi serta polusi lingkungan. Sedangkan makanan yang tinggi lemak akan meningkatkan reaksi radikal bebas dalam tubuh.

Salah satu bentuk dari radikal bebas adalah ROS (*Radical Oxygen Species*). ROS ini sangat tidak stabil dan mampu bereaksi sangat cepat menyebabkan perubahan pada sel yang bermuatan (dapat positif maupun negatif). ROS paling umum yang berhubungan dengan sistem biologis adalah *singlet oxygen* ($^1\text{O}_2^\bullet$), *hydroxyl* (HOO), *peroxyl* (ROO), *superoxide anion* ($\text{O}_2^{\bullet-}$), *hydrogen peroxide* (H_2O_2), *hypochlorous acid* (HOCl), *nitric oxide* (NO), dan *peroxynitrite* (NO_2OO) (Selles dan Garrido, 2010).

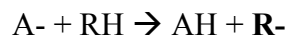
Radikal bebas dapat terbentuk dengan mekanisme tahapan sebagai berikut (Moore, 1982):

2.1.1 Tahap inisiasi

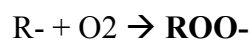
Faktor inisiasi adalah hal-hal yang dapat menyebabkan terbentuknya radikal bebas dari suatu molekul stabil, misalnya sinar UV.

2.1.2 Tahap propagasi

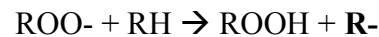
- a. Radikal bebas yang terbentuk pada tahap inisiasi akan bereaksi dengan komponen dari sel kemudian mengikat hidrogen.



- b. Radikal alkil (R^\bullet) yang terbentuk akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksida.



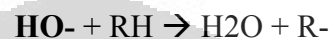
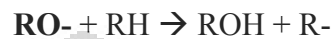
- c. Radikal peroksida menarik hidrogen dari molekul terdekat membentuk hidroperoksida yang stabil dan radikal alkil yang baru.



- d. Hidroperoksida dapat terdekomposisi secara spontan membentuk radikal.

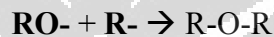


Kedua radikal bebas tersebut dapat berinteraksi dengan molekul organik yang baru untuk membentuk radikal alkil yang baru lagi.



2.1.3 Tahap terminasi

Tahap terminasi terjadi apabila terdapat reaksi antara dua radikal bebas.



Radikal bebas akan menyebabkan *oxidative stress* pada mitokondria sel. *Oxidative stress* menurut Helmut Sies adalah suatu perubahan keseimbangan antara prooksidan-antioksidan sebagai upaya untuk menyeimbangkan keadaan seperti semula sehingga berpotensi terjadi kerusakan biologis. Kerusakan biologis ini yang menyebabkan berbagai penyakit di tubuh manusia.

Oxidative stress yang meningkat menyebabkan kadar prooksidan akan meningkat sehingga proses penuaan akan terjadi. Peran antioksidan dalam melawan prooksidan dapat berupa mengurangi kadar radikal bebas, memperlambat proses penuaan, dan meningkatkan waktu hidup. Antioksidan mampu menghambat atau memperlambat pembentukan alkil radikal bebas dalam tahap inisiasi dan mengganggu reaksi rantai radikal bebas pada tahap propagasi. Antioksidan dapat berupa antioksidan enzim, pendonor hidrogen, kelat logam, dan pengikat oksigen singlet (Lee, Koo, dan Min, 2004).

Sumber umum antioksidan diantaranya adalah berupa (Prior, Wu, dan Schaich, 2005):

- a. enzim, misalnya superoksida dismutase, glutathion peroksidase, dan katalase.

- b. molekul besar, seperti albumin, seruloplasmin, ferritin, dan protein lain.
- c. molekul kecil, seperti asam askorbat, glutathion, asam urat, tokoferol, karotenoid, dan (poli)fenol.
- d. beberapa hormon, seperti estrogen, angiotensin, melatonin, dan sebagainya.

Berbagai macam antioksidan ini akan saling berinteraksi sehingga terbentuk hubungan redoks antioksidan. Hubungan redoks antioksidan adalah kemampuan antioksidan yang berbeda untuk saling berinteraksi satu sama lain dan meregenerasi antioksidan lain. Energi metabolik (NADPH) akan memberikan respon pada siklus thiol, dimana secara enzimatik akan merespon siklus vitamin C, dan akhirnya mampu meregenerasi vitamin E secara nonenzimatik (Packer dan Weber, 2001). Oleh karena itu, kombinasi berbagai agen antioksidan akan sangat menguntungkan bagi tubuh.

Hanya sedikit molekul antioksidan yang dapat diperoleh secara alamiah maupun dari makanan yang dikonsumsi sehari-hari. Apabila *oxidative stress* terlalu tinggi, maka semakin banyak antioksidan yang dibutuhkan tubuh. Oleh karena itu, sumber-sumber antioksidan yang ada di alam dapat dimanfaatkan dalam bentuk sediaan nutrasetika sebagai asupan tambahan antioksidan tubuh.

2.2 Nutrasetika

Istilah nutrasetika diperkenalkan sejak tahun 1970 oleh Stephen De Felice yang kemudian mendefinisikan nutrasetika sebagai makanan atau bagian dari makanan yang mengandung bahan obat atau bermanfaat bagi kesehatan, termasuk mencegah dan mengobati penyakit. Kemudian, beberapa istilah lain pun bermunculan seperti makanan obat (*medical food*), makanan fungsional (*functional food*), dan tambahan gizi (*nutritional supplements*) (Biesalski, 2001). Dari definisi nutrasetika oleh Stephen De Felice terlihat bahwa terdapat hubungan antara nutrasetika, makanan, dan obat sehingga nutrasetika dapat diartikan sebagai suatu istilah yang digunakan untuk menggambarkan komponen obat maupun gizi meliputi makanan, tanaman, atau bahan alam, yang mungkin telah dimurnikan atau dikonsentrasikan, dan digunakan untuk memperbaiki kesehatan, mencegah ataupun mengobati penyakit (Lockwood, 2007). Nutrasetika merupakan suatu

bahan yang memiliki efek farmakologi terhadap tubuh, berasal dari bahan yang biasanya digunakan sebagai makanan, baik sebagai bahan utama maupun sebagai rempah-rempah. Beberapa literatur menganggap istilah nutrasetika dengan makanan fungsional adalah sama. Namun, sesungguhnya kedua istilah ini adalah suatu hal yang berbeda karena pengertian dari makanan fungsional adalah makanan konvensional yang ditambahkan untuk tujuan kesehatan sehingga mampu meningkatkan popularitas dari suatu industri (Packer dan Weber, 2001).

Perbedaan sediaan nutrasetika dan sediaan obat adalah perusahaan nutrasetika tidak diizinkan untuk mengiklankan secara spesifik klaim medis nutrasetika mereka (Lockwood, 2007). Namun, sediaan nutrasetika tetap populer dikalangan masyarakat. Hal ini dapat dilihat dari survey *National Health and Nutrition Examination* (NHANES) tahun 1999-2000 yang menyatakan lebih dari 5000 orang dari kurang lebih 10.000 responden (52%) dilaporkan mengonsumsi nutrasetika secara rutin (National Institute of Health, 2011).

Alasan masyarakat ini gemar mengonsumsi nutrasetika diantaranya adalah untuk diet, meningkatkan kesehatan tubuh, mencegah penuaan dini, menyembuhkan penyakit, mengurangi stress, mendapat rekomendasi dari ahli kesehatan, dalam masa kehamilan, meningkatkan performa olah raga, dan mengatasi beberapa gejala penyakit seperti batuk, demam, artritis, dan sebagainya. Selain itu, berdasarkan data ilmiah, nutrasetika telah memperlihatkan efikasi dan keamanan yang jelas. Oleh karena itu, nutrasetika dapat dimanfaatkan masyarakat secara bebas dan menjadi budaya masyarakat modern.

2.3 Tanaman Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn.)

Berikut adalah berbagai informasi mengenai tanaman biji jinten hitam dan minyaknya.

2.3.1 Taksonomi

Kerajaan	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledoneae

Bangsa : Ranunculales
 Famili : Ranunculaceae
 Marga : Nigella
 Spesies : *Nigella sativa* (Hutapea, 1994)

2.3.2 Deskripsi Tanaman Jinten Hitam

Nama lain dari *Nigella sativa* Linn. ini adalah jinten hitam pahit (Indonesia), *black cumin* (Inggris), *kalvanji* (Urdu) atau *habbatusauda* (Arab Saudi) (Randhawa, 2008). Tumbuhan ini dapat tumbuh mencapai tinggi 20-30 cm, dengan daun hijau lonjong, ujung dan pangkal runcing, tepi beringgit, dan pertulangan menyirip. Bunganya majemuk, bentuk karang, kepala sari berwarna kuning, mahkota berbentuk corong berwarna antara biru sampai putih, dengan 5-10 kelopak bunga dalam satu batang pohon (Hutapea, 1994).



[sumber: <http://maps.ics.trieste.it/Home/Plant/633>]

Gambar 2.1. Tanaman *Nigella sativa* Linn.

2.3.3 Deskripsi Simplisia Biji Jinten Hitam

Biji 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 biji berwarna hitam kecokelatan, berbintik-bintik, kasar dan berkerut, terkadang dengan beberapa rusuk membujur atau melintang. Pada penampang melintang biji akan terlihat kulit biji berwarna coklat kehitaman sampai hitam (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1979).

2.3.4 Cara Ekstraksi Minyak Biji Jinten Hitam

Minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa* Linn. *fixed oil*) umumnya diekstraksi dengan menggunakan teknik pelarut seperti yang digambarkan pada AOCS/*American Oil Chemist's Society* (1998). Biji jinten hitam yang halus dimasukkan dalam labu berwarna gelap dan ditambahkan n-heksan perbandingan 1:6, kemudian dikocok selama 4 jam (kecepatan 180 U/menit). Ekstraksi dilanjutkan dengan sentrifugasi selama 15 menit (1000g) pada suhu ruangan ($\pm 20^{\circ}\text{C}$). Supernatan disaring menggunakan kertas saring. Prosedur ini diulangi dua kali untuk ampas ekstrak. Pelarut yang terkandung dalam ekstrak dihilangkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C atau dengan menggunakan nitrogen bertekanan tinggi (Cheikh-Rouhou, Besbes, Hentati, dan Blecker, 2007).

Metode lain menggunakan pelarut petroleum eter selama 4 jam dalam sokhlet. Ekstrak kemudian dikonsentrasikan di bawah tekanan yang rendah. Selanjutnya dilarutkan kembali dalam petroleum eter dan ditambahkan larutan metanol-KOH 2M. Campuran dikocok selama 2 menit lalu didiamkan selama 10 menit. Lapisan paling atas merupakan minyak biji jinten sehingga dapat diambil dan dicuci dengan air hingga bebas dari pelarut (Nickvara, Mojaba, Javidniab, dan Amolia, 2003).

Metode *cold-pressing* merupakan metode baru dalam mengekstraksi minyak biji jinten hitam. Simplisia tidak mendapatkan perlakuan panas maupun penambahan pelarut. Oleh karena itu, minyak biji jinten hitam hasil *cold-pressing* tidak memerlukan proses pemurnian dan juga memungkinkan untuk memperoleh kandungan fitokimia lipofilik dalam kadar tinggi, termasuk didalamnya antioksidan alam dan turunan timoquinonnya (Lutterodt, Luther, Slavin, Yin, Parry, dan Gao, 2010).

2.3.5 Kandungan Minyak Biji Jinten Hitam (*Nigella sativa* Linn. *fixed oil*)

Komposisi kandungan biji jinten hitam akan bervariasi sesuai dengan distribusi geografi dan waktu pemanenan biji ini.

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 dan Bakeet, 2006, telah diolah kembali]

Tabel 2.2. Komposisi kimia minyak biji jinten hitam

Komposisi	% Rentang (b/b)
Asam Linoleat	44,7-56
Asam Oleat	20,7-24,6
Asam Linolenat	0,6-13,8
Asam Arakhidonat	2-3
Asam Palmitolat	3
Asam Eikosadinat	2-2,5
Asam Palmitat	12-14,3
Asam Stearat	2,7-3
Asam Miristat	0,16
Sterol	0,5

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

Kandungan minyak biji jinten hitam juga terdapat 1,70-4,12 mg/100 g α -tokoferol; 0,97-4,51 mg/100 g γ -tokoferol; dan 4,90-17,91 mg/100 g β -tokotrienol sehingga total tokoferol akan bervariasi berkisar antara 9.15 mg/100 g hingga 24,65 mg/100g (Matthaus dan Ozcan, 2011). Sedangkan menurut penelitian Ramadan dan Morsel (2002) disebutkan bahwa minyak biji jinten hitam juga mengandung β -karoten sejumlah 593 μ g tiap gram minyak (Sultan, 2009). Kandungan fenol dalam minyak biji jinten hitam juga tergolong cukup tinggi (245-369 mg/kg), meskipun tidak melebihi kandungan fenol minyak zaitun (380-516 mg/kg). Namun, minyak biji jinten hitam memiliki waktu induksi oksidasi yang sebanding dengan minyak zaitun murni (Cheikh-Rouhou, Besbes, Hentti, dan Blecker, 2007). Karena kaya akan kandungan asam lemak, tokoferol, dan

sterol, maka biji jinten hitam berpotensi menjadi sumber minyak yang sangat baik. Disamping itu, kandungan tokoferol, fenol, dan β -karoten juga berperan penting terhadap kemampuan minyak biji jinten hitam sebagai agen antioksidan.

2.3.6 Manfaat Minyak Biji Jinten Hitam secara Studi Farmakologis

Minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa* Linn. *fixed oil*) serta minyak esensialnya (*Nigella sativa* Linn. *essential oil*) dinyatakan aman untuk dikonsumsi oleh manusia dalam percobaan menggunakan tikus *Sprague Dawley* pada dosis masing-masing 4% dan 0,3%. Hasil serologi mengindikasikan bahwa pada pemberian dosis tersebut, untuk uji fungsi hati dan ginjal, profil serum protein, kadar enzim jantung, keseimbangan elektrolit, serta sel darah tikus masih dalam keadaan normal (Sultan, Butt, dan Anjum, 2009). Sedangkan menurut penelitian toksikologi Zaoui *et al.* (2002) jumlah LD₅₀ (*lethal dosis*) dari minyak biji jinten hitam yang diberikan per oral pada tikus adalah 28.8 ml/kg berat badan (Randhawa, 2008).

Banyak penelitian yang membuktikan berbagai macam khasiat dari minyak biji jinten hitam, diantaranya adalah kemampuannya memperpanjang waktu protrombin dari tikus untuk aktivitas antikoagulan. Pada pemberian minyak biji jinten hitam jangka panjang yang dicampurkan pada makanan sehari-hari tikus diabetes terinduksi streptozotocin (STZ) terlihat bahwa terjadi penyembuhan yang cukup signifikan dari hari ke hari (El-Tahir dan Bakeet, 2006).

Kandungan utama yang berperan sebagai antioksidan dalam biji jinten hitam adalah timoquinon. Timoquinon paling banyak terkandung dalam minyak esensial. Namun, minyak komersial biji jinten hitam yang beredar di pasaran selama ini adalah berupa minyak lemak (*fixed oil*). Namun, berdasarkan analisis GC-MS dari enam sampel minyak esensial biji jinten hitam dan minyak lemak biji jinten hitam komersial menunjukkan bahwa komponen menguap kualitatif kedua macam minyak ini identik. Perbedaan yang ada hanya sebatas dari komposisi kuantitatif (Burits dan Bucar, 2000).

Manfaat lain dalam hal antioksidan dapat dilihat dari penelitian Cheikh-Rouhou *et al.* (2008) yang menyatakan bahwa kadar β -sitosterol yang tinggi dari minyak biji jinten hitam cukup efektif dalam menurunkan kadar kolesterol darah

serta dapat mencegah penyakit jantung koroner. Sedangkan pada percobaan Houghton *et al.* (1995) mengungkapkan bahwa baik minyak biji jinten hitam dan timoquinon mampu menghambat peroksidasi lipid secara nonenzimatik sehingga dapat mencegah kerusakan hati (Burits dan Bucar, 2000). Dari penelitian Khan *et al.* (2003) menyatakan kemampuan antioksidan minyak biji jinten hitam ini terlihat dari penghambatan respon induksi tumor pada ginjal tikus yang diinduksi menggunakan $KBrO_3$ (Sultan, 2009). Aktivitas antioksidan minyak biji jinten juga ditunjukkan dengan kemampuan minyak biji jinten hitam mengurangi peradangan lambung yang diperparah akibat rendahnya kadar hormon tiroid pada tikus percobaan (Khaled dan Abdel-Sater, 2009).

Aksi perlindungan sel oleh minyak biji jinten hitam tersebut merupakan bukti dari efek sifat antioksidan dan kemampuan minyak biji jinten sebagai *scavenging* radikal bebas.

2.4 Emulsi Ganda

Emulsi ganda (*multiple emulsions/double emulsions*) merupakan suatu sistem kompleks yang dikenal pula dengan istilah ‘emulsi dalam emulsi’, dimana droplet dari fase terdispersi itu sendiri juga mengandung droplet terdispersi yang lebih kecil (Garti dan Bisperink, 1998). Emulsi ganda tergolong pada emulsi sederhana dengan tipe umum berupa W/O/W (air dalam minyak dalam air) dan O/W/O (minyak dalam air dalam minyak).

Pembuatan emulsi ganda pada prinsipnya dapat dilakukan secara konvensional dengan beberapa metode, yaitu sonikasi, agitasi, dan inversi fase (Meyers, 2006). Metode pembuatan emulsi ganda yang paling umum adalah metode inversi fase menggunakan proses emulsifikasi dua tahap dengan dua macam emulgator. Pada pembuatan emulsi primer (fase dalam) digunakan kondisi pengadukan tinggi (ultrasonifikasi dan homogenisasi) agar memperoleh droplet yang kecil, sedangkan tahap emulsifikasi kedua dibuat tanpa pengadukan yang berlebihan karena dapat merusak droplet emulsi primer (Garti, 1997).

Emulsi ganda menggabungkan berbagai fase dan antarmuka sehingga dibutuhkan surfaktan (emulgator) yang mampu menstabilkan dua sistem ini. Untuk emulsi ganda tipe W/O/W, umumnya dibutuhkan emulgator larut lemak

dengan nilai HLB rendah (2-8) untuk emulsi primer. Sedangkan emulgator dengan nilai HLB tinggi (6-16) untuk mengemulsikan emulsi primer pada fase air.

Kegunaan utama sistem emulsi ganda adalah membatasi dan melindungi sistem untuk pelepasan terkendali dari zat aktif. Namun, emulsi ganda dapat dimanfaatkan dalam berbagai bidang, diantaranya (Lutz dan Aserin, 2008):

- a. Bagi industri makanan, menurut penelitian Matsumoto (1986) dan Yoshida *et al.* (1999), emulsi ganda tipe W/O/W dapat meningkatkan masalah kelarutan dari bahan tertentu, bahan larut dan tidak larut minyak, mampu melindungi reservoir cairan untuk molekul yang sensitif terhadap aktivitas lingkungan luar seperti oksidasi, cahaya, dan enzim, dan mampu menjerap reservoir untuk melindungi rasa dan aroma yang tidak diinginkan.
- b. Pada aplikasi industri kosmetik, Kim dan Lee (1999) serta Gallarate *et al.* (1999) menyatakan bahwa pembuatan yang berbasis air akan memberikan sensasi nyaman dengan pelepasan zat aktif serta aroma yang lebih lambat. Selain itu juga akan memberikan sifat mudah tercuci dengan air.
- c. Sebagian besar aplikasi berhubungan dengan industri farmasetika. Menurut Okochi dan Nakano (2000); Shima *et al.* (2006); dan Vasiljevic *et al.* (2006) sediaan emulsi ganda akan memberikan keuntungan dalam hal meningkatkan efek kemoterapi dari obat antikanker, imobilisasi obat, pengobatan overdosis obat, dan melindungi insulin dari degradasi enzimatik.
- d. Sedangkan untuk industri agrikultur, berdasarkan Versteeg (1978) aplikasi potensial emulsi ganda dapat berperan sebagai sistem lepas lambat untuk penyubur dan pestisida.
- e. Untuk industri bahan bakar, menurut Lin dan Wang (2003) emulsi ganda dapat menjadi alternatif bentuk bahan bakar mesin diesel.

Ukuran droplet emulsi ganda lebih besar daripada emulsi biasa sehingga emulsi ganda kurang stabil secara termodinamika. Selain itu pelepasan bahan aktif dari fase dalam ke fase luar sering kali tidak terkendali. Stabilitas dan mekanisme pelepasan emulsi ganda saling berhubungan dan tidak dapat terpisahkan satu sama lain (Lutz dan Aserin, 2008).

Untuk meningkatkan stabilitas emulsi ganda dan kemampuannya dalam lepas terkendali, dapat dicapai dengan beberapa cara (Garti dan Aserin, 1996):

- a. menstabilkan emulsi primer bagian dalam dengan mengurangi ukuran droplet, pembentukan L₂-mikroemulsi, pembentukan mikrosfer, dan meningkatkan viskositas dari fase air bagian dalam.
- b. memodifikasi fase minyak dengan meningkatkan viskositas, menambahkan karier, dan menambahkan kompleksan.
- c. menstabilkan emulsi dalam dan/atau emulsi luar dengan menggunakan emulgator polimer, dan menambahkan partikel koloid untuk menguatkan lapisan di permukaan.

Banyak penelitian yang mengungkapkan penggunaan biopolimer untuk meningkatkan stabilitas dari emulsi ganda sehingga mencapai keadaan seperti yang disebut oleh Garti dan Aserin (1996). Bagaimanapun juga polimer sintetik ampifilik tidak diperuntukkan untuk sistem *food grade*. Oleh karena itu, biopolimer alam seperti protein, lipoprotein, dan polisakarida merupakan molekul *food grade* yang dapat digunakan sebagai emulgator. Biopolimer alam yang digunakan sebagai stabilisator emulsi ganda diantaranya (Lutz dan Aserin, 2008):

2.4.1 Protein

Protein yang terbukti mampu meningkatkan stabilitas emulsi ganda misalnya gelatin, *whey protein*, *bovine serum albumin*, *human serum albumin*, dan kasein. Protein dapat digunakan dalam kombinasi dengan emulgator monomerik, khususnya saat protein digunakan dalam fase dalam. Kombinasi protein dengan penstabil lain akan meningkatkan stabilitas emulsi ganda, terutama kemampuannya mengenkapsulasi fase dalam dan mengurangi konsentrasi emulgator hidrofobik. Protein pada fase eksternal juga dapat meningkatkan stabilitas tanpa penambahan emulgator atau penstabil.

Mekanisme suatu protein dapat meningkatkan stabilitas emulsi ganda adalah pembentukan makromolekul yang fleksibel sehingga meningkatkan stabilitas sterik dengan membentuk salut tebal berlapis pada droplet. Protein juga

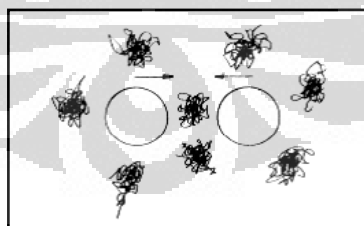
digunakan di fase dalam untuk membuat lapisan barrier mekanis yang mampu mencegah pelepasan bahan terjerap tidak terkendali.

2.4.2 Hidrokoloid

Hidrokoloid merupakan biopolimer hidrofilik dengan berat molekul yang besar sehingga dalam industri makanan berfungsi untuk mengendalikan viskositas, gelasi, mikrostruktur, tekstur, rasa, dan memperpanjang waktu paruh. Istilah hidrokoloid meliputi polisakarida yang diekstraksi dari tanaman, rumput laut, dan sumber mikroba.

Florence and Whitehill (1985) menyarankan untuk mengurangi mobilitas zat aktif dapat dilakukan dengan beberapa cara, yaitu menggunakan minyak dengan viskositas tinggi untuk mencegah difusi air atau surfaktan ke fase dalam, penggelasian fase minyak atau cair (enkapsulasi), dan polimerisasi antarmuka yang teradsorpsi oleh surfaktan. Ketiga hal tersebut dapat dicapai dengan penambahan hidrokoloid.

Hidrokoloid secara signifikan meningkatkan stabilitas emulsi ganda karena membantu enkapsulasi yang lebih baik pada fase dalam sehingga mencegah pelepasan tidak terkendali dari bahan yang terjerap. Stabilisasi emulsi ganda ini dapat dicapai karena adanya stabilisasi deplesi. Stabilisasi deplesi diperoleh dari partikel koloidal yang diberikan oleh makromolekul yang terbebas di larutan. Namun, penggunaan hidrokoloid ini akan berdampak pada viskositas dan reologi dari emulsi ganda.



[Sumber: Jingyu, 2002]

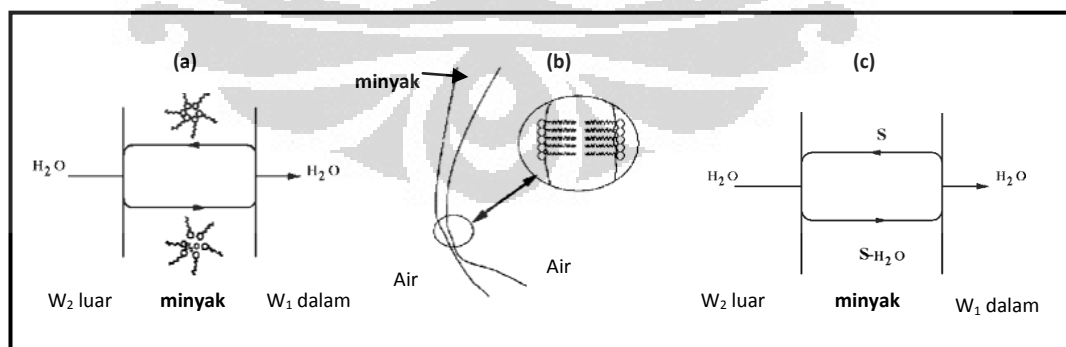
Gambar 2.2. Skema stabilisasi deplesi

2.4.3 Kompleks Protein dan Hidrokoloid

Kompleks elektrostatik antara muatan yang berbeda dari protein dan polisakarida memungkinkan untuk makromolekul ampifil menahan antar muka

minyak dan air. Kemampuan kompleks protein dan polisakarida dalam meningkatkan stabilitas emulsi ganda terlihat dalam hal seperti mengurangi ukuran droplet, mengurangi distribusi ukuran droplet, dan enkapsulasi droplet dalam yang lebih baik. Kompleks protein dan polisakarida akan mengubah sifat viskositas dan reologi dari emulsi ganda menjadi lebih viskos (kental) dan elastis. Beberapa contoh kompleks protein dan hidrokoloid yang terbukti mampu menstabilkan emulsi ganda adalah kompleks antara protein seperti *whey protein isolate*, bovine serum albumine, kasein dengan hidrokoloid seperti xantan, guar, dan *locus bean gum*.

Tekanan osmotik akan berpengaruh terhadap kestabilan emulsi ganda. Bagi emulsi ganda tipe W/O/W pemecahan emulsi dapat terjadi karena tekanan osmotik yang tidak sama antara fase cair dalam dan luar. Tekanan osmotik pada lingkungan luar lebih tinggi daripada fase dalam akan menyebabkan penyusutan cairan droplet dalam atau pecahnya lapisan minyak. Sodium klorida dan elektrolit lain ditambahkan pada fase cair dalam maupun luar pada emulsi ganda tipe W/O/W yang dapat bermigrasi melewati lapisan minyak dan sampai pada fase cair lainnya melalui perpindahan melalui miselar balik, difusi melewati lamela surfaktan tipis yang bergantung pada fluktuasi ketebalan minyak, dan perpindahan melalui surfaktan terhidrasi (Benichou, Aserin, dan Garti, 2004) (Jiao dan Burgess, 2008).



[Sumber: Benichou, Aserin, dan Garti, 2004, telah diolah kembali]

Gambar 2.3. Skema ilustrasi (a) perpindahan melalui miselar balik, (b) difusi melewati lamela surfaktan tipis, dan (c) perpindahan melalui surfaktan terhidrasi

Tekanan Laplace muncul disebabkan karena tegangan permukaan campuran dua cairan pada lengkung antarmuka ketika cairan satu terdispersi sebagai droplet ke cairan lainnya. Tekanan Laplace pada proses emulsifikasi menyebabkan suatu emulsi menjadi tidak efisien secara termodinamika. Untuk membentuk droplet yang kecil, sangat melengkung, dibutuhkan energi yang lebih besar. Penambahan konsentrasi garam yang mendekati optimal pada fase dalam berada antara tekanan Laplace dan tekanan osmotik pada droplet cairan dalam sehingga mencapai stabilitas maksimum (Jiao dan Burgess, 2008).

2.5 Formulasi Emulsi Ganda

2.5.1 Surfaktan (emulgator)

Senyawa yang menurunkan tegangan permukaan disebut dengan tensid, yang selanjutnya disebut pula senyawa aktif permukaan (*surface active agent/surfaktan*). Dalam sediaan emulsi, surfaktan ini kemudian disebut sebagai emulgator. Senyawa ini memiliki gugus lipofil maupun hidrofil dalam molekulnya. Surfaktan memiliki struktur rantai panjang. Di dalam air, emulgator akan berorientasi sehingga bagian hidrofilnya akan masuk ke cairan, sedangkan bagian hidrofobnya terbalik terhadap fase batas. Adsorpsi molekul surfaktan pada permukaan cairan menyebabkan terjadinya penurunan tegangan permukaan. 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).

Surfaktan (emulgator) diklasifikasikan secara sederhana menjadi empat macam, yaitu (Meyers, 2006):

- a. Anionik, bagian hidrofil adalah gugus yang bermuatan negatif seperti karboksil ($\text{RCOO}^- \text{M}^+$), sulfonat ($\text{RSO}_3^- \text{M}^+$), sulfat ($\text{ROSO}_3^- \text{M}^+$), atau fosfat ($\text{ROPO}_3^- \text{M}^+$). Surfaktan anionik merupakan surfaktan yang paling banyak digunakan (70-75%).
- b. Kationik, bagian hidrofil mengandung muatan positif, contohnya ammonium halida kuartener ($\text{R}_4\text{N}^+ \text{X}^-$), dan dan keempat gugus R- boleh semua sama atau tidak (sangat jarang), tetapi biasanya dalam satu golongan.

- c. Nonionik, bagian hidrofil tidak bermuatan, tetapi turunan larut air dari gugus kepolaran tinggi seperti polioksietilen (POE atau R–OCH₂CH₂O–) atau R– gugus polioliol termasuk gula.
- d. Amfoter (dan zwitterion), molekul mengandung atau dapat berpotensi mengandung muatan negatif juga muatan positif, seperti sulfobetain RN⁺ (CH₃)₂CH₂CH₂SO₃⁻.

Hubungan antara struktur dengan keefektifan dari surfaktan (emulgator) berkaitan erat dengan keberhasilan suatu emulsi. Hubungan ini dikenal dengan sistem keseimbangan gugus hidrofilik dan lipofilik atau HLB (*hydrophile-lipophile balance*). HLB merupakan jumlah untuk mengukur potensi emulsi, dengan kata lain merupakan kualitas dan stabilitas dari emulsi. HLB dari surfaktan yang dilihat dari struktur kimianya harus sesuai dengan HLB dari fase minyak yang akan terdispersi (Meyers, 2006).

$$HLB = \frac{\text{mol\% gugus hidrofilik}}{5} \quad (2.1)$$

Meskipun sistem HLB terbukti berguna dalam sudut pandang formulasi kimia, secara empiris dirasa kurang memuaskan sehingga muncul rumus berikut:

$$HLB = 7 + \sum(\text{jumlah gugus hidrofilik}) - \sum(\text{jumlah gugus hidrofobik}) \quad (2.2)$$

Kegunaan dari sistem HLB adalah untuk memudahkan dalam memilih emulgator yang terbaik untuk diaplikasikan dapat berupa surfaktan tunggal ataupun campuran surfaktan untuk membuat emulsi dengan HLB emulgator sesuai dengan minyak yang digunakan.

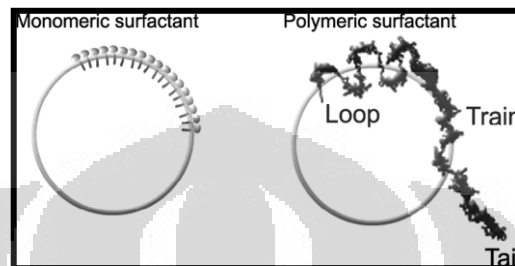
Tabel 2.3 Rentang HLB dan area aplikasinya

Rentang HLB	Aplikasi Umum
2-6	Emulsi W/O
7-9	Agen pembasah
8-18	Emulsi O/W
3-15	Detergen
15-18	Pelarut

[Sumber: Meyers, 2006, telah diolah kembali]

Emulgator yang paling menjanjikan untuk membuat emulsi ganda adalah polimer amfifilik sintetik dan alam atau biopolimer (protein dan hidrokoloid).

Polimer ampifilik dapat meningkatkan perlindungan permukaan droplet selama emulsifikasi karena memiliki kemampuan stabilisasi sterik yang kuat dan adsorpsi yang ireversibel. Energi bebas polimer ampifilik saat adsorpsi lebih besar daripada surfaktan monomerik. Polimer ampifilik membentuk lapisan tebal dan fleksibel yang kuat melindungi permukaan minyak-air.



[Sumber: Lutz&Aserin, 2008]

Gambar 2.4. Skema yang merepresentasikan adsorpsi permukaan surfaktan monomerik dan polimerik.

Berikut adalah tiga mekanisme utama stabilisasi polimer ampifilik (Lutz dan Aserin, 2008):

- a. Stabilisasi sterik dihasilkan dari interaksi hidrofobik antara polimer yang diadsorpsi.
- b. Stabilisasi deplesi oleh makromolekul nonadsorpsi yang mencegah benturan antar droplet dan menyebabkan elastisitas sistem.
- c. Repulsi elektrostastik antara dua droplet dengan muatan yang sama.

2.5.2 Komponen Pembentuk Emulsi Ganda

2.5.2.1 Emulgator

- a. Tween 80

Tween 80 memiliki nama lain polioksietilen-(80)-sorbitanmonolaurat dengan harga HLB 15. Tween 80 merupakan golongan surfaktan nonionik ester parsial asam lemak dari polioksietilensorbitan. Emulgator ini bertanggung jawab untuk pembentukan emulsi tipe minyak dalam air (O/W). Namun, tween 80 ini memiliki efek rasa seperti sabun. Tween 80 berbentuk cair viskos berwarna kekuningan (Voight, 1995).

b. Span 80

Span 80 adalah emulgator golongan ester parsial asam lemak dari sorbitan dengan nama lain sorbitan monooleat. Span 80 memiliki harga HLB 4,3 dan digunakan sebagai emulgator air dalam minyak (W/O). Span 80 ini berupa cairan viskos berwarna kuning (Voight, 1995).

2.5.2.2 Biopolimer (Xanthan gum)

Untuk memperlambat terjadinya kriming maka dalam formulasi ini ditambahkan xanthan gum sebagai *thickening agent*. Xanthan gum tergolong dalam gum polisakarida dengan berat molekul yang besar. Xanthan gum berwarna krem hingga putih, tidak berbau, mudah mengalir, dan serbuk yang halus. Pada umumnya digunakan untuk oral maupun topikal. Xanthan gum tidak toksik dan kompatibel dengan hampir semua bahan farmasetika. Stabilitas xanthan gum juga baik dan memiliki viskositas untuk pH dan suhu yang luas. Gel xanthan gum umumnya pseudoplastik. Dalam bentuk larutan, xanthan gum stabil terhadap enzim, garam, asam, dan basa. Karena merupakan bahan anionik, umumnya xanthan gum tidak kompatibel dengan surfaktan kationik, polimer, atau pengawet karena memungkinkan terjadi pengendapan. Konsentrasi surfaktan anionik dan amfoterik di atas 15% w/v dapat menyebabkan pengendapan pula pada larutan xanthan gum (Rowey, Sheskey, dan Owen, 2006).

2.5.2.3 Perasa (Pasta Essence Jeruk)

2.5.2.4 Pemanis (Na Siklamat)

Na siklamat berwarna putih, tidak berbau atau sedikit berbau, kristal atau serbuk kristal dengan rasa manis yang kuat. Na Siklamat sudah umum digunakan sebagai pemanis untuk formula farmasetika, makanan, dan minuman. Dalam bentuk larutan (0,17%) rasa manisnya kurang lebih 30 kali dari rasa manis sukrosa. Namun, pada konsentrasi tinggi akan berkurang (>0,5%) dan membentuk rasa sedikit pahit (Rowey, Sheskey, dan Owen, 2006).

2.5.2.5 Pelarut (Aquademineralisata)

Aquademineralisata adalah air murni yang diperoleh dengan cara penyulingan. Air murni dapat diperoleh dengan cara penyulingan, pertukaran ion, osmosis terbalik, atau dengan cara yang sesuai. Karena akan digunakan untuk sediaan oral, maka digunakan air yang bebas mineral, partikel, dan mikroba (Rowey, Sheskey, dan Owen, 2006).

2.5.2.6 Natrium klorida (NaCl)

NaCl dapat digunakan untuk meningkatkan pelepasan obat dari gel maupun emulsi. Selain itu juga dapat digunakan untuk mengendalikan ukuran misel dan mengatur viskositas polimer terdispersi dengan mengacu pada karakteristik ion formula. NaCl berupa kristal putih atau kristal tak berwarna, berasa salin (Rowey, Sheskey, dan Owen, 2006).

2.6 Stabilitas Emulsi Ganda

Emulsi ganda yang stabil tidak akan terjadi perubahan fase atau kontaminasi mikroba selama penyimpanan, dan harus tetap terjaga penampilannya, meliputi aroma, warna, dan konsistensinya (Eccleston, 2007). Terdapat beberapa kemungkinan yang menyebabkan ketidakstabilan emulsi ganda W/O/W yang dapat digolongkan sebagai berikut (Jiahong, 2008):

2.6.1 Destabilisasi Emulsi Sederhana

Emulsi tipe O/W dapat mengalami beberapa tipe perubahan fisik, berbeda dengan emulsi tipe W/O yang mungkin cenderung mengalami sedimentasi daripada kriming.

2.6.1.1 Kriming

Kriming adalah pertumbuhan dari droplet karena aktivitas gravitasi sehingga droplet terpisah ketika disentuh. Kriming berada pada fase kontinu jika fase terdispersi tidak memiliki berat jenis yang sebanding. Kecepatan kriming dapat diperlambat dengan memperkecil ukuran droplet, menyamakan berat jenis dari dua fase, dan menambah viskositas dari fase kontinu.

2.6.1.2 Flokulasi

Flokulasi adalah suatu bentuk pelekatan bersama dari droplet dan membentuk kluster tiga dimensi. Hal ini merupakan proses agregasi dari droplet sebagai hasil dari benturan kombinasi gaya antar droplet. Flokulasi disebabkan oleh gerak Brown, gravitasi, dan gerak geser dari droplet.

2.6.1.3 Koalesen

Koalesen disebabkan oleh rusaknya lapisan tipis antar droplet yang berdekatan. Hal ini akan mengurangi tegangan antarmuka dan luas permukaan droplet. Kemungkinan terjadinya koalesen sebanding dengan lama droplet itu saling berdekatan. Koalesen jarang terjadi pada pada droplet yang kecil atau pada lapisan yang tebal karena droplet ini memiliki luas lapisan yang lebih kecil atau memiliki gaya tolak antara droplet. Koalesen menyebabkan droplet menjadi lebih besar dan terjadi pemisahan fase.

2.6.1.4 Ostwald Ripening

Benturan antar dua droplet dapat menyebabkan droplet yang lebih besar dan yang lebih kecil. Droplet yang kecil akan menjadi semakin kecil dan terlarut pada medium kontinu sehingga polidispersi dari sistem berkurang. Gaya utama yang menyebabkan Ostwald ripening adalah tekanan Laplace, dan hal ini dapat diseimbangkan dengan tekanan osmotik melalui penambahan bahan terlarut ke fase cair. Segera setelah droplet kecil menyusut, konsentrasi garam dan tekanan osmotik akan meningkat sehingga menghasilkan daya penggerak perpindahan air dari arah yang berlawanan. Hasilnya adalah distribusi ukuran yang stabil.

2.6.2 Koalesen Antara Fase Cairan Dalam dan Luar

Koalesen eksternal menyebabkan pelepasan dari droplet dalam beserta isinya ke fase kontinu terluar. Sedangkan koalesen internal akan menyebabkan pengurangan jumlah droplet dalam dan menambah ukuran mereka.

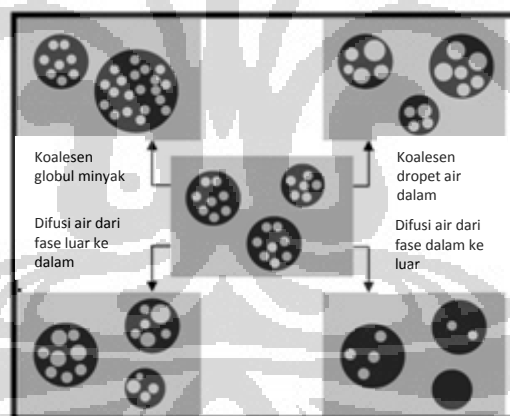
Kecepatan pemecahan lapisan minyak atau hilangnya droplet air melalui koalesen antara droplet air dalam dan fase cairan luar dapat dipercepat setelah pengembangan droplet air dalam yang dapat dikendalikan oleh gradien tekanan osmotik.

2.6.3 Transportasi Air Melewati Fase Minyak

Air melewati fase minyak pada emulsi W/O/W terjadi karena tiga kemungkinan, yaitu transport miselar balik, perpindahan penipisan miselar dari tanda fase cairan internal ke fase kontinu, dan perpindahan air melalui surfaktan terhidrasi. Kecepatan perpindahan air berhubungan dengan konsentrasi dan asal surfaktan, tipe minyak yang digunakan, dan efek dari gradien konsentrasi garam antara dua permukaan.

2.6.4 Transportasi Elektrolit Melewati Fase Minyak

Perpindahan ion terjadi utamanya karena mekanisme miselar balik (*reverse micellar transport*), dimana ion terjepit dalam miselar dan dipindahkan melewati fase minyak karena keberadaan ion pada saat terhidrasi dalam fase cairan. Tidak ada hubungan antara mekanisme difusi molekuler pada perpindahan ion yang melewati minyak. Kecepatan perpindahan ion melewati fase minyak tergantung pada kealamian bahan yang terjepit, emulgator yang digunakan, pemilihan minyak, dan pH dari fase cairan.



[Sumber: Lutz & Aserin, 2008, telah diolah kembali]

Gambar 2.5. Skema yang merepresentasikan kemungkinan ketidakstabilan pada emulsi ganda tipe W/O/W

2.7 Spektrofotometri UV-Vis

Prinsip dasar dari sebagian besar spektrofotometri adalah suatu pengukuran perbandingan dengan kondisi yang sesuai, antara absorbansi radiasi substansi yang tidak diketahui jumlahnya dengan absorbansi substansi yang telah

diketahui jumlahnya. Umumnya dibutuhkan sensitivitas yang maksimum dalam hal ini (Moffat, Osselton, dan Widdop, 2005).

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 digunakan untuk analisa kualitatif (Harmita, 2006).

Spektrofotometer mengukur besarnya energi yang diabsorpsi atau diteruskan. Jika radiasi yang monokromatik melewati larutan yang mengandung zat yang dapat menyerap, maka radiasi ini akan dipantulkan, diabsorpsi oleh zatnya, dan sisanya ditransmisikan. Lambert dan Beer telah menurunkan secara empirik hubungan antara intensitas cahaya yang ditransmisikan dengan tebalnya larutan dan hubungan antara intensitas tadi dengan konsentrasi zat. Hukum Lambert-Beer (Harmita, 2006):

$$A = \log \frac{I_0}{I_t} = \gamma \cdot b \cdot c = a \cdot b \cdot c \quad (2.3)$$

dimana: A = serapan

I_0 = intensitas sinar yang datang

I_t = intensitas sinar yang diteruskan

γ = absorbtivitas molekuler ($\text{mol} \cdot \text{cm} \cdot I_t^{-1}$)

a = daya serap ($\text{g} \cdot \text{cm} \cdot I_t^{-1}$)

b = tebal larutan/kuvet

c = konsentrasi ($\text{g} \cdot I_t^{-1} \cdot \text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$)

Penyimpangan-penyimpangan yang terdapat pada hukum Beer antara lain, pada konsentrasi rendah grafik hubungan dari serapan dengan konsentrasi

biasanya merupakan garis lurus, dan pada konsentrasi yang lebih tinggi kurva ini dapat membelok ke arah absis atau ordinat. Penyimpangan ini disebabkan oleh kondisi percobaan yang sudah tidak dipenuhi lagi, yaitu (Harmita, 2006):

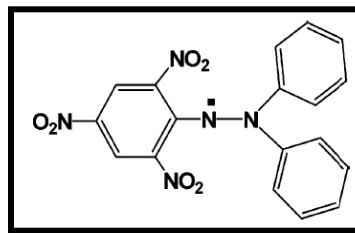
- a. Cahaya tidak cukup monokromatis
- b. Cahaya sampingan mengenai detektor
- c. Kepekaan detektor berubah
- d. Intensitas sumber cahaya dan amplifier dari detektor berubah-ubah karena tegangan tidak stabil
- e. Pada desiasi-asosiasi keseimbangan kimia berubah, misalnya pada perubahan pH larutan
- f. Larutan berfluoresensi
- g. Suhu larutan berubah selama pengukuran

Hukum Beer hanya berlaku untuk cahaya monokromatis. Dalam praktik, hal ini sukar dipenuhi karena derajat kemonokromatisan ditentukan oleh lebar celah yang digunakan. Makin kecil lebar celah yang ditetapkan, makin monokromatis cahaya yang diperoleh. Akan tetapi intensitas cahaya yang mengenai detektor juga makin kecil sehingga kepekaan berkurang. Jadi, selalu dicari jalan tengah antara keakuratan, kepekaan, dan persyaratan detektor (Harmita, 2006).

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

- a. 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.
- b. pH larutan
- c. Kadar larutan, jika konsentrasi tinggi akan terjadi polimerisasi yang menyebabkan λ maksimum berubah sama sekali.
- d. Tebal larutan, jika digunakan kuvet dengan tebal berbeda akan memberikan spektrum serapan yang berbeda.
- e. Lebar celah.

2.8 Pengukuran Aktivitas Antioksidan dengan Metode Peredaman DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil)



[Sumber: Prior, Wu, &Schaich, 2005]

Gambar 2.6. Struktur 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH*)

Radikal DPPH merupakan radikal nitrogen organik yang kurang stabil berwarna ungu mantap. Pengujian ini berdasarkan pengukuran dari pengurangan kemampuan antioksidan terhadap DPPH. Kemampuan dapat dievaluasi dengan *electron spin resonance* (EPR) atau dengan mengukur penurunan absorbansi warna. Uji antioksidan berdasarkan hilangnya warna DPPH pada panjang gelombang 515 nm setelah reaksi dengan senyawa dan reaksi ini dilihat dengan spektrofotometer.

Presentase DPPH yang masih tersisa dihitung dengan rumus:

$$\%DPPH^*_{REM} = 100 \times [DPPH^*]_{REM} / [DPPH^*]_{T=0} \quad (2.4)$$

Persentase DPPH* yang tersisa ($DPPH^*_{REM}$) sebanding dengan konsentrasi antioksidan. Konsentrasi yang mampu menurunkan konsentrasi hingga 50% disebut IC_{50} . Waktu yang dibutuhkan untuk mencapai keadaan tunak IC_{50} disebut T_{IC50} . Kelebihan uji DPPH adalah metode yang cukup sederhana dan cepat karena hanya membutuhkan spektrofotometer UV-Vis sehingga dapat digunakan untuk menggambarkan skrining antioksidan suatu senyawa (Prior, Wu, dan Schaich, 2005).

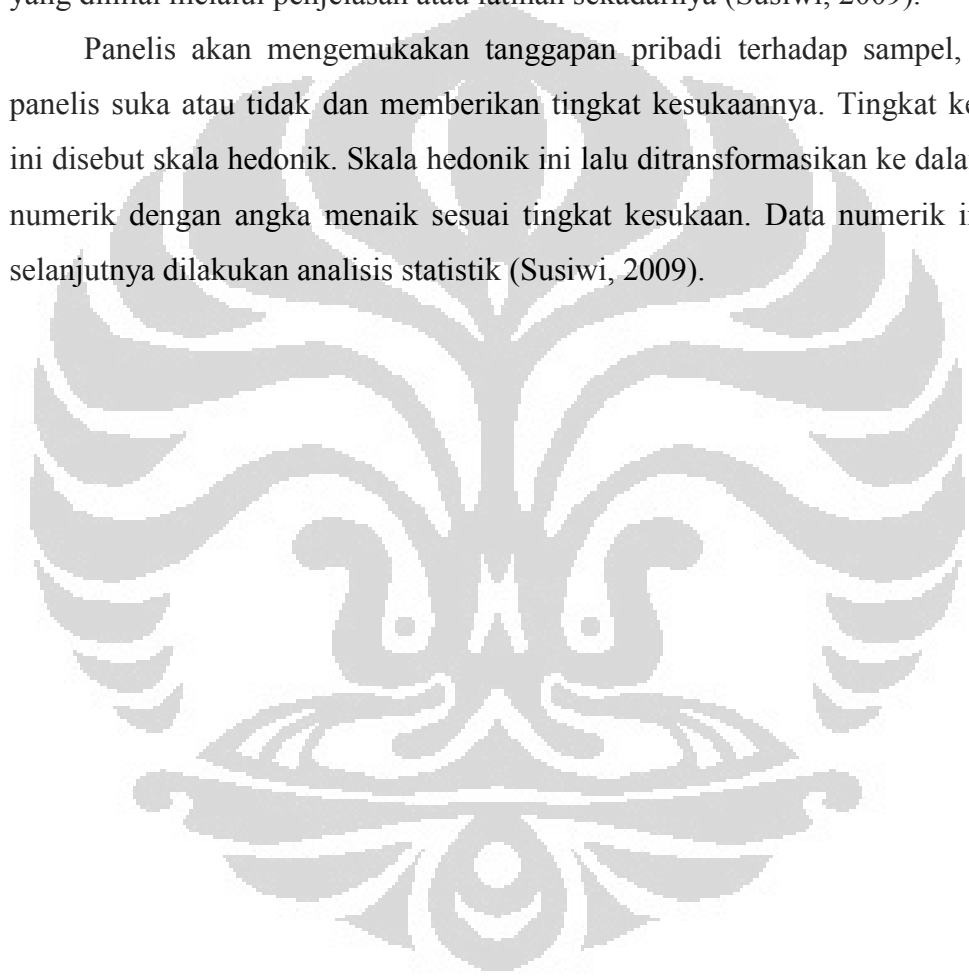
2.9 Uji Kesukaan (*Hedonic Test*)

Uji kesukaan tergolong dalam evaluasi sensori. Evaluasi sensori adalah suatu disiplin ilmu yang menganalisa dan mengukur respon masyarakat terhadap komposisi dari makanan dan minuman, seperti penampilan, bau, tekstur, suhu, dan rasa (Food-Fact of Life, 2010). Evaluasi sensori terdiri dari beberapa uji, yaitu pengujian pembedaan (*different test*), pengujian pemilihan/penerimaan

(*preference test/acceptance test*), pengujian skalar, dan pengujian deksripsi. Uji kesukaan termasuk dalam pengujian pemilihan/penerimaan.

Panelis agak terlatih sering dipilih karena tidak memerlukan panelis yang memiliki kepekaan tinggi. Uji ini hanya memerlukan latihan yang tidak intensif dan dapat menggunakan panelis mahasiswa. Sebagaimana pernyataan Soekarto (1985), bahwa panelis agak terlatih adalah sekelompok mahasiswa atau staf peneliti (15 sampai 25 orang) yang mengetahui sifat-sifat sensorik dari contoh yang dinilai melalui penjelasan atau latihan sekadarnya (Susiwi, 2009).

Panelis akan mengemukakan tanggapan pribadi terhadap sampel, apakah panelis suka atau tidak dan memberikan tingkat kesukaannya. Tingkat kesukaan ini disebut skala hedonik. Skala hedonik ini lalu ditransformasikan ke dalam skala numerik dengan angka menaik sesuai tingkat kesukaan. Data numerik ini yang selanjutnya dilakukan analisis statistik (Susiwi, 2009).



BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi

Lokasi penelitian adalah di Laboratorium Farmasetika dan Teknologi Farmasetika, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia, Depok.

3.2 Alat

Timbangan analitik, timbangan gram (O'Haus), homogenizer (Ultra-turrax), magnetic stirer dan stirer (Ika), pH meter (Eutech Instrument pH 510), viskometer Brookfield (Brookfield, USA), piknometer, mikroskop polarisasi (Olympus BH2), kamera digital, alat sentrifugator (Kubota 15000), spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu 1800), oven (Mettler), lemari pendingin (Toshiba), *stopwatch*, dan alat-alat gelas.

3.3 Bahan

Bahan-bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini meliputi minyak biji jinten hitam (*Nigella sativa* Linn. *fixed oil*) (PT Prima Agritech Nusantara), tween 80 (Kao, diperoleh dari Brataco Chemical), span 80 (Kao, diperoleh dari Brataco Chemical), xanthan gum (VersaGumTM 80, Cina), sorbitol 70% (Cargill, Cina), protein kedelai (diperoleh dari Setia Guna Bogor, Indonesia), sodium klorida (Merck), sodium siklamat (diperoleh dari Brataco Chemical, Indonesia), perasa jeruk (Koepoe, Indonesia), aquademineralisata (diperoleh dari Brataco Chemical). Pereaksi kimia yang digunakan antara lain toluene (Mallincroft) dan DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) (Wako, Jepang). *d-alpha tocopherol* 1300 UI (Copherol®F 1300C, PT. BASF) sebagai blanko positif antioksidan dan sediaan komersial minyak biji jinten hitam dalam kapsul lunak (Indonesia).

3.4 Cara Kerja

3.4.1 Perhitungan HLB Minyak Biji Jinten Hitam

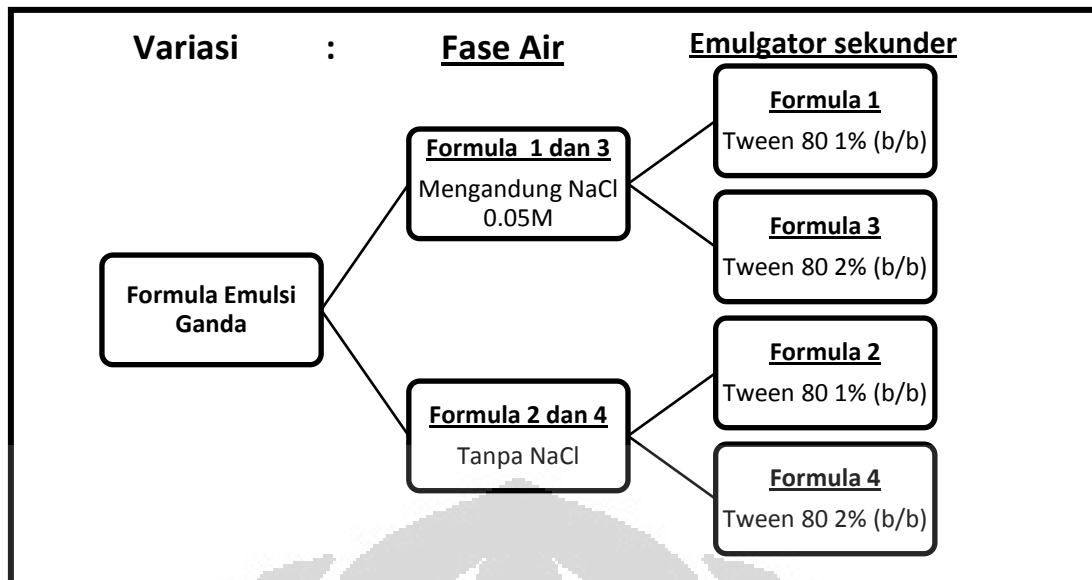
Perhitungan HLB dilakukan berdasarkan analisis kromatografi gas asam lemak yang terkandung dalam minyak biji jinten hitam. Asam lemak ini kemudian ditentukan jumlah gugus hidrofilik dan hidrofobiknya. Selanjutnya HLB dihitung sesuai persentase kandungan asam lemak dalam minyak. HLB minyak biji jinten hitam yang digunakan berkisar pada nilai 17,5. Cara perhitungan HLB minyak biji jinten hitam telah terlampir pada Lampiran 30.

3.4.2 Formulasi Emulsi Ganda tipe W/O/W

Terdapat 4 formula emulsi ganda minyak biji jinten hitam dengan variasi keberadaan NaCl dan konsentrasi emulgator sekunder (tween 80).

Tabel 3.1. Formula emulsi ganda

Komposisi	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4
	% (b/b)	% (b/b)	% (b/b)	%(b/b)
Minyak biji jinten hitam	22,5	22,5	22,5	22,5
Span 80	3,9	3,9	3,9	3,9
Tween 80 (internal)	0,6	0,6	0,6	0,6
Sorbitol 70%	0,39	0,39	0,39	0,39
Protein kedelai	1,8	1,8	1,8	1,8
Xanthan gum	0,4	0,4	0,4	0,4
Sodium siklamat	0,218	0,243	0,215	0,240
Perasa jeruk	0,073	0,145	0,072	0,144
Tween 80 (eksternal)	1	1	2	2
Larutan NaCl 0,05M internal	2,61	-	2,61	-
Larutan NaCl 0,05M eksternal	66,509	-	65,513	-
Aquademineralisata internal	-	2,61	-	65,416
Aquademineralisata eksternal	-	66,412	-	2,61



Gambar 3.1. Skema pembagian variasi formula emulsi ganda

3.4.3 Cara Pembuatan

Skema pembuatan emulsi ganda minyak biji jinten hitam telah terlampir pada Lampiran 1.

3.4.3.1 Pembuatan Fase Air

- a. Mengandung NaCl 0,05M (Formulasi 1 dan 3)
 - i. Melarutkan NaCl dalam aquademineralisata sehingga menghasilkan larutan NaCl 0,05M.
 - ii. Perasa jeruk dan sodium siklamat ditambahkan dalam larutan NaCl 0,05M kemudian diaduk hingga homogen.
 - iii. Larutan ini yang digunakan sebagai fase air dalam formula 1 dan 3.
- b. Tanpa NaCl (Formulasi 2 dan 4)
 - i. Perasa jeruk dan sodium siklamat ditambahkan dalam aquademineralisata dan diaduk hingga homogen.
 - ii. Larutan ini yang digunakan sebagai fase air dalam formula 2 dan 4.

3.4.3.2 Tahap I (Pembuatan emulsi primer tipe W/O)

- a. Tween 80, dan sorbitol dilarutkan dalam fase air tipe a (mengandung NaCl) maupun fase air tipe b (tanpa NaCl).
- b. Span 80 ditambahkan dalam minyak biji jinten hitam dan diaduk hingga homogen.

- c. Larutan tween 80, sorbitol, perasa jeruk, NaCl (tanpa NaCl) ditambahkan sedikit demi sedikit ke dalam fase minyak (minyak biji jinten hitam dan span 80), diaduk dengan homogenizer (3400 rpm) selama 30 menit.

3.4.3.3 Tahap II (Emulsi ganda tipe W/O/W)

- a. Fase air yang akan digunakan dalam fase cair eksternal dibagi menjadi tiga bagian (2:1:1).
- b. Emulgator sekunder (tween 80), dilarutkan dalam fase air pertama (2 bagian) tipe a (mengandung NaCl) maupun fase air tipe b (tanpa NaCl) hingga homogen.
- c. Xanthan gum dikembangkan dalam fase air kedua (1 bagian) dan diaduk hingga terbentuk massa gel yang homogen.
- d. Protein kedelai dilarutkan dalam fase air ketiga (1 bagian) dan diaduk hingga homogen. Larutan protein kedelai ini kemudian ditambahkan dalam massa gel xanthan gum sedikit demi sedikit dengan terus diaduk sampai homogen.
- e. Sebanyak 30% emulsi primer (W/O) yang telah ditimbang. Selanjutnya sedikit demi sedikit ditambahkan pada fase cair eksternal yang berupa campuran tween 80 dan fase air sambil diaduk menggunakan homogenizer (600 rpm) hingga homogen.
- f. Emulsi lalu ditambahkan campuran xanthan gum dan protein kedelai sedikit demi sedikit kemudian diaduk homogen.

3.5 Evaluasi

Evaluasi untuk sediaan emulsi ganda antara lain:

3.5.1 Organoleptis

Sediaan diamati dari segi penampilan, rasa, dan aroma. Kemudian secara berkala dilakukan pengulangan pengamatan.

3.5.2 Ukuran Diameter Globul Rata-Rata

Diameter globul rata-rata diukur dengan menggunakan mikroskop polarisasi yang dilengkapi dengan lensa okuler dan mikrometer yang telah

dikalibrasi. Emulsi ganda diletakkan pada kaca objek dan ditutup dengan gelas penutup. Kemudian diamati dengan menggunakan mikroskop pada pembesaran 200 kali. Gambar yang diamati difoto dan diukur diameter globulnya.

3.5.3 Uji Homogenitas, pengamatan dilakukan secara visual.

3.5.4 Uji Viskositas dan Sifat Alir

Uji viskositas dilakukan dengan menggunakan viskometer Brookfield. Sediaan disimpan dalam wadah, lalu spindel diturunkan ke dalam sediaan hingga batas yang ditentukan, kecepatan diatur mulai dari 5, 10, 20, 50, dan 100 rpm, lalu dilanjutkan dari kecepatan sebaliknya 100, 50, 20, 10, dan 5 rpm. Dari masing-masing pengukuran dibaca skalanya ketika jarum merah yang bergerak telah stabil. Nilai viskositasnya digunakan untuk menghitung tekanan geser (dyne/cm^2). Tekanan geser dan kecepatan geser (rpm) dituangkan dalam pola reologi. Uji viskositas ini dilakukan pada minggu ke-0 dan ke-8.

3.5.5 Uji pH (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Uji pH dilakukan dengan menggunakan pH meter. Elektroda dikalibrasi dengan dapar standar pH 4 dan pH 7. Kemudian elektroda dicelupkan ke dalam sediaan emulsi. pH yang muncul di layar dan stabil kemudin dicatat. Pengukuran dilakukan pada suhu ruang

3.5.6 Penentuan Bobot Jenis (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995)

Bobot jenis diukur dengan menggunakan piknometer. Pada suhu ruangan, piknometer yang bersih dan kering ditimbang (A g). Kemudian diisi dengan air dan ditimbang kembali (A1 g). Air dikeluarkan dari piknometer dan piknometer dibersihkan. Sediaan lalu diisikan ke dalam piknometer dan ditimbang (A2 g). Bobot jenis sediaan diukur dengan perhitungan sebagai berikut :

$$\text{Bobot Jenis} = \frac{A2-A}{A1-A} \times 1\text{g/ml} \quad (3.1)$$

Berat jenis air perlu diperhitungkan dengan suhu ruangan saat waktu pengukuran.

3.5.7 Uji Stabilitas

3.5.7.1 *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. Selanjutnya dilakukan pengamatan yang dibandingkan sediaan sebelumnya serta keberadaan kristal jika terbentuk.

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

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

3.5.7.3 Suhu Kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$)

Sediaan disimpan pada suhu kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$) selama delapan minggu, kemudian dilakukan pengamatan organoleptis (perubahan warna, bau, homogenitas) dan pengukuran pH untuk setiap dua minggu.

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

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

3.5.7.5 Uji Mekanik (sentrifugasi)

Sediaan emulsi ganda dimasukkan ke dalam tabung sentrifugasi, kemudian dilakukan sentrifugasi pada kecepatan 3800 rpm selama 5 jam. Hasil sentrifugasi dapat diamati dengan adanya pemisahan atau tidak.

3.5.8 Uji Volume Kriming

Emulsi ditempatkan pada suatu tabung kemudian diamati setiap empat minggu sekali selama delapan minggu apabila terlihat perubahan tinggi akibat kriming atau terjadi pengendapan. Emulsi ditempatkan pada suhu ruangan ($27-30^{\circ}\text{C}$) dan tertutup rapat, terlindung dari cahaya.

3.5.9 Uji Aktivitas Antioksidan

Prinsip kerja metode peredaman DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah berdasarkan adanya senyawa antioksidan yang akan mendonorkan hidrogen (H) pada DPPH sehingga mengubah radikal bebas DPPH yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning pucat. Kemudian dengan spektrofotometer UV-Vis diukur serapannya pada panjang gelombang maksimumnya. Pengujian dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif.

3.5.9.1 Pembuatan Larutan DPPH 40 ppm

Timbang 10,0 mg DPPH kemudian masukkan ke dalam labu ukur 50,0 ml secara kuantitatif, larutkan dengan sedikit toluen. Lalu cukupkan volumenya hingga 50,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi larutan 200 ppm. Dari larutan induk dipipet sebanyak 20,0 ml kemudian dimasukkan ke dalam labu 100,0 ml. Volume dicukupkan dengan toluen sehingga diperoleh konsentrasi larutan 40 ppm.

3.5.9.2 Penyiapan Sampel Minyak Biji Jinten Hitam

Minyak biji jinten hitam ditimbang sebanyak kurang lebih 500,0 mg kemudian masukkan ke dalam labu ukur 50,0 ml secara kuantitatif. Volume dicukupkan dengan toluen hingga 50,0 ml sehingga diperoleh konsentrasi larutan 10.000 ppm sebagai larutan induk. Dari larutan induk ini dilakukan pengenceran sebanyak 5 konsentrasi dengan bantuan pipet volume dan labu ukur, yaitu pada konsentrasi 200, 400, 800, 1000, dan 5000 ppm.

3.5.9.3 Penyiapan Sampel Emulsi Ganda

Sampel emulsi ganda sebanyak kurang lebih 1,50 gram dimasukkan dalam tabung sentrifugasi kaca dan ditambahkan dengan pelarut toluen sebanyak 10,0 ml. Selanjutnya sampel disentrifugasi pada kecepatan 3000 rpm selama 30 menit. Toluena yang ada di bagian atas tabung sentrifugasi dipisahkan dan dikumpulkan. Proses pemisahan dengan cara sentrifugasi ini dilakukan dalam 5 siklus (5 kali sentrifugasi dan 5 kali penambahan toluen 10 ml). Toluena hasil pemisahan dari emulsi ganda dimasukkan dalam labu 100,0 ml dan dicukupkan volumenya dengan toluen. Larutan ini kemudian menjadi larutan induk untuk 4 konsentrasi

pengenceran, yaitu pada konsentrasi 4500, 7500, 9000, dan 15000 ppm menggunakan pipet volume dan labu ukur.

3.5.9.4 Penyiapan Sampel *d-alpha tocopherol* 1300 UI

Sampel *d-alpha tocopherol* 1300 UI ditimbang sebanyak kurang lebih 500,0 mg dan dilarutkan dengan toluen dalam labu 50,0 ml secara kuantitatif sehingga menghasilkan larutan induk 10.000 ppm. Larutan induk ini kemudian diencerkan dengan bantuan pipet volume dan labu ukur menjadi 5 konsentrasi yang lebih kecil, yaitu 5, 10, 20,30, dan 40 ppm.

3.5.9.5 Penyiapan Sampel Sediaan Komersial Kapsul Lunak di Pasar

Sampel sediaan komersial dalam kapsul lunak dikeluarkan isinya dan ditimbang sebanyak kurang lebih 500,0 mg. Selanjutnya sampel ini dilarutkan dalam labu 50,0 ml dengan toluen sehingga menjadi larutan induk 10.000 ppm. Dari larutan induk ini kemudian dilakukan pengenceran untuk memperoleh 4 konsentrasi, yaitu 300, 400, 1000, dan 5000 ppm menggunakan bantuan pipet volume dan labu ukur.

3.5.9.6 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 jika positif memiliki aktivitas antioksidan.

3.5.9.7 Uji Peredaman Radikal Bebas dengan Larutan DPPH (Uji Kuantitatif)

Larutan sampel sebanyak 1,0 ml ditambahkan larutan DPPH 40 ppm sebanyak 4,0 ml. Kemudian campuran larutan diinkubasi dalam tabung tertutup rapat terlindung dari cahaya pada suhu ruang/*ambience temperature* (27-30°C) selama 30 menit. Campuran larutan sampel dan DPPH harus dipastikan dalam keadaan homogen agar reaksi berjalan sempurna. Hasil inkubasi kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm (Ramadan, Kroh, dan Morsel, 2003).

Serapan larutan uji diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 520 nm. Persentase inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{inhibisi} = \left\{ \frac{\text{Serapan kontrol} - \text{serapan sampel}}{\text{serapan kontrol}} \right\} = x 100\% \quad (3.2)$$

Aktivitas peredaman radikal bebas dengan metode DPPH ditunjukkan dengan IC_{50} yaitu konsentrasi sampel yang dapat meredam radikal DPPH sebesar 50%.

Pengukuran aktivitas antioksidan pada emulsi ganda dilakukan terhadap dua kelompok emulsi ganda, yaitu :

- a. Kelompok sampel emulsi ganda pertama, yaitu kelompok emulsi ganda dengan variasi emulgator eksternal dan penambahan NaCl yang langsung dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan tanpa mendapat perlakuan apapun.
- b. Kelompok sampel emulsi ganda kedua, yaitu kelompok emulsi ganda dengan variasi emulgator eksternal dan penambahan NaCl yang dilakukan pengukuran aktivitas antioksidan setelah penyimpanan selama delapan minggu pada suhu ruang (27-30⁰C).

3.5.10 Uji Kesukaan (*Hedonic Test*) (Food-Fact of Life, 2010)

Uji akan dilakukan ke 20 orang panelis. Panelis diinstruksikan untuk memberikan respon terhadap sampel yang disajikan dengan penilaian sangat suka, suka, agak suka, netral, agak tidak suka, tidak suka, dan sangat tidak suka. Respon tersebut diberikan untuk tiga parameter terhadap sampel, yaitu rasa, aroma, dan penampilan. Respon kemudian diubah menjadi skala numerik. Data yang diperoleh kemudian dilakukan analisis data statistik menggunakan program SPSS.

Langkah yang dilakukan antara lain:

- a. Pemberian kode sampel setiap perlakuan secara acak untuk menghindari kesubjektifitasan.
- b. Pembuatan formulir instruksi kerja (kuesioner) yang berisi petunjuk mencakup informasi, instruksi, dan respon panelis.
- c. Pelaksanaan uji
- d. Pengolahan data

BAB 4

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Tinjauan Umum

Pada penelitian dibuat empat formula emulsi ganda minyak biji jinten hitam tipe WOW dengan variasi keberadaan NaCl serta variasi jumlah penambahan emulgator sekunder, yaitu tween 80. Terhadap sediaan diamati kestabilan fisiknya akibat pengaruh keberadaan NaCl dan jumlah penambahan emulgator sekunder, serta aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam setelah berada dalam sediaan. Formula merupakan sediaan nutrasetika oral sehingga perlu dilakukan uji kesukaan untuk mengetahui penilaian kesukaan panelis terhadap setiap sediaan yang dibuat mengenai parameter penampilan, aroma, dan rasa.

Pembuatan emulsi ganda diawali dengan tahap pembuatan emulsi primer tipe W/O (*water in oil*). Emulsi primer ini dibuat dengan mengemulsikan campuran minyak biji jinten hitam dan span 80 dengan aquademineralisata atau larutan NaCl 0,05M yang telah ditambahkan pemanis dan perasa, sorbitol, serta tween 80. Emulsi dihomogenkan dengan homogenizer ultra-turrax kecepatan tinggi (3400 rpm) selama 30 menit agar diperoleh ukuran globul yang kecil. Energi yang besar terbukti mampu memperkecil ukuran globul suatu emulsi. Semakin kecil ukuran globul, maka emulsi primer akan semakin stabil. Jika emulsi primer stabil, maka juga dapat meningkatkan kestabilan emulsi ganda. Selain itu, sorbitol yang ditambahkan pada fase air emulsi W/O bertujuan untuk mengurangi diameter rata-rata droplet air. Hal ini dikarenakan sorbitol mampu mengurangi energi tarik menarik antar droplet air dengan menurunkan tegangan permukaan antara fase air dan minyak (Jiahong,2008). Span 80 merupakan surfaktan hidrofobik sedangkan tween 80 adalah surfaktan hidrofilik. Perbandingan jumlah span 80 serta tween 80 (13:2) yang ditambahkan dalam formulasi emulsi primer ini merupakan perbandingan optimal yang diperoleh dari hasil optimasi formula emulsi W/O sebelumnya.

Emulsi primer W/O sebanyak 30% dari seluruh total emulsi W/O/W yang akan dibuat diemulsikan ke dalam fase cair eksternal yang ditambahkan tween 80 secara bervariasi. Tween 80 memiliki harga HLB mendekati harga HLB minyak

biji jinten hitam sehingga diharapkan dapat terbentuk emulsi yang stabil. Emulsi diaduk menggunakan homogenizer ultra-turrax kecepatan rendah (600 rpm) agar tidak memecah droplet air dalam emulsi primer W/O akibat energi tinggi. Apabila telah homogen, emulsi ditambahkan stabilisator, yaitu protein kedelai dan agen peningkat viskositas, yaitu xanthan gum. Peran protein dalam emulsi ganda adalah untuk meningkatkan stabilitas sterik globul dengan membentuk salut tebal berlapis pada globul. Sedangkan xanthan gum sebagai biopolimer hidrofilik yang mampu meningkatkan stabilitas emulsi ganda dengan mencegah pelepasan tak terkendali dari bahan yang terperap. Protein kedelai dan xanthan gum ini juga dapat membentuk kompleks elektrostatis yang meningkatkan kemampuan makromolekul amfifil menahan antar muka minyak dan air sehingga dapat mengurangi ukuran droplet, mengurangi distribusi ukuran droplet, dan enkapsulasi droplet dalam yang lebih baik (Lutz dan Aserin, 2008).

Setelah tercampur homogen, emulsi ganda kemudian disimpan dalam wadah gelas yang tidak tembus cahaya serta tertutup rapat untuk mencegah kontaminasi serta penguraian aktivitas antioksidan karena cahaya.

4.2 Evaluasi

4.2.1 Evaluasi Awal Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam

Hasil evaluasi awal emulsi ganda minyak biji jinten hitam dapat dilihat pada Lampiran 18. Masing-masing formula dengan variasi keberadaan NaCl 0,05M dan penambahan emulgator sekunder tween 80 memiliki karakter sebagai berikut.

- a. Emulsi Ganda dengan larutan NaCl 0,05M dan emulgator sekunder (tween 80) 1%

Formula 1 memiliki warna coklat muda (*pantone® color bridge CMYK 1215 PC*), sedikit berbau khas minyak biji jinten hitam, homogen, pH 5,20, ukuran diameter globul rata-rata eksternal 8,13 μm dan internal 2,77 μm , sedangkan viskositas pada spindle 2 dengan kecepatan 5 rpm sebesar 3920 cps.

- b. Emulsi Ganda tanpa penambahan NaCl 0,05M dengan emulgator sekunder (tween 80) 1%

Formula 2 memiliki warna cokelat muda (*pantone® color bridge CMYK 1225 PC*), sedikit berbau khas minyak biji jinten hitam, homogen, pH 5,98, ukuran diameter globul rata-rata eksternal 7,81 μm dan internal 2,49 μm , sedangkan viskositas pada spindel 2 dengan kecepatan 5 rpm sebesar 3920 cps.

- c. Emulsi Ganda dengan larutan NaCl 0,05M dan emulgator sekunder (tween 80) 2%

Formula 3 memiliki warna cokelat muda (*pantone® color bridge CMYK 1215 PC*), sedikit berbau khas minyak biji jinten hitam, homogen, pH 5,52, ukuran diameter globul rata-rata eksternal 5,29 μm dan internal 2,13 μm , sedangkan viskositas pada spindel 2 dengan kecepatan 5 rpm sebesar 3920 cps.

- d. Emulsi Ganda tanpa penambahan NaCl 0,05M dengan emulgator sekunder (tween 80) 2%

Formula 1 memiliki warna cokelat muda (*pantone® color bridge CMYK 1215 PC*), sedikit berbau khas minyak biji jinten hitam, homogen, pH 5,77, ukuran diameter globul rata-rata eksternal 7,66 μm dan internal 2,37 μm , sedangkan viskositas pada spindel 2 dengan kecepatan 5 rpm sebesar 4080 cps.

Evaluasi tahap awal ini nantinya digunakan sebagai perbandingan terhadap evaluasi keempat formula setelah penyimpanan dalam waktu tertentu dengan berbagai kondisi.

4.2.1.1 Pengamatan Organoleptis dan Homogenitas

Pengamatan organoleptis keempat formula emulsi ganda minyak biji jinten hitam menunjukkan bahwa emulsi ganda berwarna cokelat muda. Seharusnya warna yang diharapkan adalah warna jingga (*orange*) sesuai dengan perasa yang ditambahkan, yaitu rasa jeruk. Hal ini disebabkan oleh warna minyak biji jinten hitam sendiri yang berwarna cokelat tua sangat dominan mempengaruhi warna sediaan. Selain itu juga disebabkan oleh penambahan pasta *orange* yang masih kurang cukup untuk menutupi warna minyak biji jinten hitam. Keempat formula

yang dibuat tidak memiliki perbedaan warna yang signifikan, hanya saja formula 2 dan 4 memiliki warna coklat muda yang sedikit lebih gelap karena pasta *orange* yang ditambahkan sedikit lebih banyak daripada formula 1 dan 3. Bagaimanapun juga aroma khas minyak biji jinten hitam dalam sediaan masih sedikit tercium karena minyak biji jinten hitam memiliki aroma yang sangat kuat. Penyebab lainnya adalah karena tidak ditambahkan *corrigen odoris* (penutup bau) dalam formula untuk menutupi aroma.

4.2.1.2 Pengukuran pH

Secara garis besar seluruh formula emulsi ganda cenderung bersifat asam lemah (pH 5,20-5,98). Akan tetapi, nilai keasaman sediaan masih bisa diterima untuk sediaan oral karena masih mendekati pH netral (7). Keberadaan NaCl 0,05M dalam sediaan cukup mempengaruhi pH dari emulsi menjadi makin asam (pH 5,20 dan 5,52) dibandingkan dengan sediaan tanpa penambahan NaCl (pH 5,98 dan 5,77). Minyak dapat mengalami penguraian lemak atau trigliserida menjadi asam-asam lemak bebas dan gliserol akibat hidrolisa. Reaksi hidrolisa merupakan reaksi setimbang. Adanya NaCl mampu mengikat gliserol sehingga reaksi bergeser ke kanan dan konversi asam lemak bebas meningkat. Asam lemak bebas tergolong dalam asam lemah. Konstanta keasaman dan derajat ionisasi masing-masing asam lemak akan mempengaruhi pH sediaan (Mahargiani, 2002)

Konsentrasi tween 80 yang ditambahkan kurang berpengaruh terhadap pH sediaan karena pH tween 80 berkisar pada pH sediaan (pH 6) yang dapat diamati dari pH formula 2 dengan tween 80 1% (pH 5,98) dan formula 4 dengan tween 80 2% (pH 5,77). Namun, ketika sediaan terlampaui asam karena penambahan NaCl, konsentrasi tween 80 yang lebih besar dapat menjaga agar sediaan tidak terlalu asam dengan sedikit menaikkan pH menjadi lebih basa. Hal ini dapat diamati pada pH sediaan yang mengandung NaCl 0,05 M, yaitu formula 3 dengan tween 80 2% (pH 5,52) akan lebih basa dibandingkan formula 1 dengan tween 80 1% (pH 5,2).

4.2.1.3 Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir

Setelah dilakukan pengukuran viskositas sediaan dengan kecepatan geser yang beragam diperoleh reogram pada Lampiran 6, 7, 8, dan 9 yang menunjukkan

sifat aliran pseudoplastik tiksotropik. Sifat aliran ini akan dipengaruhi oleh waktu karena akan terjadi perubahan struktur yang tidak kembali ke keadaan semula dengan segera apabila tekanan dikurangi (Martin, Swarbrick, dan Cammarata, 1993). Sifat aliran ini disebabkan adanya polimer xanthan gum dalam sediaan.

Sifat aliran emulsi ganda umumnya berupa pseudoplastik dimana viskositas akan berkurang seiring dengan naiknya kecepatan geser (Jiao dan Burgess, 2008). Sifat aliran ini tidak memiliki *yield value* (gaya tertentu agar apabila terlampaui cairan akan mengalir) dan harga viskositas yang absolut.

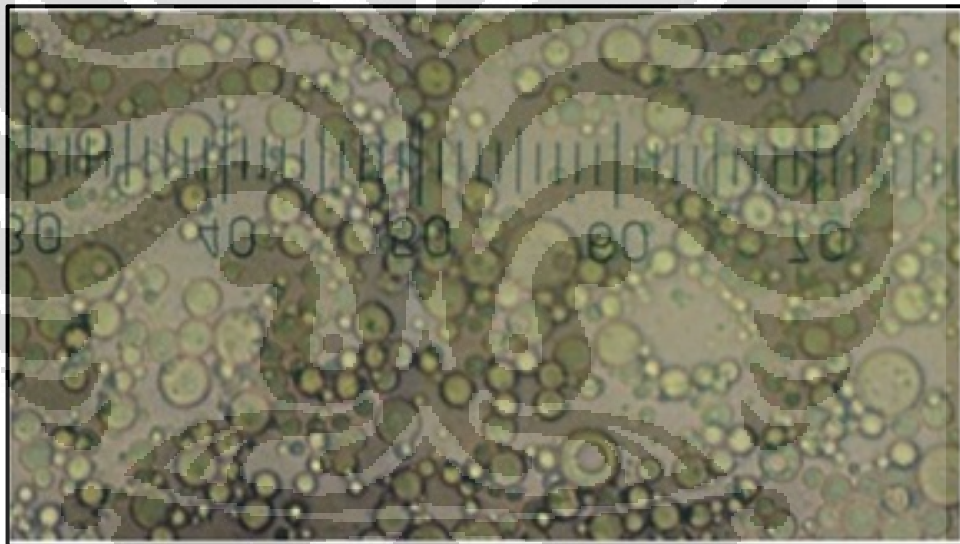
Viskositas keempat formula pada spindel 2 dengan kecepatan 5 rpm menunjukkan bahwa viskositas formula 1, formula 2, formula 3, dan formula 4 berturut-turut 3920 cps, 3920 cps, 3920 cps, dan 4080 cps. Semakin besar konsentrasi tween 80 akan semakin meningkatkan viskositas sediaan karena semakin tinggi jumlah emulgator akan semakin menurunkan ukuran diameter globul. Diameter globul yang kecil akan meningkatkan luas permukaan, dan meningkatkan tahanan emulsi untuk mengalir kemudian meningkatkan viskositas (Koocheki dan Kadkhodae, 2011). Pembahasan mengenai hubungan ukuran globul dan jumlah emulgator akan diuraikan pada pembahasan selanjutnya. Hal tersebut dapat diamati secara nyata dari viskositas formula 2 (3920 cps) yang mengandung tween 80 1% lebih rendah dibandingkan viskositas formula 4 (4080 cps) yang mengandung tween 80 2%.

4.2.1.4 Pengukuran Diameter Globul Rata-Rata

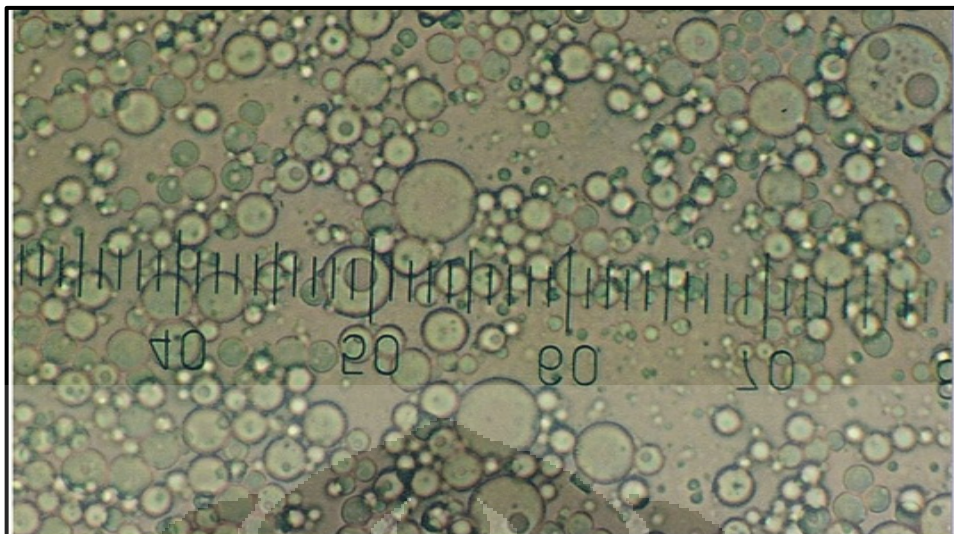
Pengukuran diameter globul rata-rata emulsi ganda menggunakan mikroskop polarisasi agar perbedaan antara globul eksternal dan internal terlihat lebih jelas. Hasil perhitungan pengukuran diameter globul rata-rata dapat dilihat pada Lampiran 3. Globul internal berada pada rentang 2,13 – 2,77 μm dan tidak ada perbedaan yang berarti untuk setiap formula meskipun terdapat variabel keberadaan NaCl. Sedangkan untuk globul eksternal terlihat bahwa semakin besar jumlah tween 80 dalam sediaan, maka globul yang dihasilkan akan semakin kecil. Hal tersebut yang membuat stabilitas suatu emulsi meningkat. Secara berurutan ukuran diameter rata-rata globul eksternal dari yang terkecil ke yang terbesar

adalah formula 3 (tween 80 2%), formula 4 (tween 80 2%), formula 2 (tween 80 1%), dan formula 1 (tween 80 1%).

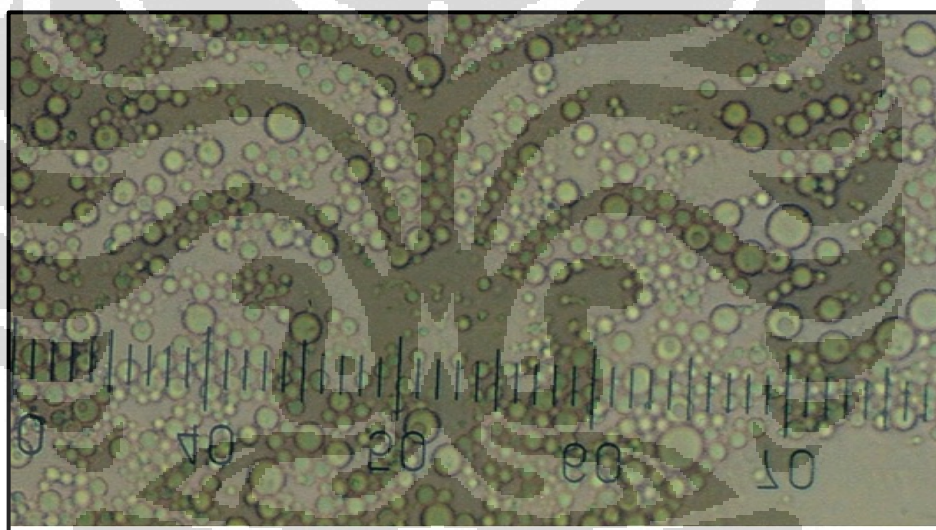
Ukuran diameter globul rata-rata emulsi ganda umumnya sedikit lebih besar berkisar antara 15-50 μm dengan terdiri dari 50-100 droplet air pada setiap globul minyak dalam emulsi, sedangkan yang lainnya dapat lebih kecil berisar 2-5 μm yang akan terdiri dari satu atau beberapa droplet air untuk setiap globul minyak dalam emulsi (Garti dan Bisperink, 1998). Oleh karena itu, globul eksternal emulsi ganda formula-formula ini sedikit lebih besar dibanding globul emulsi ganda pada umumnya. Pembuatan emulsi ganda secara spontan kurang dapat menjerap droplet air ke dalam globul minyak dalam jumlah besar sehingga pada pengamatan foto hasil mikroskopik emulsi ganda terlihat bahwa setiap globul minyak umumnya mengandung 1-2 droplet air saja.



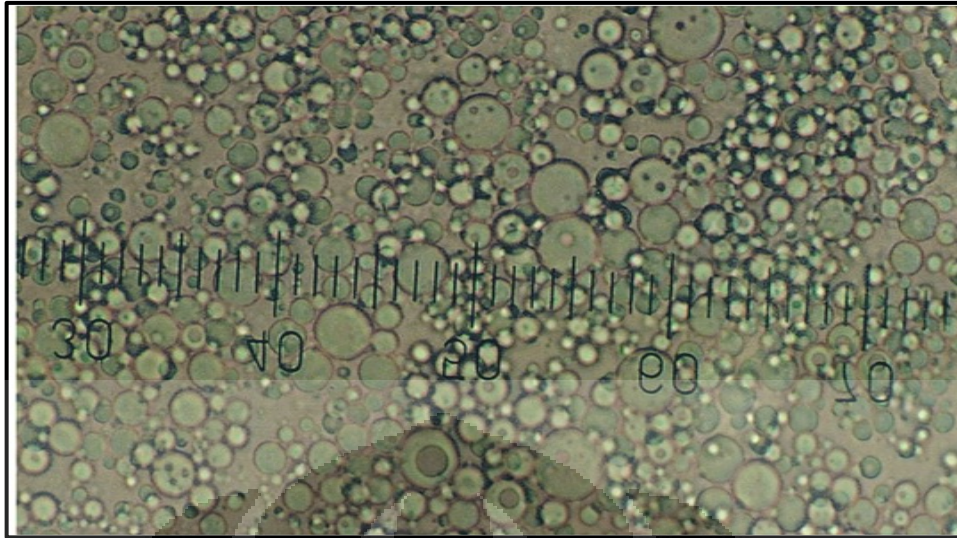
Gambar 4.1. Foto globul formula 1 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-0 pada suhu kamar (27-30°C)



Gambar 4.2. Foto globul formula 2 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-0 pada suhu kamar (27-30°C)



Gambar 4.3. Foto globul formula 3 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-0 pada suhu kamar (27-30°C)



Gambar 4.4. Foto globul formula 4 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-0 pada suhu kamar (27-30°C)

4.2.2 Penentuan Bobot Jenis Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam

Setelah dilakukan pengukuran bobot jenis emulsi ganda menggunakan piknometer diketahui bahwa penambahan NaCl dalam sediaan menyebabkan bobot jenis menjadi semakin meningkat. Peningkatan konsentrasi tween 80 dalam sediaan akan meningkatkan bobot jenis sediaan pula. Baik larutan NaCl maupun tween 80, keduanya memiliki kecenderungan berat jenis yang lebih besar dibandingkan air (>1) (Rowey, Sheskey, dan Owen, 2006). Oleh karena itu, penambahan keduanya dapat meningkatkan berat jenis suatu sediaan yang juga berbanding lurus dengan konsentrasinya dalam sediaan. Hal tersebut dapat terlihat dari berat jenis sediaan secara berturut-turut formula 2 (tween 80 1%), formula 4 (tween 80 2%), formula 1 (NaCl 0,05M, tween 80 1%), dan formula 3 (NaCl 0,05 M, tween 80 2%) adalah 0,9765; 0,9886; 0,9929; dan 0,9956 gram/ml.

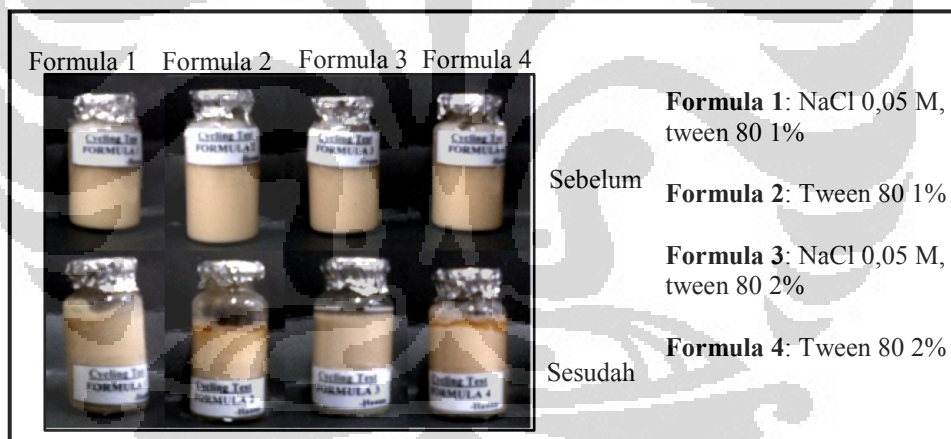
4.2.3 Evaluasi Stabilitas Fisik Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam

4.2.3.1 *Cycling Test*

Tujuan dari dilakukannya *cycling test* adalah untuk mengetahui adanya kristal atau tidak yang dapat terbentuk akibat siklus dari *cycling test*. Dalam larutan, surfaktan dapat membentuk berbagai bentuk struktur mikro salah satunya fase kristal cair (*liquid crystalline phases*) yang dapat diakibatkan oleh agregasi geometri akibat pengaruh eksternal seperti suhu, tekanan, dan aliran (Manero,

Bautista, dan Puig, 2010). Namun, pada keempat formula ini tidak ditemukan kristal.

Setelah *cycling test*, seluruh formula mengalami pemisahan fase. Formula 2 dan 4 adalah formula dengan pemisahan fase terparah, sedangkan formula 1 mengalami pemisahan fase sedang. Formula 3 memiliki kestabilan terhadap *cycling test* lebih baik daripada formula lainnya karena mengalami pemisahan fase yang tidak terlalu parah dibandingkan formula yang lain. Hasil pengamatan dapat dilihat pada Lampiran 24. Hal tersebut menunjukkan bahwa peran NaCl terhadap *cycling test* cukup besar. Peran NaCl adalah mengurangi *Ostwald ripening* dari droplet air dengan menyeimbangkan tekanan Laplace sehingga mampu menjaga stabilitas emulsi. Konsentrasi emulgator (tween 80) juga berpengaruh terhadap hasil *cycling test*. Formula 3 (tween 80 2%) yang sama-sama mengandung NaCl 0,05 M seperti formula 1 (tween 80 1%) memiliki kestabilan yang lebih baik. Hal ini sesuai dengan fungsi emulgator untuk menstabilkan suatu emulsi.



Gambar 4.5. Foto hasil *cycling test* formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam

4.2.3.2 Penyimpanan Suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$), Kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$), dan Suhu Rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$)

a. Pengamatan Organoleptis dan Homogenitas

Hasil dari pengamatan uji stabilitas keempat formula pada berbagai suhu selama delapan minggu dapat dilihat pada Lampiran 21 serta gambar foto pengamatan dapat dilihat di Lampiran 3,4, dan 5. Untuk suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$),

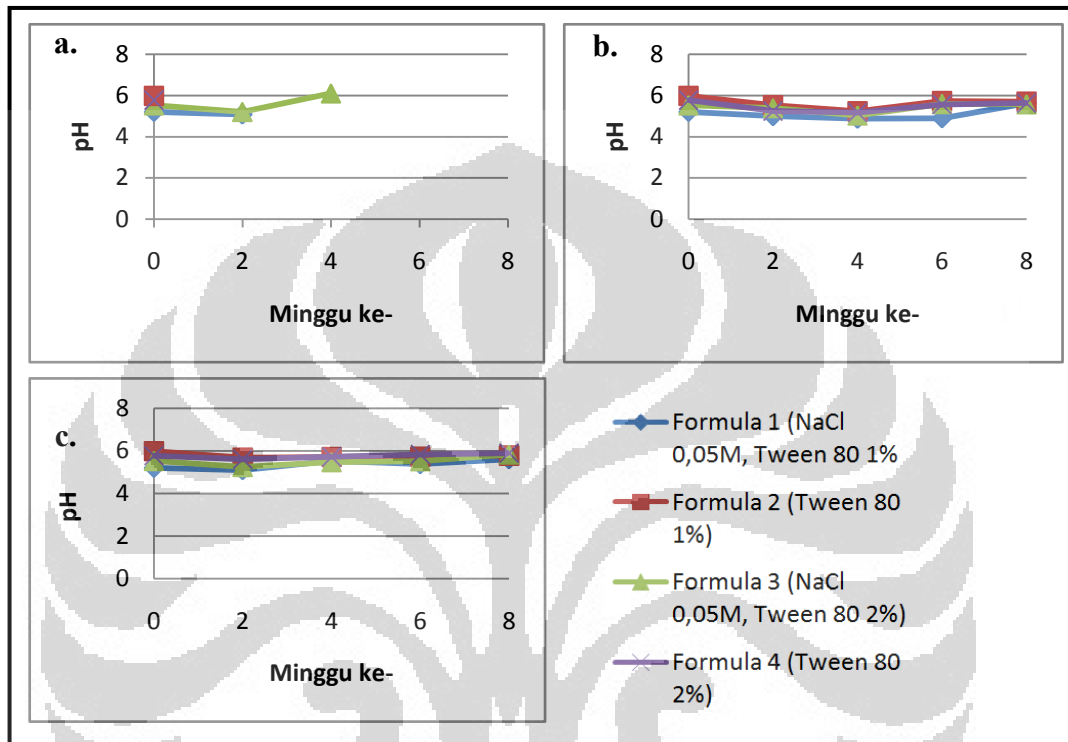
keempat formula tidak mengalami perubahan warna maupun bau dan tetap homogen. Pada suhu kamar ($27-30^{\circ}\text{C}$) emulsi ganda masih cukup stabil, tetapi pada minggu ke-8, formula 2 sudah mengalami perubahan bau menjadi sedikit tengik. Hal tersebut mungkin dikarenakan oksidasi akibat tidak ditambahkan pengawet maupun antioksidan dalam formula. Pengawet dan antioksidan tidak ditambahkan dalam formula agar hasil pengamatan menjadi tidak bias karena pada penelitian ini akan diamati aktivitas antioksidan dari sediaan.

Untuk suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$), formula 2 dan 4 (tanpa NaCl) mengalami pemisahan fase yang lebih cepat dibandingkan dengan formula lain yaitu pada minggu ke-2. Formula 1 mengalami pemisahan fase pada minggu ke-4. Sedangkan formula 3 baru mengalami pemisahan pada minggu ke-6. Hasil dari stabilitas fisik pada suhu panas ini serupa dengan hasil *cycling test* dimana formula tanpa NaCl memiliki stabilitas yang lebih buruk terhadap suhu tinggi. Sedangkan seiring dengan konsentrasi emulgator yang semakin tinggi, juga akan semakin meningkatkan stabilitas sediaan terhadap suhu tinggi. Terbukti dari formula 3 (NaCl 0,05M, tween 80 2%) memiliki stabilitas yang lebih baik daripada formula 1 (NaCl 0,05M, tween 80 1%). NaCl mampu mengurangi *Ostwald ripening* dari droplet air dengan menyeimbangkan tekanan Laplace sehingga mampu menjaga stabilitas emulsi. Sedangkan tween 80 sebagai emulgator melindungi globul minyak agar tetap terjaga sehingga tidak terjadi pemisahan fase. Suhu tinggi juga menyebabkan minyak teroksidasi sehingga menghasilkan bau tengik.

b. Pengukuran pH

Hasil pengukuran pH keempat formula dalam delapan minggu dapat dilihat pada Lampiran 22. Penyimpanan suhu rendah rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan suhu ruang ($27-30^{\circ}\text{C}$) selama 8 minggu tidak memberikan perbedaan pH yang signifikan setiap minggunya setelah dilakukan analisis statistik menggunakan SPSS 19. Hal ini menunjukkan bahwa keempat formula dalam suasana suhu rendah ($4\pm 2^{\circ}\text{C}$) dan dan suhu ruang ($27-30^{\circ}\text{C}$) cukup stabil karena salah satu parameter ketidakstabilan suatu sediaan adalah adanya perubahan pH yang signifikan. Sedangkan pada suhu tinggi ($40\pm 2^{\circ}\text{C}$) tidak dapat dilakukan

pengamatan perubahan pH karena sediaan cepat mengalami pemisahan fase. Apabila telah terjadi pemisahan fase, pengukuran pH sediaan akan menjadi bias karena sediaan sudah tidak terdistribusi secara homogen. Gambar grafik perubahan pH dapat dilihat pada Gambar 4.6.

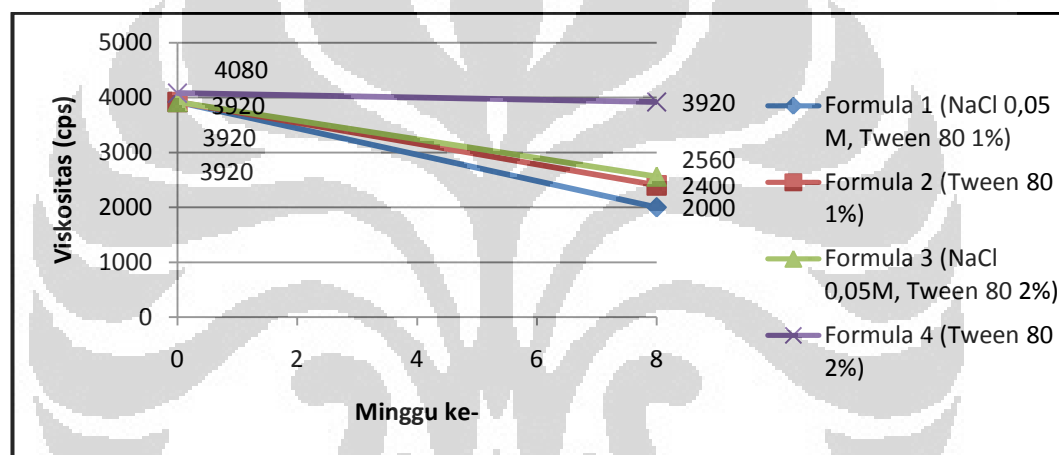


Gambar 4.6. Kurva perubahan pH sediaan pada suhu penyimpanan: (a.) tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$), (b.) kamar ($27-30^\circ\text{C}$), dan (c.) rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

c. Pengukuran Viskositas dan Sifat Alir

Gambar perbandingan reogram formula emulsi ganda minggu ke-0 dan minggu ke-8 dapat dilihat pada Lampiran 6, 7, 8, dan 9. Sifat alir emulsi ganda masih bersifat pseudoplastik tiksotropik. Pengukuran viskositas minggu ke-8 sediaan pada penyimpanan suhu kamar menunjukkan bahwa keempat formula mengalami penurunan sehingga lebih encer dibandingkan dengan minggu ke-0. Hal tersebut dapat diamati dari pengukuran viskositas menggunakan spindel 2 dengan kecepatan 5 rpm formula 1, formula 2, formula 3, dan formula 4 berturut-turut memiliki viskositas 2000 cps, 2400 cps, 2560 cps, serta 3920 cps.

Secara teoritis seiring dengan lamanya penyimpanan, viskositas emulsi akan meningkat. Penurunan viskositas mungkin diakibatkan oleh koalesen dari droplet air fase internal dengan fase kontinu air eksternal (Jiao dan Burgess, 2002). Hal tersebut terbukti dari ukuran droplet internal maupun eksternal pada minggu ke-8 yang semakin kecil dan jumlah globul emulsi ganda yang terbentuk juga berkurang. Globul emulsi ganda yang terbentuk pada minggu ke-0 mencapai 95 globul, sedangkan pada minggu ke-8 hanya ditemukan berkisar 50 globul dalam sampling foto mikroskopik. Berikut adalah gambar grafik perubahan viskositas sediaan emulsi ganda pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 yang dapat diamati pada Gambar 4.7.

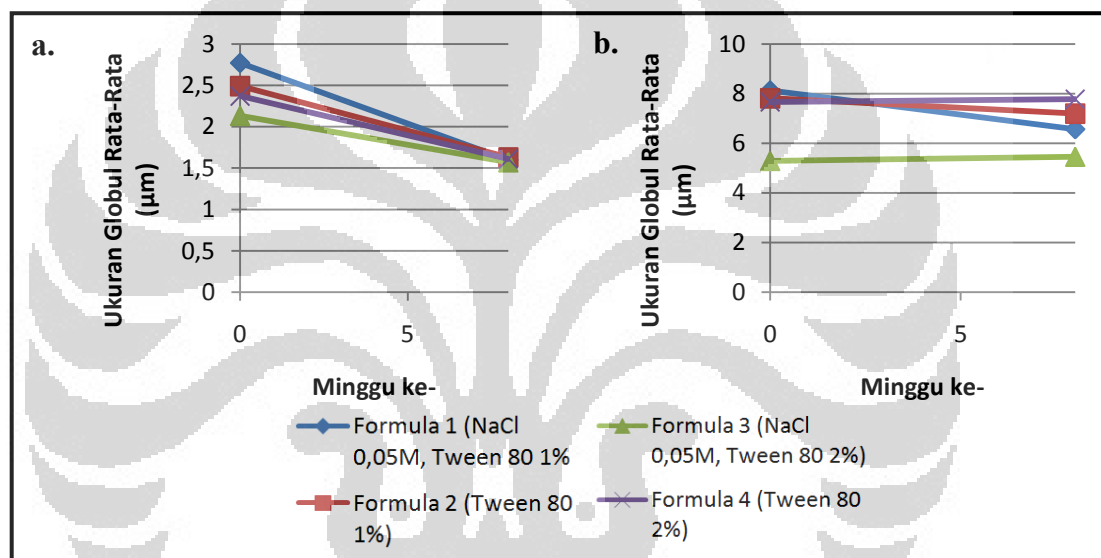


Gambar 4.7. Kurva perubahan viskositas keempat formula sediaan pada kecepatan 5 rpm, minggu ke-0 dan ke-8

d. Pengukuran Diameter Globul Rata-Rata

Perhitungan diameter globul rata-rata eksternal emulsi ganda penyimpanan suhu kamar setelah minggu ke-8 dapat dilihat pada Lampiran 3. Gambar foto globul pada minggu ke-8 dapat dilihat di Lmpiran 10, 11, 12, dan 13. Secara umum terjadi penurunan ukuran globul eksternal dan internal setelah penyimpanan. Rentang awal droplet eksternal 5,29-8,13 μm menjadi 5,46-7,78 μm , sedangkan droplet internal dari 2,13 – 2,77 μm menjadi 1,60 - 1,57 μm . Hal tersebut disebabkan mekanisme koalesen droplet internal ke fase air eksternal yang diikuti dengan penurunan ukuran globul minyak eksternal sehingga menjadi lebih kecil karena volume yang berkurang (Jiahong, 2008). Namun, kombinasi penambahan NaCl dan kadar emulgator yang tinggi terbukti mampu menjaga

kestabilan ukuran globul (formula 3). NaCl berperan untuk menjaga tekanan osmotik fase air internal dan eksternal tetap sama sehingga mencegah koalesen, sedangkan emulgator menjaga agar barrier antar fase tetap kuat sehingga difusi air internal lebih lambat. Emulgator yang tidak cukup kuat justru akan menyebabkan koalesen besar-besaran dengan penurunan ukuran globul yang signifikan (formula 1 dan 2). Selain itu semakin kecilnya ukuran droplet internal akan mempengaruhi kestabilan suatu emulsi ganda. Hal tersebut terbukti dari fenomena formula 3 yang memiliki ukuran droplet internal awal yang lebih kecil dibanding formula lainnya memiliki kestabilan ukuran globul yang lebih baik.



Gambar 4.8. Kurva perubahan diameter globul a. internal dan b. eksternal rata-rata formula sediaan pada penyimpanan suhu kamar minggu ke-0 dan ke-8.

4.2.3.3 Uji Mekanik (Sentrifugasi)

Hasil uji mekanik berupa gambar dan deskripsi yang lebih jelas dapat dilihat pada Lampiran 14 dan 25. Keempat sediaan terjadi pemisahan fase setelah dilakukan uji mekanik. Sampel terbagi menjadi empat bagian, dimana lapisan teratas adalah minyak, lalu berturut-turut protein kedelai, fase air, dan xanthan gum. Hal ini membuktikan bahwa keempat formula masih kurang stabil terhadap pengocokan yang sangat kuat akibat pemisahan gravitasional yang dipercepat.

4.2.4 Evaluasi Volume Kriming Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam

Sampai dengan minggu ke-8, keempat formula belum menunjukkan adanya ketidakstabilan berupa kriming. Hal ini dikarenakan penambahan agen peningkat viskositas, yaitu xanthan gum yang cukup dapat menghambat laju kriming. Perbandingan keempat formula pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 dapat dilihat pada Lampiran 16. Selain itu, emulgator eksternal juga cukup mampu menjaga agar globul minyak tidak mengalami koalesen yang dapat menyebabkan pemisahan fase.

4.2.5 Evaluasi Aktivitas Antioksidan Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam

Aktivitas antioksidan dalam penelitian ini menggunakan metode peredaman DPPH karena metode ini cukup sederhana dan sensitif. DPPH (2,2-difenil-1-pikril hidrazil) merupakan radikal bebas atau zat pengoksidan yang stabil. Pengujian diawali dengan uji pendahuluan (kualitatif) minyak biji jinten hitam dengan larutan DPPH. Dari uji pendahuluan dapat diamati bahwa toluen sampel memberikan warna kuning setelah disemprot menggunakan larutan DPPH sehingga sampel positif memiliki aktivitas antioksidan. Hasil pendahuluan dapat dilihat pada Lampiran 15. Pengukuran dilanjutkan dengan penentuan aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam itu sendiri, blanko positif berupa *d- alpha tocopherol* 1300 IU, dan sediaan komersial minyak biji jinten hitam dalam kapsul lunak. Selanjutnya pengukuran dilakukan untuk sediaan emulsi ganda pada minggu ke-0 dan minggu ke-8 untuk dapat mengevaluasi aktivitas antioksidan sediaan selama penyimpanan.

Toluen dipilih sebagai pelarut karena minyak biji jinten hitam dan DPPH larut serta stabil didalamnya. Inkubasi dilakukan pada suhu ruang selama 30 menit dalam tabung gelap sesuai dengan metode pengukuran aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam yang dilakukan oleh Ramadan, Kroh, dan Morsel (2003).

4.2.5.1 Penentuan panjang gelombang maksimum

Panjang gelombang maksimum DPPH dalam toluen digunakan sebagai panjang gelombang untuk menentukan serapan DPPH sampel-sampel lainnya karena serapan yang diukur adalah DPPH yang tersisa setelah bereaksi dengan

sampel. Penentuan panjang gelombang maksimum digunakan DPPH dalam konsentrasi 40 ppm yang menghasilkan panjang gelombang maksimum 520 nm. Spektrum serapan dari DPPH dapat dilihat dalam Lampiran 17.

4.2.5.2 Hasil Pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode peredaman DPPH

Perhitungan IC_{50} (konsentrasi inhibisi sebesar 50%) untuk kesemua sampel dapat dilihat pada Lampiran 27, 28, dan 29. Aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam awal memang kurang bagus karena memiliki IC_{50} sebesar 726,4708 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan IC_{50} *d-alpha tocopherol* 1300 UI sebesar 7,7093 $\mu\text{g/ml}$. Namun, nilai IC_{50} minyak biji jinten hitam dengan metode DPPH yang dilakukan oleh Sultan, Butt, dan Anjum (2009) juga tidak berbeda jauh yaitu sebesar $515 \pm 20,1$ $\mu\text{g/ml}$. Nilai IC_{50} lebih besar mungkin disebabkan karena proses autooksidasi selama ekstraksi, distribusi, dan penyimpanan sampel.

Minyak biji jinten hitam mengandung senyawa antioksidan yang kompleks (asam lemak, tokoferol, fenol, dan β -karoten) sehingga menggunakan satu metode masih belum menggambarkan aktivitas antioksidan secara keseluruhan. Masing-masing komponen antioksidan memiliki mekanisme oksidasi yang berbeda-beda. Oleh sebab itu, sangat dianjurkan menggunakan lebih dari satu macam pengukuran aktivitas antioksidan dan paling tidak salah satu pengukurannya memiliki hubungan biologis (Badarinath, Rao, Chetty, Ramkanth, Rajan, dan Gnnaprakash, 2010). Sumber tanaman yang berbeda juga dapat mengakibatkan antioksidan yang terkandung dalam minyak biji jinten hitam dapat bervariasi sesuai dengan lingkungannya.

Nilai IC_{50} *d-alpha tocopherol* 1300 UI 7,7093 $\mu\text{g/ml}$ ini masih normal sesuai dengan rentang IC_{50} *alpha tocopherol* seharusnya, yaitu 7.3 ± 0.308 $\mu\text{g/ml}$ (Myers, 2004). Sedangkan untuk sediaan komersial dalam kapsul lunak menghasilkan aktivitas antioksidan yang sangat jauh dari minyak biji jinten hitam yang peneliti gunakan dengan IC_{50} sebesar 2508,3084 $\mu\text{g/ml}$. Meskipun dalam kemasan tertera bahwa dalam kapsul lunak sediaan komersial mengandung 100% minyak biji jinten hitam murni, kemungkinan pihak produsen masih menambahkan beberapa bahan tambahan atau terjadi autooksidasi selama proses produksi dan distribusinya ke konsumen sehingga hasil IC_{50} jauh berbeda.

Seharusnya pengukuran aktivitas antioksidan sediaan dilakukan pada minggu ke-0. Namun, karena lamanya masa percobaan pendahuluan untuk mendapatkan suasana yang optimal cukup panjang, maka penetapan aktivitas antioksidan sediaan emulsi ganda baru mendapat hasil yang optimal pada minggu ke-4. IC_{50} berturut-turut Formula 1, 2, 3, dan 4 adalah 1860,1255; 2271,3313; 2220,0732; dan 2766,9592 $\mu\text{g/ml}$. Minyak biji jinten hitam yang terkandung dalam keempat formula sebesar 22,5% sehingga pada normalnya menurut perhitungan IC_{50} sediaan berkisar pada nilai 3000 $\mu\text{g/ml}$. Akan tetapi, pada kenyataannya IC_{50} sediaan bernilai lebih kecil yang artinya aktivitas antioksidan emulsi ganda minyak biji jinten hitam ini justru lebih baik. Hal ini dapat terjadi karena dalam formula emulsi ganda terdapat protein kedelai yang mengandung isoflavon (flavonoid). Isoflavon yang terkandung dalam protein kedelai umumnya mencapai 5,1-5,5 mg total/gram protein kedelai, tergantung jenis kedelai, area penanaman, dan proses pengolahan. Isoflavon tergolong dalam flavonoid yang kurang polar sehingga isoflavon dapat larut dalam pelarut non polar (toluen) yang digunakan untuk penetapan aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam. Isoflavon terbukti memiliki kemampuan untuk menghambat oksidan cukup baik (Alrasyid,2007).

Pada beberapa penelitian menyebutkan bahwa polisakarida yang terdistribusi secara luas dalam hewan, tanaman, dan mikroorganisme, terbukti memiliki peran penting sebagai makanan penghambat radikal bebas untuk mencegah kerusakan oksidasi. Dalam penelitian Kishk dan Al-Sayed (2007) menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan xanthan gum pada konsentrasi 40 mg/100 g emulsi minyak bunga matahari setara dengan TBHQ (*Tertiary Butyl Hydroquinone*), salah satu antioksidan sintetis, pada konsentrasi 20 mg/100 g emulsi minyak bunga matahari. Hal tersebut menyebabkan pengukuran aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam dalam sediaan emulsi ganda menjadi bias. Namun, baik protein kedelai maupun xanthan gum merupakan variabel tetap dalam formulasi sehingga aktivitas antioksidan setelah penyimpanan delapan minggu pada suhu ruang masih dapat diamati untuk membandingkan keseluruhan formula.

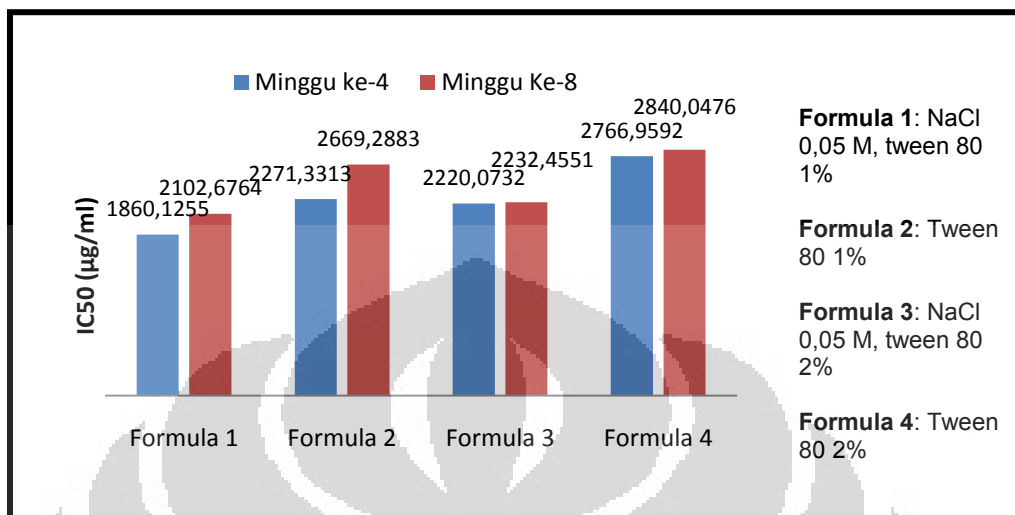
Aktivitas antioksidan seluruh formula emulsi ganda seharusnya tidak berbeda satu sama lain karena dalam formula tidak ada variasi konsentrasi minyak biji jinten hitam, protein kedelai, maupun xanthan gum yang berkontribusi memberikan aktivitas antioksidan. Namun, perbedaan konsentrasi emulgator dan keberadaan NaCl mampu mempengaruhi proses aktivitas antioksidan.

Dalam penelitian Donnelly di tahun 1998 yang diungkapkan oleh Clements dan Decker, oksidasi lipid dalam emulsi yang distabilkan dengan protein akan dipengaruhi oleh muatan droplet. Emulsi yang distabilkan dengan surfaktan non ionik memiliki kecepatan oksidasi lipid lebih cepat pada pH 3 (asam) karena ion logam besi (prooksidan) lebih larut dalam pH rendah. Namun, berbeda dengan emulsi yang distabilkan dengan protein, kecepatan oksidasi lipid akan meningkat pada pH yang lebih tinggi (basa). Pada pH asam, droplet akan bermuatan positif sehingga akan menolak ion logam besi, sedangkan pada pH lebih basa, emulsi akan bermuatan negatif sehingga mampu menarik ion logam besi. Saat surfaktan non ionik ditambahkan pada emulsi yang bermuatan positif, kestabilan terhadap oksidasi lipid menurun karena surfaktan akan menggantikan protein dari permukaan droplet. Pada keadaan pH asam ini surfaktan banyak terdapat pada permukaan droplet, maka ion logam akan mudah untuk mengoksidasi lipid (Clements dan Decker, 2000). Fenomena ini terbukti dari formula 3 dan 4 dengan konsentrasi tween 80 lebih tinggi memiliki aktivitas antioksidan yang lebih rendah.

Formula dengan kandungan NaCl memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik (formula 1 dan 3) dibandingkan tanpa NaCl (formula 2 dan 4). Keberadaan NaCl justru mempermudah dalam proses pemecahan emulsi (Eccleston, 2007). Hal tersebut menyebabkan semakin banyak antioksidan yang terlarut dalam toluen.

Pada minggu ke-8, IC_{50} keempat formula emulsi ganda minyak biji jinten hitam berturut-turut adalah 2102,6764; 2669,2883; 2232,4551; dan 2840,0476 ppm. IC_{50} sediaan menjadi lebih besar yang berarti bahwa aktivitas antioksidan sediaan menurun. Menurunnya aktivitas antioksidan dimungkinkan karena faktor penyimpanan yang menyebabkan autooksidasi. Autooksidasi ini dapat dipercepat karena tidak ditambahkannya antioksidan dalam sediaan. Akan tetapi, keberadaan

protein kedelai dan xanthan gum mampu menghambat laju autooksidasi karena kenaikan IC_{50} keempat formula tidak terlalu signifikan.



Gambar 4.9. Grafik perubahan aktivitas antioksidan formula emulsi ganda minyak biji jinten hitam pada minggu ke-4 dan ke-8

4.2.6 Evaluasi Uji Hedonik Emulsi Ganda Minyak Biji Jinten Hitam

Dua puluh orang panelis agak terlatih diminta memberikan penilaian kesukaan terhadap hasil formula sediaan emulsi ganda. Panelis ini menilai parameter penampilan, aroma, dan juga rasa sediaan. Hasil penilaian ini kemudian dianalisis menggunakan program statistik SPSS 19. Hasil analisis dapat dilihat pada Lampiran 9, 10, 11, 12 dan 13.

Berdasarkan uji distribusi normal kolmogorov-smirnov, distribusi data penilaian kesukaan penampilan, aroma, dan rasa dari semua sampel tidak terdistribusi normal karena $P < 0,05$ sehingga hipotesis ditolak. Karena tidak terdistribusi normal, maka data hasil penilaian dilanjutkan dengan analisis non parametik. Untuk dapat melanjutkan analisis data juga harus diketahui homogenitas variasi kesukaan penampilan, aroma, dan rasa semua sampel dengan menggunakan uji homogenitas varian lavene. Hasil analisis membuktikan bahwa variasi pada tiap kelompok sama (homogen). Analisis non parametik yang digunakan adalah uji kruskal-wallis untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan kesukaan yang signifikan antar formula dan uji willcoxon untuk mengetahui ada

tidaknya perbedaan kesukaan yang signifikan antara masing-masing formula dibandingkan kontrol minyak biji jinten hitam.

Hasil uji kruskal-wallis memberikan informasi bahwa kesukaan panelis terhadap penampilan, aroma, dan rasa dari keempat formula tidak berbeda secara signifikan karena $P > 0,05$ sehingga hipotesis diterima (tidak ada perbedaan yang signifikan). Hal ini dikarenakan formulasi variasi rasa yang kurang jauh berbeda baik dari segi penambahan pasta *orange* maupun pemanis. Selain itu, perbedaan jumlah emulgator dan penambahan NaCl tidak memberikan perbedaan kesukaan penampilan, aroma, dan rasa pada sediaan. Namun, bagaimanapun juga dari hasil uji kruskal-wallis ini dapat terlihat peringkat formula yang paling disukai panelis berdasarkan masing-masing parameter. Formula 1 memiliki penampilan yang paling disukai, sedangkan formula 2 memiliki aroma dan rasa yang paling disukai.

Dari uji willcoxon dapat disimpulkan bahwa keempat formula tidak memiliki perbedaan yang signifikan terhadap nilai kesukaan panelis terhadap penampilan dibanding minyak biji jinten hitam itu sendiri. Penampilan masing-masing formula memiliki nilai $\frac{1}{2} P > \frac{1}{2} \alpha (0,025)$ sehingga hipotesis dapat diterima (tidak ada perbedaan signifikan). Sedangkan untuk parameter aroma, baik formula 1, 2, maupun 3 telah memiliki perbedaan nilai kesukaan yang signifikan dibandingkan minyak biji jinten hitam karena $\frac{1}{2} P < \frac{1}{2} \alpha (0,025)$ sehingga hipotesis ditolak (ada perbedaan signifikan). Namun, untuk formula 4 tidak memiliki perbedaan penilaian kesukaan aroma yang signifikan terhadap minyak biji jinten hitam karena memiliki nilai $\frac{1}{2} P > \frac{1}{2} \alpha (0,025)$ sehingga hipotesis diterima (tidak ada perbedaan yang signifikan). Dari segi rasa, keempat formula telah memberikan perbedaan nilai kesukaan yang signifikan dibandingkan minyak biji jinten hitam karena nilai $\frac{1}{2} P < \frac{1}{2} \alpha$, maka hipotesis ditolak (ada perbedaan yang signifikan).

Dari analisis data diatas dapat disimpulkan bahwa keempat formula telah mampu memperbaiki rasa minyak biji jinten hitam, tetapi dari segi penampilan masih kurang menarik. Sedangkan dari segi aroma sebagian formula telah mampu menutupi aroma minyak biji jinten hitam yang kuat.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Setelah dilakukannya penelitian terhadap uji stabilitas fisik dan aktivitas antioksidan emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam, peneliti dapat menarik beberapa kesimpulan sebagai berikut.

1. Stabilitas fisik emulsi ganda minyak biji jinten hitam meningkat dengan penambahan NaCl dan peningkatan konsentrasi emulgator (tween 80) dalam formula, terutama terhadap suhu tinggi.
2. Aktivitas antioksidan emulsi ganda minyak biji jinten hitam lebih baik daripada minyaknya karena penambahan protein kedelai dalam formula. Sedangkan proses penyimpanan dapat menurunkan aktivitas antioksidan sediaan karena autooksidasi.

5.2 Saran

Saran yang dapat penulis berikan berdasarkan penelitian ini adalah sebaiknya dalam sediaan ditambahkan antioksidan alami maupun buatan untuk mencegah adanya autooksidasi senyawa aktif. Formula emulsi ganda tersebut berpotensi untuk dimanfaatkan lebih optimal dengan menambahkan zat aktif ke dalam fase cair internal sebagai sediaan *sustained release*.

DAFTAR ACUAN

- A, Khaled., dan Abdel-Sater. (2009). Gastroprotective Effects of Nigella sativa Oil on The Formation of Stress Gastritis in Hypothyroidal Rats. *International Journal Physiology Pathophysiology Pharmacology*, 143-149.
- Al-Logmani, A., dan Zari, T. (2011). Long-Term Effects of Nigella sativa L. Oil on Some Physiological Parameters in Normal and Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Journal of Diabetes Mellitus Vol.1, No.3* , 46-53.
- Alrasyid, H. (2007). Peranan Isoflavon Tempe Kedelai, Fokus pada Obesitas dan Komorbid. *Majalah Kedokteran Nusantara Volume 40, No. 3* , 203-211.
- Badarinath, A., Rao, K. M., Chetty, C. M., Ramkanth, S., Rajan, T., dan Gnanaprakash, K. (2010). A Review on In-vitro Antioxidant Methods:Comparisons, Correlations, and Considerations. *International Journal of PharmTech Research Vol. 2, No. 2* , 1276-1285.
- Benichou, A., Aserin, A., dan Garti, N. (2004). Double Emulsion Stabilized with Hybrids of Natural Polymers for Entrapment and Slow Release of Active Matters. *Advances in Colloid and Interface Science 108-109*. 29-41.
- Biesalski, H. K. (2001). Nutraceuticals: The Link Between Nutrition and Medicine. Dalam K. Kramer, Peter, P. Hoppe, dan L. Packer, *Nutraceuticals in Health and Disease Prevention* (p. 1). New York: Marcel Dekker, Inc.
- Burits, M., dan Bucar, F. (2000). Antioxidant Activity of *Nigella sativa* Essential Oil. *Phytotherapy Research, 14* , 323-328.
- Cheikh-Rouhou, S., Besbes, S., Hentati, B., dan Blecker, C. (2007). Nigella sativa L.: Chemical Composition and Physicochemical Characteristics of Lipid Fraction. *Food Chemistry, 101* , 673-681.
- Clements, M., dan Decker. (2000). Lipid Oxidation in Oil-in-WaterEmulsions: Impacr of Molecular Environment on Chemical Reactions in Heterogeneous Food Systems. *Journal of Food Science, Vol. 65, No. 8* , 1270-1283.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Materia Medika Jilid III*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan.
- Eccleston, G. M. (2007). Emulsions and Microemulsions. Dalam J. Swarbrick, *Encyclopedia of Pharmaceutical Technology Third Edition* (pp. 1548-1565). New York: Informa Healthcare USA, Inc.
- El-Tahir, Kamal E.-D., dan 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. *Journal T U Med Sc 1* , 1-19.

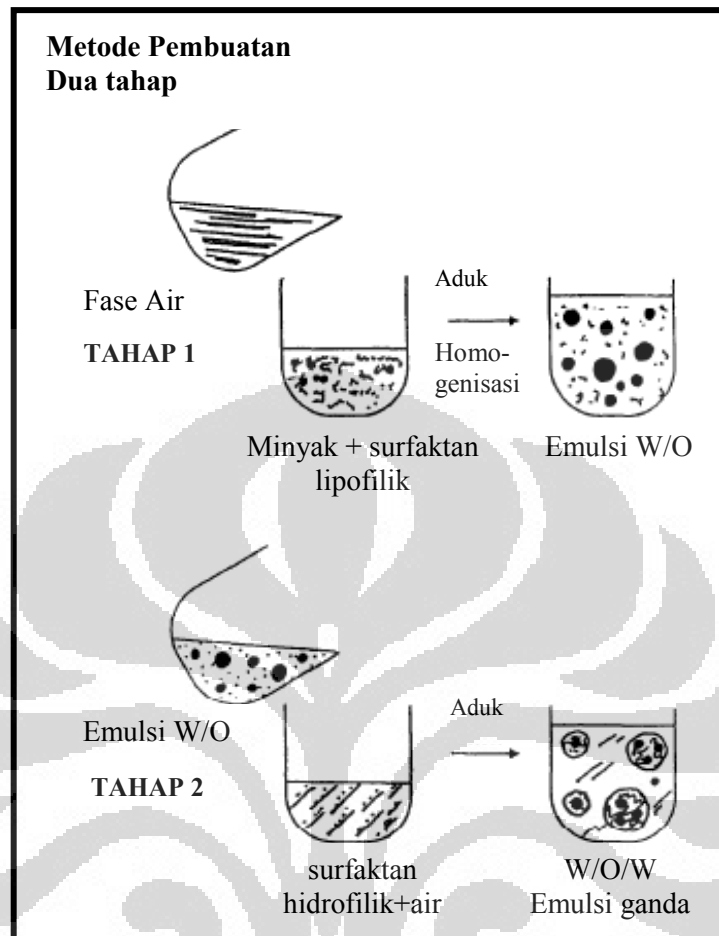
- Food-Fact of Life. (2010). *Sensory Evaluation Teacher's Guide*. January 22 2012. <http://www.foodafactoflife.org.uk/>
- Garti, N. (1997). Double Emulsions: Scope, Limitations and New Achievements. *Colloids and Surfaces A Physicochemical and Engineering Aspects* 123-124, 233-246.
- Garti, N., dan Aserin, A. (1996). Double Emulsions Stabilized by Macromolecular Surfactant. *Advances in Colloid and Interface Scienc*, 65 , 37-69.
- Garti, N., dan Bisperink, C. (1998). Double Emulsions: Progress and Applications. *Current Opinion Colloid & Interface Science*, 3 , 657-667.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA UI.
- Hutapea, J. (1994). Nigella Sativa. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)* (p. 163). Jakarta: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Gheisari, H. R., Moller, J. K., dan E.Adamsen, C. (2010). Sodium Chloride or Heme Protein Induced Lipid Oxidation in Raw, Minced Chicken Meat, and Beef. *Czech Journal Food Science*, Vol. 2, No. 5 , 364-375.
- International Centre for Science and High Technology. (2007). *Nigella sativa* L. Januari 27, 2012. <http://maps.ics.trieste.it/Home/Plant/633>.
- Jiahong Su. (2008). Formation and Stability of Food Grade Water in Oil in Water Emulsions. *Thesis of Food Technology*. Palmerston North: Riddet Institue Massey University New Zealand.
- Jiao, J., dan Burgess, D. J. (2008). Multiple Emulsion Stability: Pressure Balance and Interfacial Film Strength. Dalam A. Aserin, *Multiple Emulsion: Technology and Applications* (pp. 1-19). New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Jingyu Shi. (2002). Steric Stabilization. *Literature Review*. Colombus: The Ohio State University, USA.
- Kishk, Y., dan Al Sayed, H. M. (2007). Free-Radical Scavenging and Antioxidative Activities of Some Polysaccharides in Emulsions. *LWT*, 40 , 270-277.
- Koochehi, A., dan 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.
- Lee, J., Koo, N., dan Min, D. (2004). Reactive Oxygen Species, Aging and Antioxidant Nutraceutical. *Comprehensive Review in Food Science and Food Safety*, Vol. 3 , 21-33.
- Lockwood, B. (2007). *Nutraceuticals*. London: Pharmaceutical Press.

- Longe, J. L. (2005). *The Gale Encyclopedia of Alternative Medicine 2nd Ed.* USA: Thomson Gale.
- Lutterodt, H., Luther, M., Slavin, M., Yin, J.-J., Parry, J., dan Gao, J.-M. (2010). Fatty Acid Profile, Thymoquinone Content, Oxidative Stability, and Antioxidant Properties of Cold-Pressed Black Cumin Seed Oils. *LWT - Food Science and Technology*, 43 , 1409-1413.
- Lutz, R., dan Aserin, A. (2008). Multiple Emulsions Stabilized by Biopolymer. In A. Aserin, *Multiple Emulsion: Technology and Application* (pp. 85-116). New Jersey: A John Wiley & Sons, Inc.
- Mahargiani, T. (2002). Pengaruh Penambahan NaCl pada Proses Hidrolisis Minyak Kelapa Sawit dengan Katalisator HCl. *Jurnal Iptek Material*, hal. 25-31.
- Manero, O., Bautista, F., dan Puig, J. (2010). *Rheology of Surfactants: Wormlike Micelles and Lamellar Liquid Crystalline Phases*. Dipetik June 7, 2012, dari Encyclopedia of Life Support Systems: <http://www.eolss.net/Eolss-sampleAllChapter.aspx>
- Martin, A., Swarbrick, J., dan Cammarata, A. (1993) *Farmasi Fisik: Dasar-Dasar Farmasi Fisik dalam Ilmu Farmasetik* (Yoshita, Penerjemah). Jakarta: UI-Press
- Matthaus, B., dan Ozcan, M. M. (2011). Fatty Acids, Tocopherol, and Sterol Contents of Some Nigella Species Seed Oil. *Czech Journal of Food Science Vol 29* , 145-150.
- Meyers, D. (2006). *Surfactant Science and Technology*. New Jersey: John Wiley & Sons, Inc.
- Moffat, A. C., Osselton, M. D., dan Widdop, B. (2005). *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. London: Pharmaceutical Press.
- Moore, W. (1982). *Harry's Cosmeticology (7th ed.)*. London: Godwin.
- Myers, R. L. (2004). The IC50 Rating for Antioxidant Effectiveness. *eBytes Issue 8 CNC copyright*, 1-3.
- National Institute of Health (2011). *Antioxidant Supplements for Health: An Introduction*. New York: U.S. Department of Health and Human Services
- Nickavara, B., Mojaba, F., Javidniab, K., dan Amolia, M. A. (2003). Chemical Composition of the Fixed and Volatile Oils of *Nigella sativa* L. from Iran. *Verlag der Zeitschrift für Naturforschung* , 629-631.
- Packer, L., dan Cadenas, E. (2001). Series Introduction. Dalam K. Kramer, P.-P. Hoppe, dan L. Packer, *Nutraceuticals in Health and Disease Prevention*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Packer, L., dan Weber, S. U. (2001). The Role of Vitamin E in the Emerging Field of Nutraceuticals. Dalam K. Kramer, P.-P. Hoppe, dan L. Packer, *Nutraceutical in Health and Disease Prevention* (pp. 27-46). New York: Marcel Dekker, Inc.

- Panahi, Namjoyan, dan Shakerin. (2011). Evaluation of Antioxidant Effects of Nigella sativa Extraction on The Ultra Structure of Neural Tube Defect in Deabetic Rats's Offspring. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products 2011; 6(1): 16-23*
- Prior, R. I., Wu, X., dan Schaich, K. (2005). Standardized Methods for the Determination of Antioxidant Capacity and Phenolics in Foods and Dietary Supplements. *Agriculture and Food Chemistry 53* , 4290-4302.
- Ramadan, M. F., Kroh, L. W., dan 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 Agricultural and Food Chemistry* , 6961-6969.
- Randhawa, M. A. (2008). Black Seed, Nigella Sativa, Deserve More Attention. *Journal Ayub Med Coll Abbottabad* , 1-2.
- Rieger, M. (1994). Emulsi. Dalam H. L. Lachman. L., *Teori dan Praktek Farmasi Industri I* (pp. 1029-1081). Jakarta: UI Press.
- Rowey, R. C., Sheskey, P. J., dan Owen, S. C. (2006). *Handbook of Pharmaceutical Excipients Fifth Edition*. London: Pharmaceutical Press.
- Selles, A. N., dan Garrido, G. G. (2010). The Challenges of Antioxidant Therapy with Natural Product. Dalam V. Gupta, dan A. K. Verma, *Comprehensive Bioactive Natural Product Vol 4: Antioxidants and Nutraceutical* (p.2). Texas: Studium Press LLC.
- Sultan, M. T. (2009). Characterization of Black Cumin Seed Oil and Exploring Its Role as A Functional Food. *Disertation*. National Institute of Food Science and Technology University Agriculture of Faisalabad.
- Sultan, M. T., Butt, M. S., dan Anjum, F. M. (2009). Safety Assessment of Black Cumin Fixed and Essential Oil in Normal Sprague Dawley Rats: Serological and Hematological Indices. *Food and Chemical Toxicology 47* , 2768-2775.
- Susiwi. (2009). *Penilaian Organoleptik*. Jakarta: Jurusan Pendidikan Kimia FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia.
- Tadros, T. F. (1992). Future Developments in Cosmetic Formulation. *International Journal of Cosmetic Science 14* , 93-111.
- Tasawar, Z., Siraj, Z., Ahmad, N., dan Lashari, M. H. (2011). The Effect of Nigella sativa (kalonji) on Lipid Profile in Patients with Stable Coronary Artery Disease in Multan, Pakistan. *Pakistan Journal of Nutrition 10 (2)*, 162-167.
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi Edisi ke-5*. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.

Daftar Lampiran

Lampiran Gambar	1-17
Lampiran Tabel	18-29
Lampiran Contoh Perhitungan	30-40
Lampiran Lembar Uji	41
Lampiran Sertifikat Analisis	42-46

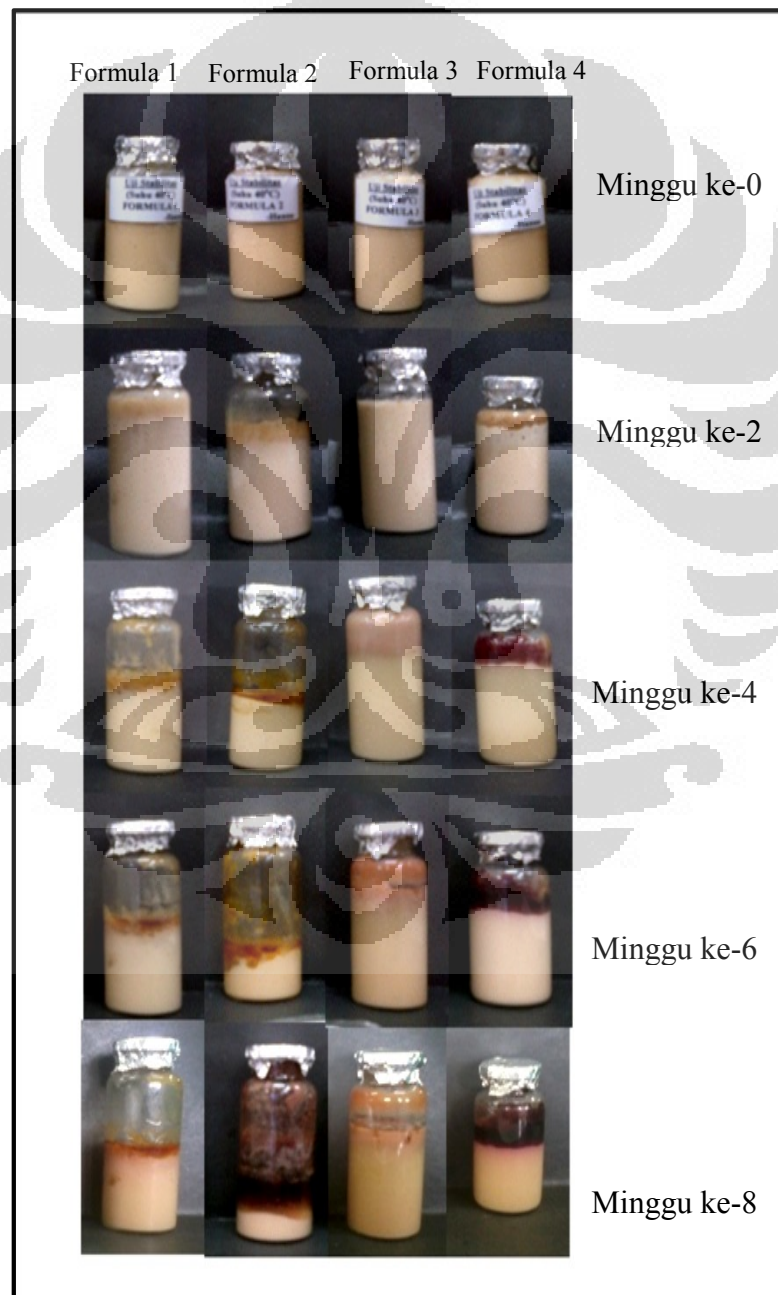
Lampiran 1. Skema pembuatan emulsi ganda

[Sumber: Garti dan Aserin, 1996, telah diolah kembali]

Lampiran 2. Foto minyak biji jinten hitam



Lampiran 3. Foto hasil uji stabilitas formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada suhu tinggi ($40\pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu



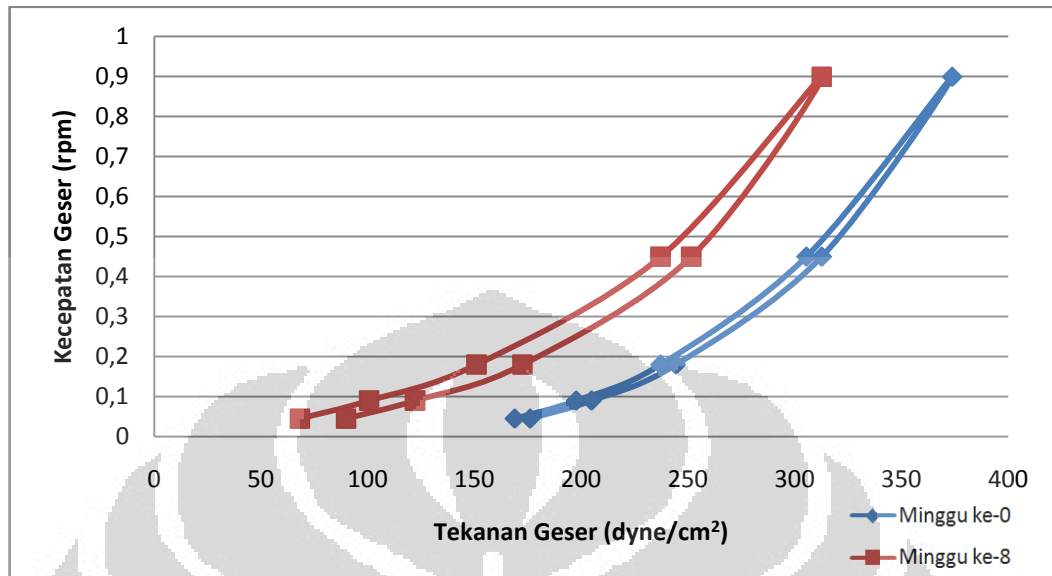
Lampiran 4. Foto hasil uji stabilitas formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada suhu kamar (27-30°C) selama 8 minggu



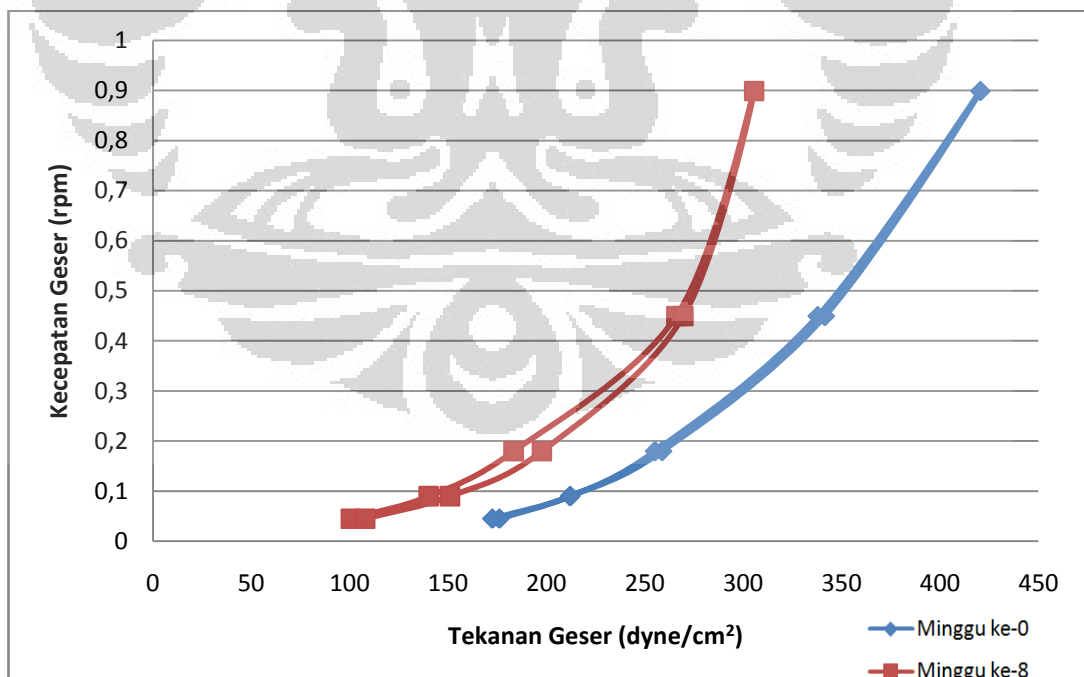
Lampiran 5. Foto hasil uji stabilitas formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$) selama 8 minggu



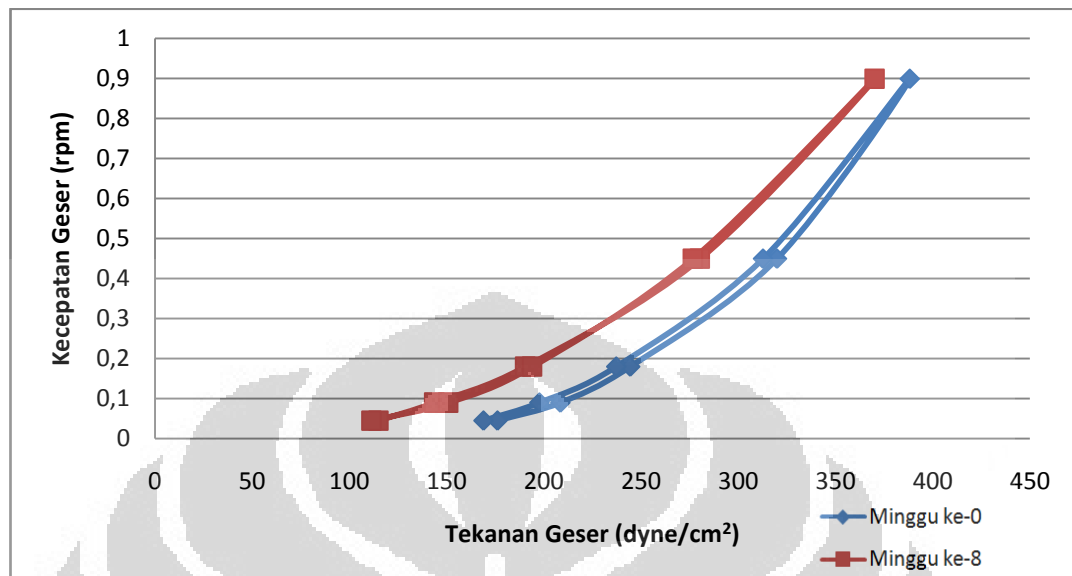
Lampiran 6. Hasil reogram formula 1 (NaCl 0,05M, tween 80 1%) emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0 dan ke-8



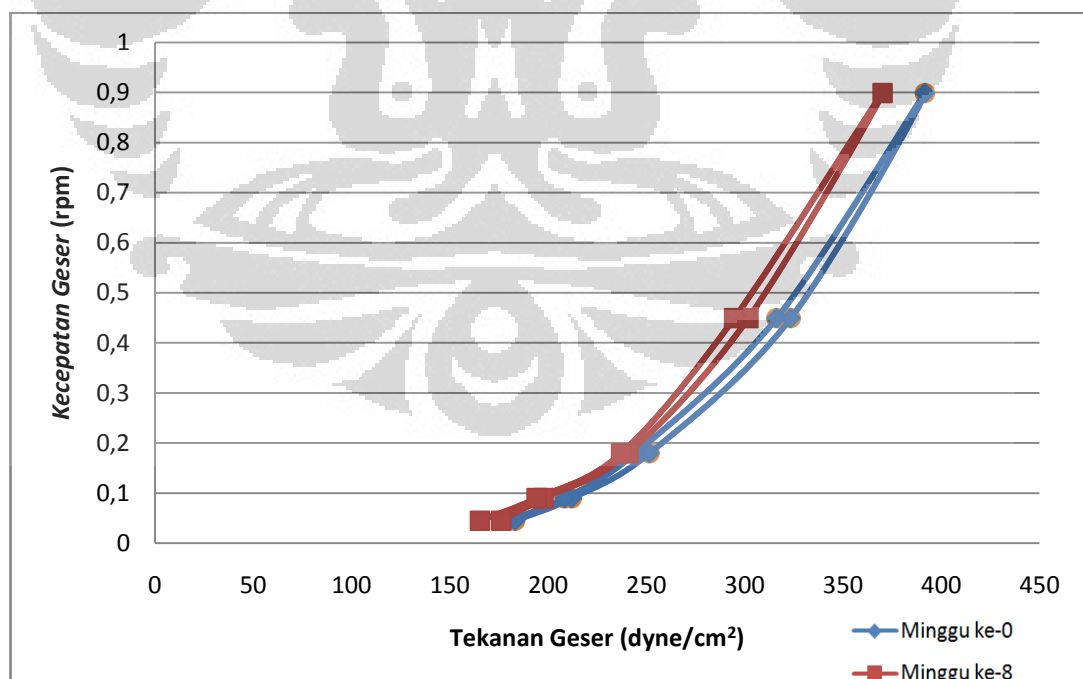
Lampiran 7. Hasil reogram formula 2 (tween 1%) emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0 dan ke-8



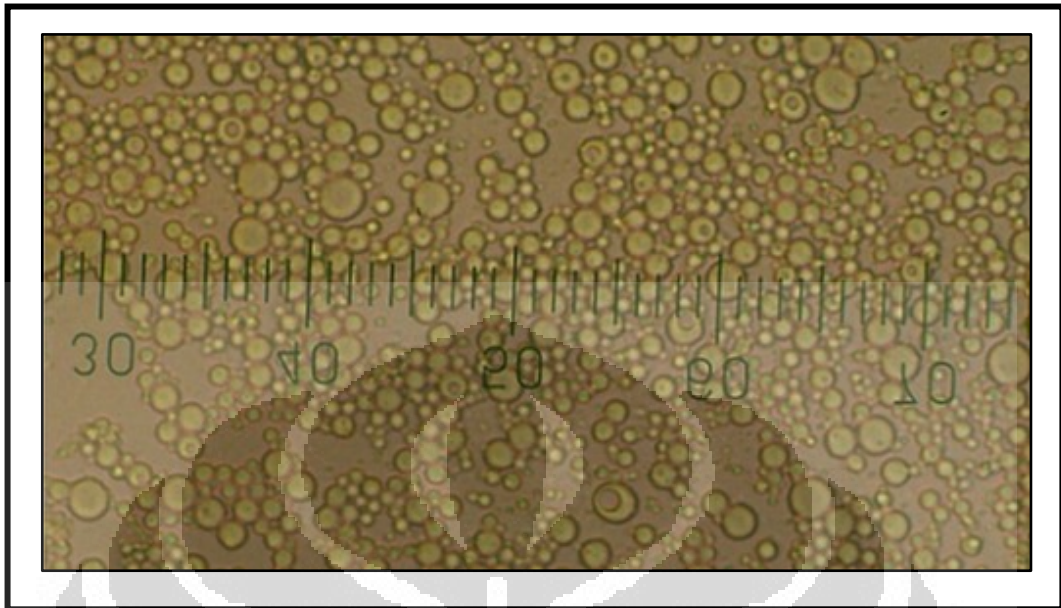
Lampiran 8. Hasil reogram formula 3 (NaCl 0,05M, tween 2%) emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0 dan ke-8



Lampiran 9. Hasil reogram formula 4 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0 dan ke-8



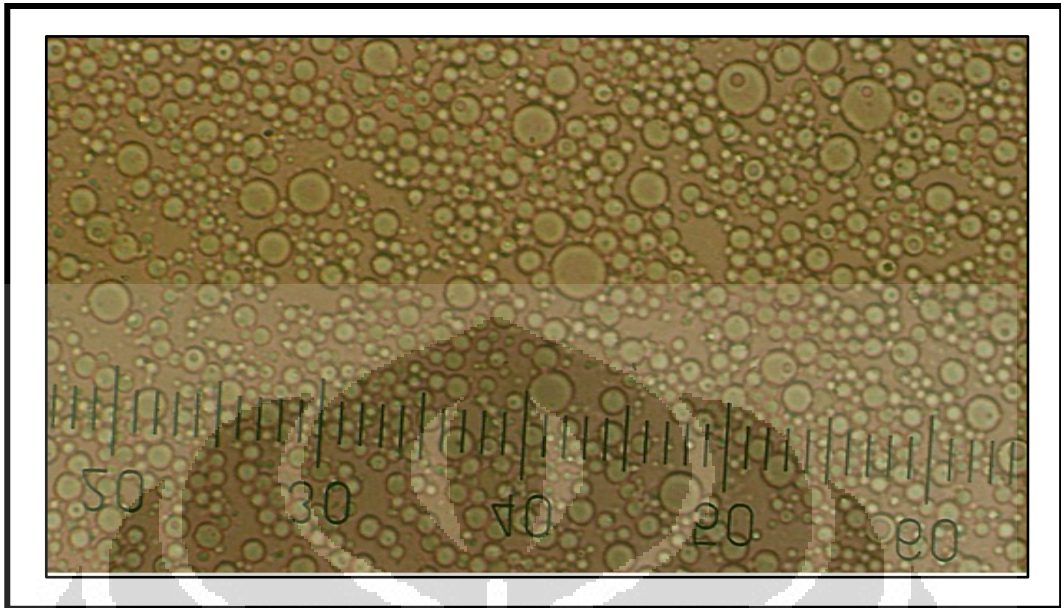
Lampiran 10. Foto globul formula 1 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-8 pada suhu kamar (27-30°C)



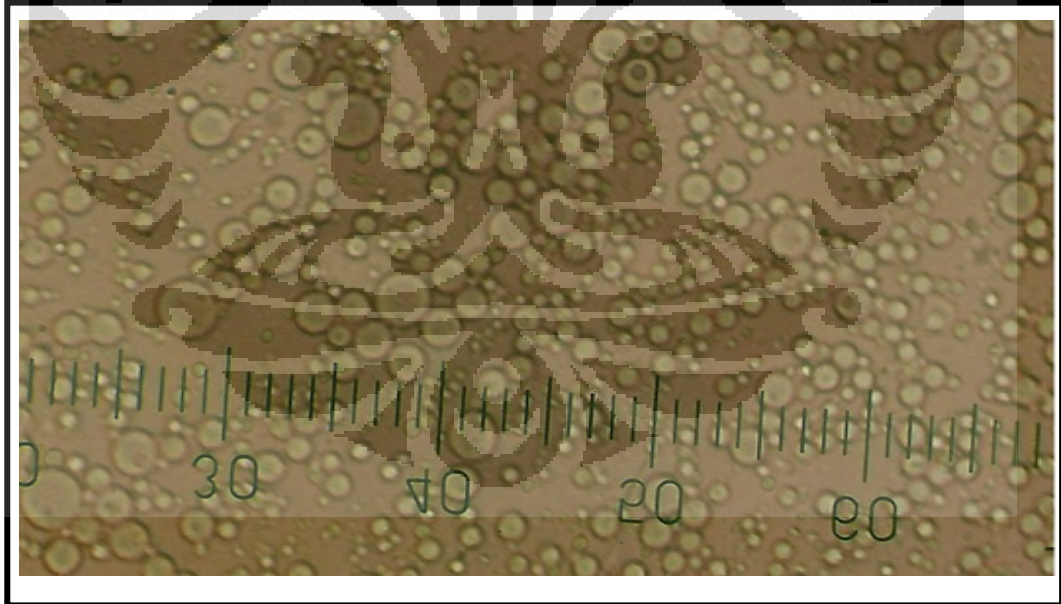
Lampiran 11. Foto globul formula 2 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-8 pada suhu kamar (27-30°C)



Lampiran 12. Foto Globul Formula 3 Emulsi Ganda Tipe W/O/W Minyak Biji Jinten Hitam Minggu ke-8 pada Suhu Kamar (27-30°C)



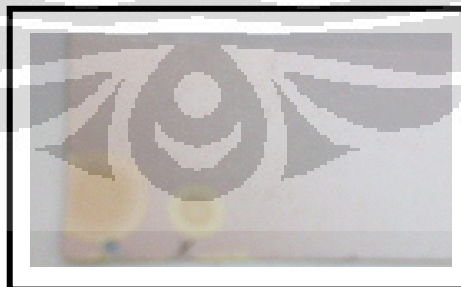
Lampiran 13. Foto globul formula 4 emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam minggu ke-8 pada suhu kamar (27-30°C)



Lampiran 14. Foto hasil uji mekanik (sentrifugasi) formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam

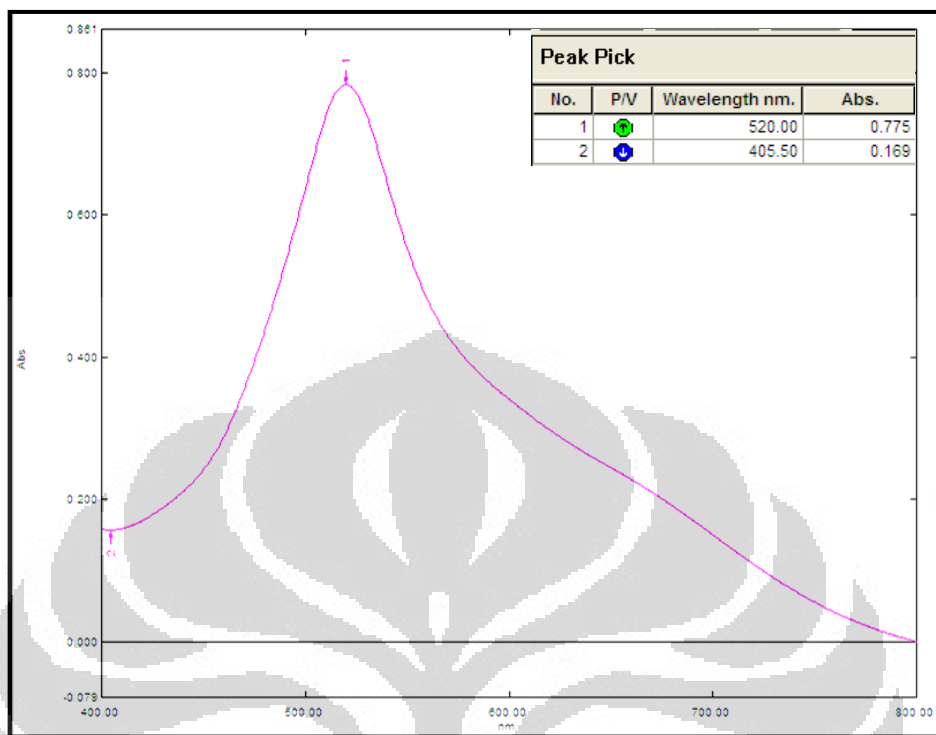


Lampiran 15. Hasil uji pendahuluan (kualitatif) minyak biji jinten hitam dengan penyemprotan larutan DPPH-toluen 40 ppm



Lampiran 16. Foto hasil uji volume kriming formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam selama 8 minggu



Lampiran 17. Spektrum serapan larutan DPPH 40 ppm dalam toluen

Lampiran 18. Hasil pengamatan evaluasi emulsi ganda minyak biji jinten hitam pada minggu ke-0

Sediaan	Organoleptis	pH	Diameter Globul		Viskositas (cps)
			Rata-Rata (μm) Eksternal	Internal	
Formula 1 (NaCl 0,05 M, Tween 80 1%)	Cokelat muda, homogen, sedikit bau khas minyak biji jinten hitam	5,20	8,13	2,77	3920
Formula 2 (Tween 80 1%)	Cokelat muda (+), homogen, sedikit bau khas minyak biji jinten hitam	5,98	7,81	2,49	3920
Formula 3 (NaCl 0,05 M, Tween 80 2%)	Cokelat muda, homogen, sedikit bau khas minyak biji jinten hitam	5,52	5,29	2,13	3920
Formula 4 (Tween 80 2%)	Cokelat muda (+), homogen, sedikit bau khas minyak biji jinten hitam)	5,77	7,66	2,37	4080

Keterangan: Cokelat muda — = *pantone® color bridge CMYK 1215 PC*

Cokelat muda (+) = *pantone® color bridge CMYK 1225 PC*

Lampiran 19. Hasil pengukuran viskositas seluruh formula emulsi ganda menggunakan spindel 2 pada minggu ke-0

Sediaan	Kecepatan	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Shearing stress F/A = dr x 7,187 (dyne/cm²)	Rate of Shear dv/dr = F/A x 1/η
Formula 1 (NaCl 0,05M, Tween 80 1%)	5	24,5	160	3920	176,0815	0,044919
	10	28,5	80	2280	204,8295	0,089838
	20	34	40	1360	244,358	0,179675
	50	43,5	16	696	312,6345	0,449188
	100	52	8	416	373,724	0,898375
	50	42,5	16	680	305,4475	0,449188
	20	33	40	1320	237,171	0,179675
	10	27,5	80	2200	197,6425	0,089838
Formula 2 (Tween 80 1%)	5	23,5	160	3760	168,8945	0,044919
	5	24,5	160	3920	176,0815	0,044919
	10	29,5	80	2360	212,0165	0,089838
	20	36	40	1440	258,732	0,179675
	50	47,5	16	760	341,3825	0,449188
	100	58,5	8	468	420,4395	0,898375
	50	47	16	752	337,789	0,449188
	20	35,5	40	1420	255,1385	0,179675
Formula 3 (NaCl 0,05M, Tween 80 2%)	10	29,5	80	2360	212,0165	0,089838
	5	24	160	3840	172,488	0,044919
	5	24,5	160	3920	176,0815	0,044919
	10	29	80	2320	208,423	0,089838
	20	34	40	1360	244,358	0,179675
	50	44,5	16	712	319,8215	0,449188
	100	54	8	432	388,098	0,898375
	50	43,5	16	696	312,6345	0,449188
Formula 4 (Tween 80 2%)	20	33	40	1320	237,171	0,179675
	10	27,5	80	2200	197,6425	0,089838
	5	23,5	160	3760	168,8945	0,044919
	5	25,5	160	4080	183,2685	0,044919
	10	29,5	80	2360	212,0165	0,089838
	20	35	40	1400	251,5450	0,179675
	50	45	16	720	323,4150	0,449188
	100	54,5	8	436	391,6915	0,898375
Formula 4 (Tween 80 2%)	50	44	16	704	316,2280	0,449188
	20	34	40	1360	244,3580	0,179675
	10	29	80	2320	208,4230	0,089838
	5	25	160	4000	179,6750	0,044919

Lampiran 20. Hasil pengukuran viskositas seluruh formula emulsi ganda dengan menggunakan spindel 2 pada minggu ke-8

Sediaan	Kecepatan	Dial Reading (dr)	Faktor Koreksi (f)	Viskositas $\eta = dr \times f$ (cps)	Tekanan Geser $F/A = dr \times 7,187$ (dyne/cm ²)	Kecepatan Geser $dv/dr = F/A \times 1/\eta$
Formula 1 (NaCl 0,05M, Tween 80 1%)	5	12,5	160	2000	89,8375	0,044919
	10	17	80	1360	122,1790	0,089838
	20	24	40	960	172,4880	0,179675
	50	35	16	560	251,5450	0,449188
	100	43,5	8	348	312,6345	0,898375
	50	33	16	528	237,1710	0,449188
	20	21	40	840	150,9270	0,179675
	10	14	80	1120	100,6180	0,089838
Formula 2 (Tween 80 1%)	5	9,5	160	1520	68,2765	0,044919
	5	15	160	2400	100,6180	0,044919
	10	21	80	1680	140,1465	0,089838
	20	27,5	40	1100	183,2685	0,179675
	50	37,5	16	600	265,9190	0,449188
	100	42,5	8	340	305,4475	0,898375
	50	37	16	592	269,5125	0,449188
	20	25,5	40	1020	197,6425	0,179675
Formula 3 (NaCl 0,05M, Tween 80 2%)	10	19,5	80	1568	150,9270	0,089838
	5	14	160	2240	107,805	0,044919
	5	16	160	2560	114,9920	0,044919
	10	20	80	1600	143,7400	0,089838
	20	26,5	40	1060	190,4555	0,179675
	50	39	16	624	280,2930	0,449188
	100	51,5	8	412	370,1305	0,898375
	50	38,5	16	616	276,6995	0,449188
Formula 4 (Tween 80 2%)	20	27	40	1080	194,0490	0,179675
	10	21	80	1680	150,9270	0,089838
	5	15,5	160	2480	111,3985	0,044919
	5	24,5	160	3920	176,0815	0,044919
	10	27,5	80	2200	197,6425	0,089838
	20	33,5	40	1340	240,7645	0,179675
	50	42	16	672	301,8540	0,449188
	100	51,5	8	412	370,1305	0,898375
Formula 4 (Tween 80 2%)	50	41	16	656	294,6670	0,449188
	20	33	40	1320	237,1710	0,179675
	10	27	80	2160	194,0490	0,089838
	5	23	160	3680	165,3010	0,044919

Lampiran 20. Hasil pengamatan organoleptis

Minggu ke-	Hasil Pengamatan Formula 1 (NaCl 0,05M, Tween 80 1%)								
	Suhu Rendah (4±2°C)			Suhu Kamar (27-30 °C)			Suhu Tinggi (40±2°C)		
	Warna	Bau	Pemisahan	Warna	Bau	Pemisahan	Warna	Bau	Pemisahan
0	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-
2	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Sedikit tengik	(+)
4	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Tengik	(++)
6	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Tengik	(+++)
8	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Tengik	(++++)

Minggu ke-	Hasil Pengamatan Formula 2 (Tween 80 1%)								
	Suhu Rendah (4±2°C)			Suhu Kamar (27-30 °C)			Suhu Tinggi (40±2°C)		
	Warna	Bau	Pemisahan	Warna	Bau	Pemisahan	Warna	Bau	Pemisahan
0	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-
2	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Sedikit tengik	(+)
4	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Sedikit tengik	(+)
6	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Tengik	(+++)
8	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Sedikit tengik	-	Cokelat muda (+)	Tengik	(++++)

(lanjutan)

Minggu ke-	Hasil Pengamatan Formula 3 (NaCl 0,05M Tween 80 2%)								
	Suhu Rendah (4±2°C)			Suhu Kamar (27-30 °C)			Suhu Tinggi (40±2°C)		
	Warna	Bau	Pemisahan	Warna	Bau	Pemisahan	Warna	Bau	Pemisahan
0	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-
2	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-
4	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda, atas lebih tua	Sedikit tengik	-
6	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Tengik	(+)
8	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Khas minyak	-	Cokelat muda	Tengik	(++)

Minggu ke-	Hasil Pengamatan Formula 4 (Tween 80 2%)								
	Suhu Rendah (4±2°C)			Suhu Kamar (27-30 °C)			Suhu Tinggi (40±2°C)		
	Warna	Bau	Pemisahan	Warna	Bau	Pemisahan	Warna	Bau	Pemisahan
0	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-
2	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Tengik	(++)
4	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Tengik	(+++)
6	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Tengik	(++++)
8	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Khas minyak	-	Cokelat muda (+)	Tengik	(+++++)

Keterangan: Cokelat muda = *pantone® color bridge CMYK 1215 PC* Cokelat muda (+)=*pantone® color bridge CMYK 1225 PC*

Lampiran 22. Hasil pengukuran pH emulsi ganda minyak biji jinten hitam pada berbagai suhu penyimpanan

pH Sediaan Formula 1 (NaCl 0,05 M, Tween 80 1%)									
Minggu ke-	Suhu Dingin (4±2°C)			Suhu Kamar (27-30°C)			Suhu Tinggi (40±2°C)		
	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata
0	5,20	5,20	5,20	5,20	5,20	5,20	5,20	5,20	5,20
2	5,20	4,98	5,09	4,98	5	4,99	5,18	4,97	5,08
4	5,54	5,50	5,52	4,71	5,02	4,87	-	-	-
6	5,30	5,43	5,37	4,71	5,06	4,89	-	-	-
8	5,55	5,66	5,61	5,77	5,46	5,62	-	-	-

pH Sediaan Formula 2 (Tween 1%)									
Minggu ke-	Suhu Dingin (4±2°C)			Suhu Kamar (27-30°C)			Suhu Tinggi (40±2°C)		
	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata
0	5,98	5,98	5,98	5,98	5,98	5,98	5,98	5,98	5,98
2	5,58	5,77	5,68	5,49	5,56	5,53	-	-	-
4	5,68	5,74	5,71	5,25	5,21	5,23	-	-	-
6	5,71	5,75	5,73	5,61	5,83	5,72	-	-	-
8	5,81	5,75	5,78	5,62	5,77	5,70	-	-	-

pH Sediaan Formula 3 (NaCl 0,05 %, Tween 80 2%)									
Minggu ke-	Suhu Dingin (4±2°C)			Suhu Kamar (27-30°C)			Suhu Tinggi (40±2°C)		
	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata
0	5,52	5,52	5,52	5,52	5,52	5,52	5,52	5,52	5,52
2	5,26	5,21	5,24	5,32	5,46	5,39	5,37	5,02	5,20
4	5,48	5,45	5,47	4,95	5,10	5,03	5,98	6,22	6,10
6	5,49	5,52	5,51	5,70	5,46	5,58	-	-	-
8	5,63	6,02	5,83	5,59	5,55	5,57	-	-	-

pH Sediaan Formula 4 (Tween 80 2%)									
Minggu ke-	Suhu Dingin (4±2°C)			Suhu Kamar (27-30°C)			Suhu Tinggi (40±2°C)		
	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata	A	B	Rata-rata
0	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77	5,77
2	5,48	5,74	5,61	5,20	5,27	5,24	-	-	-
4	5,65	5,79	5,72	5,15	5,19	5,17	-	-	-
6	5,96	5,70	5,83	5,41	5,71	5,56	-	-	-
8	5,97	5,81	5,89	5,47	5,78	5,63	-	-	-

Lampiran 23. Berat jenis emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam

Sampel	Berat Piknometer (gram)		Berat Jenis (gram/ml)
	Kosong	Berisi Sampel	
Air	13,6287	24,2256	0,9959486
Emulsi Ganda Formula 1 (NaCl 0,05 M, tween 80 1%)		24,2241	0,9929497
Emulsi Ganda Formula 2 (tween 80 1%)		24,0490	0,9765401
Emulsi Ganda Formula 3 (NaCl 0,05 M, tween 80 2%)		24,2529	0,9956487
Emulsi Ganda Formula 4 (tween 80 2%)		24,1776	0,9885920

Lampiran 24. Hasil *cycling test*

Sediaan	Awal Warna	Hasil Pengamatan		
		Setelah 6 siklus		
		Warna	Pemisahan	Kristal
Formula 1 (NaCl 0,05 M, Tween 80 1%)	Cokelat muda	Cokelat muda	(++)	-
Formula 2 (Tween 80 1%)	Cokelat muda (+)	Cokelat muda (+)	(+++)	-
Formula 3 (NaCl 0,05 M, Tween 80 2%)	Cokelat muda	Cokelat muda	(+)	-
Formula 4 (Tween 80 2%)	Cokelat muda (+)	Cokelat muda (+)	(+++)	-

Keterangan: Cokelat muda = *pantone® color bridge CMYK 1215 PC*
 Cokelat muda (+) = *pantone® color bridge CMYK 1225 PC*

Lampiran 25. Hasil uji mekanik (sentrifugasi)

Sediaan	Awal	Akhir
Formula 1 (NaCl 0,05 M, Tween 80 1%)	Homogen, tidak ada pemisahan fase	Terbagi menjadi 3 bagian (xanthan gum, air, protein kedelai), pemisahan fase
Formula 2 (Tween 80 1%)	Homogen, tidak ada pemisahan fase	Terbagi menjadi 3 bagian (xanthan gum, air, protein kedelai), pemisahan fase
Formula 3 (NaCl 0,05 M, Tween 80 2%)	Homogen, tidak ada pemisahan fase	Terbagi menjadi 3 bagian (xanthan gum, air, protein kedelai), pemisahan fase
Formula 4 (Tween 80 2%)	Homogen, tidak ada pemisahan fase	Terbagi menjadi 3 bagian (xanthan gum, air, protein kedelai), pemisahan fase

Lampiran 26. Hasil uji volume kriming selama 8 minggu penyimpanan

Sediaan	Awal	Akhir
Formula 1 (NaCl 0,05 M, Tween 80 1%)	Homogen	Tidak terjadi kriming
Formula 2 (Tween 80 1%)	Homogen	Tidak terjadi kriming
Formula 3 (NaCl 0,05 M, Tween 80 2%)	Homogen	Tidak terjadi kriming
Formula 4 (Tween 80 2%)	Homogen	Tidak terjadi kriming

Lampiran 27. Pengukuran aktivitas antioksidan minyak biji jinten hitam, sediaan komersial dalam kapsul lunak, dan *d- alpha tocopherol* 1300 UI dengan metode peredaman DPPH

Sediaan	Konsentrasi (ppm)	Serapan	% Inhibisi	Regresi Linear	IC50 (µg/ml)	IC50 rata-rata (µg/ml)
Minyak Jinten	0	0,8440	0		686,4782	726,4708
	200	0,7960	5,6872			
	400	0,7800	7,5829	$Y=2,3285+0,0138x$		
	800	0,7360	12,7962	$R=0,9996365$		
	1000	0,7060	16,3507			
	5000	0,2410	71,4455			
	0	0,8430	0			
	200	0,7980	5,3381			
	400	0,7810	7,3547	$Y=1,6636+0,0126x$		
	800	0,7720	8,4223	$R=0,997089$		
Sediaan komersial dalam kapsul lunak	0	0,7900	0		2544,8311	2508,3084
	300	0,7740	2,0253			
	400	0,7660	3,0380	$Y= 2,1138$		
	1000	0,7320	7,3418	$+0,0038x$		
	5000	0,6180	21,7722	$R= 0,997539$		
	10.000	0,4800	39,2405			
	0	0,7550	0			
	200	0,7510	0,5298	$Y=-0,2570+$		
	400	0,7450	1,3245	$0,0041x$		
	800	0,7340	2,7815	$R=0,9999418$		
<i>d- alpha tocopherol</i> 1300 UI	0	0,7900	0		7,5824	7,7093
	5	0,7010	11,2658	$Y=5,56266+$		
	10	0,6500	17,7215	$1,1721x$		
	20	0,5800	26,5823	$R= 0,9884285$		
	30	0,4360	44,8101			
	40	0,39100	50,5063			
	0	0,7860	0			
	5	0,7250	7,7608	$Y= 2,3468$		
	10	0,6720	14,5038	$+1,2163x$		
	20	0,5720	27,2264	$R= 0,9985363$		
30	0,4710	40,0763				
40	0,3940	49,8728				

Lampiran 28. Pengukuran aktivitas antioksidan emulsi ganda minyak biji jinten hitam dengan metode peredaman DPPH setelah 4 minggu

Sediaan Emulsi Ganda	Konsentrasi (ppm)	Serapan	% Inhibisi	Regresi Linear	IC50 (µg/ml)	IC50 rata-rata (µg/ml)
Formula I (NaCl 0,05M, Tween 1%)	0	0,7870	0	Y=2,8834+0,0052x R= 0,9997127	1823,2308	1860,1255
	4500	0,5820	26,0483			
	7500	0,4480	43,0750			
	9000	0,3870	50,8259			
	15000	0,1430	81,8297			
Formula II (Tween 1%)	0	0,7830	0	Y=4,4946+0,0048x R=0,9802259	1897,0202	2271,3313
	4500	0,6140	21,5837			
	7500	0,4250	45,7216			
	9000	0,3900	50,1916			
	15000	0,1970	74,8404			
Formula III (NaCl 0,05 M, Tween 2%)	0	0,7870	0	Y=1,5052+0,0042x R= 0,9999101	2326,9894	2220,0732
	4500	0,6240	20,7116			
	7500	0,5280	32,9098			
	9000	0,4790	39,1360			
	15000	0,2770	64,8030			
Formula IV (Tween 2%)	0	0,7830	0	Y=0,3168+0,0045x R= 0,99981044	2215,6731	2766,9592
	4500	0,6160	21,3282			
	7500	0,5110	34,7382			
	9000	0,4610	41,1239			
	15000	0,2390	69,4764			
Formula V (Tween 2%)	0	0,7750	0	Y=1,1935+0,0044x R= 0,9999843	2200,6225	2799,5774
	4500	0,6090	21,4194			
	7500	0,5020	35,2258			
	9000	0,4510	41,8065			
	15000	0,2410	68,9032			
Formula VI (Tween 2%)	0	0,7980	0	Y=4,6655+0,0040x R=0,9978578	2239,5238	2734,3409
	4500	0,6210	22,1804			
	7500	0,5050	36,7168			
	9000	0,4770	40,2256			
	15000	0,2770	65,2882			
Formula VII (Tween 2%)	0	0,7750	0	Y=0,6947+0,0035x R= 0,9998632	2799,5774	2766,9592
	4500	0,6450	16,7742			
	7500	0,5620	27,4839			
	9000	0,5250	32,2581			
	15000	0,3560	54,0645			
Formula VIII (Tween 2%)	0	0,7830	0	Y=1,0634+0,0034x R=0,9996661	2734,3409	2766,9592
	4500	0,6450	17,6245			
	7500	0,5660	27,7139			
	9000	0,5160	34,0996			
	15000	0,3480	55,5556			

Lampiran 29. Pengukuran aktivitas antioksidan emulsi ganda minyak biji jinten hitam dengan metode peredaman DPPH setelah 8 minggu

Sediaan	Konsentrasi (ppm)	Serapan	% Inhibisi	Regresi Linear	IC50 (µg/ml)	IC50 rata-rata (µg/ml)
Formula I (NaCl 0,05M, Tween 1%)	0	0,7690	0			2102,6764
	4500	0,6110	20,5462	Y=-	2066,6768	
	7500	0,4900	36,2809	1,6480+0,0050x		
	9000	0,4360	43,3030	R= 0,9998980		
	15000	0,2060	73,2120			
0	0,7790	0				
Formula II (Tween 1%)	4500	0,6260	19,6406	Y=-2,6908+	2138,6760	2669,2883
	7500	0,5110	34,4031	0,0049x		
	9000	0,4580	41,2067	R= 0,9999051		
	15000	0,2230	71,3736			
	0	0,7840	0			
Formula III (NaCl 0,05M, Tween 80 2%)	4500	0,6930	11,6071	Y=-	2684,4326	2232,4551
	7500	0,6190	21,0459	10,4911+,0045x		
	9000	0,5510	29,7194	R=0,9961559		
	15000	0,3300	57,9082			
	0	0,7840	0			
Formula IV (Tween 80 2%)	4500	0,6510	16,9643	Y= -	2654,1439	2840,0476
	7500	0,6030	23,0867	2,9265+0,0030x		
	9000	0,5140	34,4388	R=0,9887085		
	15000	0,3340	57,3800			
	0	0,7790	0			
Formula V (Tween 80 2%)	4500	0,6280	19,3838	Y=0,1036+0,0043x	2303,7989	2840,0476
	7500	0,5240	32,7343	R= 0,9999463		
	9000	0,4730	39,2811			
	15000	0,2730	64,9551			
	0	0,7810	0			
Formula VI (Tween 80 2%)	4500	0,6220	20,3585	Y= -	2161,1112	2840,0476
	7500	0,5050	35,3393	0,7658+0,0047x		
	9000	0,4650	40,4609	R=0,9992599		
	15000	0,2350	69,9104			
	0	0,8050	0			
Formula VII (Tween 80 2%)	4500	0,6840	15,0311	Y= 1,9757	2842,0821	2840,0476
	7500	0,5730	28,8199	+0,0038x		
	9000	0,5290	34,2857	R=0,9911374		
	15000	0,3910	51,4286			
	0	0,8050	0			
Formula VIII (Tween 80 2%)	4500	0,6790	15,6521	Y= -0,3513	2838,0132	2840,0476
	7500	0,5930	26,3354	+0,0035x		
	9000	0,5520	31,4286	R=9999776		
	15000	0,3790	52,9193			
	0	0,8050	0			

Lampiran 30. Perhitungan HLB minyak biji jinten hitam

Komposisi asam lemak minyak jinten hitam:

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%
Total asam lemak	99,97%

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

>> HLB butuh masing-masing asam lemak:

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

HLB masing-masing asam lemak dalam minyak jinten hitam:

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

Jadi, HLB minyak biji jinten hitam kurang lebih sebesar 17,50

Lampiran 31. Perhitungan diameter globul rata-rata

Formula 1: Emulsi ganda dengan Tween 80 (eksternal) 1% dan NaCl 0,05M

t = minggu ke-0

T= 27±2°C

n=95

k= 1+ 3,322log95=7,5700 = 8

Globul Eksternal

$$I = \frac{17,5-5}{8} = 1,5625 = 1,56 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	5,00 - 6,56	5,78	28	161,84
2	6,57 - 8,13	7,35	35	257,25
3	8,14 - 9,70	8,92	8	71,36
4	9,71 - 11,27	10,49	15	157,35
5	11,28 - 12,84	12,06	4	48,24
6	12,85 - 14,41	13,72	1	13,72
7	14,42 - 15,98	15,20	3	45,6
8	15,99 - 17,55	16,77	1	16,77
Jumlah (Σ)				772,13

Globul Internal

$$I = \frac{10-1,25}{8} = 1,0938 = 1,09 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	1,25 - 2,34	1,795	34	61,03
2	2,35 - 3,44	2,895	48	138,96
3	3,45 - 4,54	3,995	8	31,96
4	4,55 - 5,64	5,095	3	15,285
5	5,65 - 6,74	6,195	1	6,195
6	6,75 - 7,84	7,295	0	0
7	7,85 - 8,94	8,395	0	0
8	8,95 - 10,04	9,495	1	9,495
Jumlah (Σ)				262,925

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{772,13}{95} = 8,1277 = 8,13 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{262,925}{95} = 2,7676 = 2,77 \mu\text{m}$$

Formula 2: Emulsi ganda dengan Tween 80 (eksternal) 1%

t = minggu ke-0

T= 27±2°C

n=95

k= 1+ 3,322log95=7,5700 = 8

Globul Eksternal

$$I = \frac{25-3,125}{8} = 2,7344 = 2,73 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	3,13 - 5,86	4,49	21	94,34
2	5,87 - 8,60	7,24	49	354,59
3	8,61 - 11,35	9,98	19	189,64
4	11,36 - 14,09	12,73	1	12,73
5	14,10 - 16,84	15,47	2	30,94
6	16,85 - 19,58	18,21	2	36,43
7	19,59 - 22,33	20,96	0	0
8	22,34 - 25,07	23,70	1	23,70
Jumlah (Σ)				772,13

Globul Internal

$$I = \frac{7,5-1,25}{8} = 0,78125 = 0,78 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	1,25 - 2,03	1,64	24	39,36
2	2,04 - 2,82	2,43	61	148,23
3	2,83 - 3,61	3,22	1	3,22
4	3,62 - 4,40	4,01	4	16,04
5	4,41 - 5,19	4,8	2	9,6
6	5,20 - 5,98	5,59	1	5,59
7	5,99 - 6,77	6,38	0	0
8	6,78 - 6,78	7,17	2	14,34
Jumlah (Σ)				236,38

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{772,13}{95} = 7,8144 = 7,81 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{236,38}{95} = 2,4882 = 2,49 \mu\text{m}$$

(lanjutan)

Formula 3: Emulsi ganda dengan Tween 80 (eksternal) 2 % dan NaCl 0,05M

t = minggu ke-0

T= 27±2°C

n=95

k= 1+ 3,322log95=7,5700 = 8

Globul Eksternal

$$I = \frac{12,5-2,5}{8} = 1,25 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	2,50 – 3,75	3,125	11	34,375
2	3,76 – 5,01	4,385	43	188,555
3	5,02 – 6,27	5,645	15	84,675
4	6,28 – 7,53	6,905	19	131,195
5	7,54 – 8,79	8,165	4	32,66
6	8,80 – 10,05	9,425	2	18,85
7	10,06 – 11,31	10,685	0	0
8	11,32 – 12,57	23,70	1	11,945
Jumlah (Σ)			95	502,255

Globul Internal

$$I = \frac{5-1,25}{8} = 0,4688 = 0,47 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	1,25 – 1,72	1,485	30	44,55
2	1,73 – 2,20	1,965	27	53,055
3	2,21 – 2,68	2,445	27	66,015
4	2,69 – 3,16	2,925	6	17,55
5	3,17 – 3,64	3,405	0	0
6	3,65 – 4,12	3,885	3	11,655
7	4,13 – 4,60	4,365	0	0
8	4,61 – 5,08	4,845	2	9,69
Jumlah (Σ)			95	236,38

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{502,255}{95} = 5,2869 = 5,29 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{236,38}{95} = 2,1317 = 2,13 \mu\text{m}$$

Formula 4: Emulsi ganda dengan Tween 80 (eksternal) 2%

t = minggu ke-0

T= 27±2°C

n=95

k= 1+ 3,322log95=7,5700 = 8

Globul Eksternal

$$I = \frac{17,5-2,5}{8} = 1,8750 = 1,88 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	2,50 – 4,38	3,44	4	13,76
2	4,39 – 6,27	5,33	33	175,89
3	6,28 – 8,16	7,22	29	209,38
4	8,17 – 10,05	9,11	15	136,65
5	10,06 – 11,94	11,00	2	22,00
6	11,95 – 13,83	12,89	6	77,34
7	13,84 – 15,72	14,78	4	59,12
8	15,73 – 17,61	16,67	2	33,34
Jumlah (Σ)			95	727,48

Globul Internal

$$I = \frac{7,5-0,625}{8} = 0,8594 = 0,86 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	0,63 - 1,49	1,06	28	29,68
2	1,5 – 2,36	1,93	18	34,74
3	2,37 – 3,23	2,80	34	95,20
4	3,24 – 4,10	3,67	10	36,70
5	4,11 – 4,97	4,54	1	4,54
6	4,98 – 5,84	5,41	2	10,82
7	5,85 – 6,71	6,28	1	6,28
8	6,72 – 7,58	7,15	1	7,15
Jumlah (Σ)			95	225,11

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{727,48}{95} = 7,6577 = 7,66 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{225,11}{95} = 2,3696 = 2,37 \mu\text{m}$$

(lanjutan)

Formula 1: Emulsi ganda dengan Tween 80 (eksternal) 1% dan NaCl 0,05M

t = minggu ke-8

T= 27±2°C

n=50

k= 1+ 3,322log50=6,64=7

Globul Eksternal

$$I = \frac{12,5-4,38}{7} = 1,1607 = 1,16 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	4,38 - 5,54	5,27	20	105,4
2	5,55 - 6,71	6,63	18	119,34
3	6,72 - 7,88	7,30	7	51,1
4	7,89 - 9,05	9,055	2	18,11
5	9,06 - 10,22	11,31	2	22,62
6	10,23 - 11,39	10,81	0	0
7	11,40 - 12,56	11,98	1	11,98
Jumlah (Σ)			50	328,55

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{328,55}{50} = 6,5710 = 6,57 \mu\text{m}$$

Globul Internal

$$I = \frac{5-0,625}{7} = 0,625 = 0,63 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	0,63 - 1,26	0,945	25	23,625
2	1,27 - 1,90	1,585	11	17,435
3	1,91 - 2,54	2,225	8	17,8
4	2,55 - 3,18	2,865	3	8,595
5	3,19 - 3,82	3,505	1	3,505
6	3,83 - 4,46	4,145	1	4,145
7	4,47 - 5,10	4,785	1	4,785
Jumlah (Σ)			50	79,89

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{79,89}{50} = 1,5978 = 1,60 \mu\text{m}$$

Formula 2: Emulsi ganda dengan Tween 80 (eksternal) 1%

t = minggu ke-8

T= 27±2°C

n=50

k= 1+ 3,322log50=6,64 =7

Globul Eksternal

$$I = \frac{15-4,375}{7} = 1,5179 = 1,52 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	4,38 - 5,90	5,14	25	128,5
2	5,91 - 7,43	6,67	1	6,67
3	7,44 - 8,96	8,20	15	123
4	8,97 - 10,49	9,73	6	58,38
5	10,50 - 12,02	11,26	0	0
6	12,03 - 13,55	12,79	1	12,79
7	13,56 - 15,09	14,32	1	14,32
Jumlah (Σ)			50	359,51

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{359,51}{50} = 7,1902 = 7,19 \mu\text{m}$$

Globul Internal

$$I = \frac{4,375-0,625}{7} = 0,5357 = 0,54 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	0,63 - 1,17	0,90	18	16,20
2	1,18 - 1,72	1,45	14	20,30
3	1,73 - 2,27	2,00	8	16,00
4	2,28 - 2,82	2,55	6	15,3
5	2,83 - 3,37	3,10	3	9,30
6	3,38 - 3,92	3,65	0	0
7	3,93 - 4,47	4,20	1	4,20
Jumlah (Σ)			50	81,30

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{81,30}{50} = 1,6260 = 1,63 \mu\text{m}$$

(lanjutan)

Formula 3: Emulsi ganda dengan Tween 80 (eksternal) 2 % dan NaCl 0,05M

t = minggu ke-8

T= 27±2°C

n=50

k= 1+ 3,322log50=6.64 = 7

Globul Eksternal

$$I = \frac{12,5 - 3,75}{7} = 1,25 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	3,75 – 5,00	4,375	29	126,875
2	5,01 – 6,26	5,635	11	61,985
3	6,27 – 7,52	6,895	4	27,58
4	7,53 – 8,78	8,155	2	16,31
5	8,79 – 10,04	9,415	3	28,245
6	10,05 – 11,3	10,675	0	0
7	11,31 – 12,56	11,935	1	11,935
Jumlah (Σ)			50	272,93

Globul Internal

$$I = \frac{3,75 - 0,625}{7} = 0,4464 = 0,45 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	0,63 – 1,08	0,855	9	7,695
2	1,09 – 1,54	1,315	22	28,93
3	1,55 – 2,00	1,775	11	19,525
4	2,01 – 2,46	2,235	0	0
5	2,47 – 2,92	2,695	7	18,865
6	2,93 – 3,38	3,155	0	0
7	3,39 – 3,84	3,615	1	3,615
Jumlah (Σ)			50	78,63

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{272,93}{50} = 5,4586 = 5,46 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{78,63}{50} = 1,5726 = 1,57 \mu\text{m}$$

Formula 4: Emulsi ganda dengan Tween 80 (eksternal) 2%

t = minggu ke-8

T= 27±2°C

n=50

k= 1+ 3,322log50=6.64 =7

Globul Eksternal

$$I = \frac{20 - 4,375}{7} = 2,2321 = 2,23 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	4,38 – 6,61	5,495	16	87,92
2	6,62 – 8,85	7,735	23	177,905
3	8,86 – 11,09	9,975	8	79,8
4	11,10 – 13,33	12,215	2	24,43
5	13,34 – 15,57	14,455	0	0
6	15,58 – 17,81	16,695	0	0
7	17,82 – 22,29	18,935	1	18,935
Jumlah (Σ)			95	388,99

Globul Internal

$$I = \frac{5 - 0,625}{7} = 0,625 = 0,63 \mu\text{m}$$

No	Rentang (μm)	Nilai Tengah/d (μm)	n	n×d
1	0,63 – 1,26	0,945	19	17,955
2	1,27 – 1,90	1,585	16	25,36
3	1,91 – 2,54	2,225	12	26,7
4	2,55 – 3,18	2,865	2	5,73
5	3,19 – 3,82	3,505	0	0
6	3,83 – 4,46	4,145	0	0
7	4,47 – 5,1	4,785	1	4,785
Jumlah (Σ)			50	80,53

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{388,99}{50} = 7,7798 = 7,78 \mu\text{m}$$

$$d \text{ rata-rata} = \frac{\Sigma n \times d}{\Sigma n} = \frac{80,53}{50} = 1,6106 = 1,61 \mu\text{m}$$

Lampiran 32 Contoh Perhitungan Persentase Inhibisi Aktivitas Antioksidan Menggunakan Metode Peredaman DPPH

% penghambatan atau inhibisi dapat dihitung dengan menggunakan rumus :

$$\% \text{ inhibisi} = \text{serapan kontrol} - \text{serapan sampel} \times 100\%$$

serapan kontrol

Serapan DPPH kontrol pada 520 nm = 0,8440

Sampel 1

Serapan = 0,2410

$$\% \text{ inhibisi} = 0,8440 - 0,2410 \times 100\% = 71,4455\%$$

Lampiran 33. Cara Perhitungan Bobot Jenis

Bobot jenis emulsi ganda diukur dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Bobot jenis} = \text{Bobot Jenis} = \frac{A_2 - A}{A_1 - A} \times \rho_{\text{air } 29^\circ\text{C}}$$

A = Bobot piknometer kering (gram)

A1 = Bobot piknometer yang diisi dengan aquademineralisata (gram)

A2 = Bobot piknometer yang diisi dengan emulsi ganda (gram)

$\rho_{\text{air (suhu } 29^\circ\text{C)}} = 0,9959486 \text{ g/ml}$ (Lide & Heynes, 2010)

Diketahui :

A = 13,6287 gram

A1 = 24,2561 gram

A2 = 24,2241 gram

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

$$\text{Bobot jenis emulsi ganda} = \text{Bobot Jenis} = \frac{24,2241 - 13,6287}{24,2561 - 13,6287} \times 0,9959486 \text{ g/ml}$$

$$\text{Bobot jenis emulsi ganda} = 0,99294971 \text{ g/ml}$$

Lampiran 34. Uji willcoxon pH formula emulsi ganda tipe W/O/W minyak biji jinten hitam pada suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$) dan suhu ruang ($27-30^\circ\text{C}$) selama 8 minggu

Tujuan: untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan pH Emulsi Ganda Tipe W/O/W minyak biji jinten hitam setelah penyimpanan suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$) .

Hipotesis:

H_0 : tidak ada perbedaan pH yang signifikan pada emulsi ganda tipe WOW minyak biji jinten hitam selama penyimpanan 8 minggu pada suhu rendah

H_1 : ada perbedaan nilai pH yang signifikan pada emulsi ganda tipe WOW minyak biji jinten hitam setelah penyimpanan selama 8 minggu pada suhu rendah.

Taraf nyata: $\frac{1}{2} \alpha = 0,025$

Kriteria pengujian: Jika signifikansi $< 0,025$; maka H_0 ditolak

Jika signifikansi $> 0,025$; maka H_0 diterima

Test Statistics ^{a,b}				
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4
Chi-Square	8,609	6,101	8,609	4,939
df	4	4	4	4
Asymp. Sig.	,072	,192	,072	,294

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Minggu

Keseluruhan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) untuk formula 1, formula 2, formula 3, dan formula 4 terhadap minyak biji jinten hitam berturut-turut (0,072); (0,192); (0,072) dan (0,294) $> \frac{1}{2} \alpha$ (0,025), maka H_0 diterima. Jadi, tidak ada perbedaan pH yang signifikan dari masing-masing formula 1, 2, 3, dan 4 selama penyimpanan 8 minggu suhu rendah ($4\pm 2^\circ\text{C}$) di setiap minggunya.

(lanjutan)

Tujuan: untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan pH Emulsi Ganda Tipe WOW minyak biji jinten hitam setelah penyimpanan suhu kamar (27-30° C) .

Hipotesis:

Ho : tidak ada perbedaan pH yang signifikan pada emulsi ganda tipe WOW minyak biji jinten hitam selama penyimpanan 8 minggu pada suhu kamar

H1 : ada perbedaan nilai pH yang signifikan pada emulsi ganda tipe WOW minyak biji jinten hitam setelah penyimpanan selama 8 minggu pada suhu kamar.

Taraf nyata: $\frac{1}{2} \alpha = 0,025$

Kriteria pengujian: Jika signifikansi $< 0,025$; maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,025$; maka Ho diterima

Test Statistics ^{a,b}				
	Formula 1	Formula 2	Formula 3	Formula 4
Chi-Square	7,095	8,341	7,095	7,793
df	4	4	4	4
Asymp. Sig.	,131	,080	,131	,099

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Minggu

Keseluruhan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) untuk formula 1, formula 2, formula 3, dan formula 4 terhadap minyak biji jinten hitam berturut-turut (0,131); (0,080); (0,131) dan (0,099) $> \frac{1}{2} \alpha$ (0,025), maka Ho diterima. Jadi, tidak ada perbedaan pH yang signifikan dari masing-masing formula 1, 2, 3, dan 4 selama penyimpanan 8 minggu suhu kamar (27-30°C) di setiap minggunya.

Lampiran 35. Uji willcoxon IC_{50} formula emulsi ganda WOW minyak biji jinten hitam setelah penyimpanan suhu ruang (27-30°C) pada minggu ke-4 dan ke-8

Tujuan: untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dari IC_{50} Emulsi Ganda Tipe WOW Minyak Biji Jinten Hitam Setelah Penyimpanan Suhu Ruang.

Hipotesis:

H_0 : tidak ada perbedaan nilai IC_{50} yang signifikan pada emulsi ganda tipe WOW minyak biji jinten hitam setelah penyimpanan suhu ruang

H_1 : ada perbedaan nilai IC_{50} yang signifikan pada Emulsi ganda tipe WOW minyak biji jinten hitam setelah penyimpanan minggu ke-4 dan ke-8 pada suhu ruang (27-30°C)

Taraf nyata: $\frac{1}{2} \alpha = 0,025$

Kriteria pengujian: Jika signifikansi $< 0,025$; maka H_0 ditolak

Jika signifikansi $> 0,025$; maka H_0 diterima

Test Statistics ^b	
	Minggu ke-8 - Minggu ke-4
Z	-2,028 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	,043

a. Based on negative ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

Keseluruhan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) keseluruhan formula minggu ke-4 dan minggu ke-8 (0,043) $> \frac{1}{2} \alpha$ (0,025), maka H_0 diterima. Jadi, tidak ada perbedaan nilai IC_{50} yang signifikan dari keseluruhan formula setelah penyimpanan minggu ke-4 dan ke-8 pada suhu ruang (27-30°C)

Lampiran 36. Hasil data kuesioner kesukaan sampel emulsi ganda minyak biji jinten hitam dan minyak biji jinten hitam

Sediaan*Penampilan Crosstab

Count		Penampilan							Total
		sangat tidak suka	tidak suka	agak tidak suka	netral	agak suka	suka	sangat suka	
Sampel	Formula 1	0	1	0	4	6	7	2	20
	Formula 2	0	1	3	3	5	6	2	20
	Formula 3	0	1	4	1	6	8	0	20
	Formula 4	0	0	2	4	5	8	1	20
	Minyak Biji Jinten Hitam	1	4	0	4	2	7	2	20
	Total		1	7	9	16	24	36	7

Sediaan*Aroma Crosstab

Count		Aroma							Total
		sangat tidak suka	tidak suka	agak tidak suka	netral	agak suka	suka	sangat suka	
Sampel	Formula 1	1	4	4	6	1	4	0	20
	Formula 2	2	0	4	6	5	2	1	20
	Formula 3	1	1	6	4	5	3	0	20
	Formula 4	0	6	7	2	4	1	0	20
	Minyak Biji Jinten Hitam	3	11	3	0	1	2	0	20
	Total		7	22	24	18	16	12	1

Sediaan*Rasa Crosstab

Count		Rasa							Total
		sangat tidak suka	tidak suka	agak tidak suka	netral	agak suka	suka	sangat suka	
Sampel	Formula 1	5	1	5	3	4	2	0	20
	Formula 2	2	2	4	2	6	3	1	20
	Formula 3	1	2	10	3	2	2	0	20
	Formula 4	1	6	6	4	2	1	0	20
	Minyak Biji Jinten Hitam	9	7	1	2	1	0	0	20
	Total		18	18	26	14	15	8	1

Lampiran 37. Uji distribusi normal kolmogorov-smirnov terhadap nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa sampel

Tujuan : mengetahui distribusi data penilaian kesukaan penampilan, aroma, dan rasa dari semua sampel

Hipotesis:

Ho = Sampel berdistribusi normal

H1= Sampel tidak berdistribusi normal

Taraf nyata: $\frac{1}{2} \alpha = 0,025$

Kriteria pengujian: Jika signifikansi $< 0,025$; maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,025$; maka Ho diterima

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test				
		Penampilan	Aroma	Rasa
N		100	100	100
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	4,91	3,54	3,18
	Std. Deviation	1,401	1,514	1,585
Most Extreme Differences	Absolute	,212	,169	,165
	Positive	,148	,169	,165
	Negative	-,212	-,123	-,115
Kolmogorov-Smirnov Z		2,118	1,694	1,652
Asymp. Sig. (2-tailed)		,000	,006	,009

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Keseluruhan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) untuk penampilan, aroma, dan rasa berturut-turut (0,000); (0,006); dan (0,009) $< \frac{1}{2} \alpha$ (0,025), maka Ho ditolak. Jadi, sampel berdistribusi tidak normal.

Lampiran 38. Uji homogenitas varian lavene terhadap nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa sampel

Tujuan : mengetahui homogenitas variasi kesukaan penampilan, aroma, dan rasa semua sampel

Hipotesis:

Ho = Variasi pada tiap kelompok sama (homogen)

H1= Variasi pada tiap kelompok tidak sama (tidak homogen)

Taraf nyata: $\alpha = 0,05$

(lanjutan)

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

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

Test of Homogeneity of Variance					
		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Penampilan	Based on Mean	2,653	4	95	,038
	Based on Median	1,972	4	95	,105
	Based on Median and with adjusted df	1,972	4	84,469	,106
	Based on trimmed mean	2,495	4	95	,048
Aroma	Based on Mean	,128	4	95	,972
	Based on Median	,380	4	95	,823
	Based on Median and with adjusted df	,380	4	83,502	,822
	Based on trimmed mean	,172	4	95	,952
Rasa	Based on Mean	2,245	4	95	,070
	Based on Median	2,041	4	95	,095
	Based on Median and with adjusted df	2,041	4	91,385	,095
	Based on trimmed mean	2,199	4	95	,075

Karena signifikansi berdasarkan rata-rata (*based on mean*) penampilan, aroma, dan rasa berturut-turut (0,839); (0,250); dan (0,295) $> \alpha$ (0,05), maka H_0 diterima. Jadi, variasi pada tiap kelompok sama (homogen)

Lampiran 39. Hasil uji kruskal-wallis terhadap nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa formula

Tujuan: untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dari nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa terhadap semua formula

Hipotesis:

H_0 = tidak ada perbedaan nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa yang signifikan terhadap semua formula

H_1 = ada perbedaan nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa yang signifikan terhadap semua formula

Taraf nyata: $\alpha = 0,05$

(lanjutan)

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

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

Ranks			
	Formula	N	Mean Rank
Penampilan	Formula 1	20	43,60
	Formula 2	20	39,05
	Formula 3	20	37,67
	Formula 4	20	41,68
	Total	80	
Aroma	Formula 1	20	38,98
	Formula 2	20	46,05
	Formula 3	20	44,20
	Formula 4	20	32,78
	Total	80	
Rasa	Formula 1	20	38,42
	Formula 2	20	48,43
	Formula 3	20	39,98
	Formula 4	20	35,17
	Total	80	

Test Statistics^{a,b}			
	Penampilan	Aroma	Rasa
Chi-Square	,842	4,111	3,710
df	3	3	3
Asymp. Sig.	,839	,250	,295

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Formula

Karena signifikansi penampilan, aroma, dan rasa berturut-turut (0,839); (0,250); dan (0,295) $> \alpha$ (0,05), maka H_0 diterima. Jadi, tidak ada perbedaan nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa yang signifikan terhadap semua formula.

Formula dengan nilai *mean ranks* yang tertinggi menunjukkan formula dengan nilai kesukaan yang tertinggi pula. Formula 1 memiliki penampilan yang paling disukai, sedangkan Formula 2 memiliki aroma dan rasa yang paling disukai.

Lampiran 40. Uji willcoxon dari nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa semua formula terhadap kontrol minyak biji jinten hitam

Tujuan: untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan dari nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa semua formula terhadap kontrol minyak biji jinten hitam.

Hipotesis:

Ho : tidak ada perbedaan nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa yang signifikan dari formula terhadap kontrol minyak biji jinten hitam

H1 : ada perbedaan nilai kesukaan penampilan, aroma, dan rasa yang signifikan dari formula terhadap kontrol minyak biji jinten hitam.

Taraf nyata: $\frac{1}{2} \alpha = 0,025$

Kriteria pengujian: Jika signifikansi $< 0,025$; maka Ho ditolak

Jika signifikansi $> 0,025$; maka Ho diterima

Penampilan

	Test Statistics ^b			
	Formula 1 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 2 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 3 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 4 – Minyak Biji Jinten Hitam
Z	-1,592 ^a	-,704 ^a	-,463 ^a	-1,686 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	,111	,481	,643	,092

a. Based on negative ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

Keseluruhan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) untuk formula 1, formula 2, formula 3, dan formula 4 terhadap minyak biji jinten hitam berturut-turut (0,111); (0,481); (0,643) dan (0,092) $> \frac{1}{2} \alpha$ (0,025), maka Ho diterima. Jadi, tidak ada perbedaan nilai kesukaan penampilan yang signifikan dari formula terhadap kontrol minyak biji jinten hitam.

Aroma

	Test Statistics ^b			
	Formula 1 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 2 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 3 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 4 – Minyak Biji Jinten Hitam
Z	-2,416 ^a	-2,802 ^a	-2,448 ^a	-1,724 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	,016	,005	,014	,085

a. Based on negative ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

(lanjutan)

Keseluruhan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) untuk formula 1, formula 2, dan formula 3 terhadap minyak biji jinten hitam berturut-turut (0,016); (0,005); (0,014) < $\frac{1}{2} \alpha$ (0,025), maka H_0 ditolak. Sedangkan untuk formula 4 terhadap minyak biji jinten hitam memiliki signifikansi (0,085) > $\frac{1}{2} \alpha$ (0,025), maka H_0 diterima. Jadi, terhadap kontrol minyak biji jinten hitam untuk formula 1, formula 2, dan formula 3 terdapat perbedaan nilai kesukaan aroma yang signifikan sedangkan pada formula 4 tidak ada perbedaan nilai kesukaan aroma.

Rasa

	Test Statistics ^b			
	Formula 1 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 2 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 3 – Minyak Biji Jinten Hitam	Formula 4 – Minyak Biji Jinten Hitam
Z	-2,838 ^a	-3,568 ^a	-2,889 ^a	-2,522 ^a
Asymp. Sig. (2-tailed)	,005	,000	,004	,012

a. Based on negative ranks.

b. Wilcoxon Signed Ranks Test

Keseluruhan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) untuk formula 1, formula 2, formula 3, dan formula 4 terhadap minyak biji jinten hitam berturut-turut (0,005); (0,000); (0,004) dan (0,012) < $\frac{1}{2} \alpha$ (0,025), maka H_0 ditolak. Jadi, ada perbedaan nilai kesukaan rasa yang signifikan dari seluruh formula terhadap kontrol minyak biji jinten hitam.

Lampiran 41. Lembar penilaian uji hedonik emulsi ganda minyak biji jinten hitam

**LEMBAR PENILAIAN UJI HEDONIK
EMULSI GANDA MINYAK BIJI JINTEN HITAM**

Nama Panelis : _____ **Tanggal:** _____
Jenis Kelamin : Lk / Pr

1. Anda akan menerima 4 (empat) sampel, terdiri dari sampel A, B, C, D, dan E.
2. Cobalah sampel A terlebih dahulu, kemudian diikuti sampel B, C, D, dan E. Sebelum mencoba tiap sampel, netralkanlah mulut Anda dengan meminum air putih yang telah tersedia.
3. Tuang sampel ke sendok yang telah disediakan dan masukkan sampel yang akan dicoba ke dalam mulut dan diamkan selama 10 detik.
4. Beri nilai pada parameter rasa, aroma, dan penampilan sampel tersebut pada kolom yang telah disediakan dengan memberikan tanda \surd pada nilai yang dimaksud.

Spesifikasi	Nilai	Penampilan				
		Sampel A	Sampel B	Sampel C	Sampel D	Sampel E
Sangat Suka	7					
Suka	6					
Agak Suka	5					
Netral	4					
Agak Tidak Suka	3					
Tidak Suka	2					
Sangat Tidak Suka	1					



Spesifikasi	Nilai	Aroma				
		Sampel A	Sampel B	Sampel C	Sampel D	Sampel E
Sangat Suka	7					
Suka	6					
Agak Suka	5					
Netral	4					
Agak Tidak Suka	3					
Tidak Suka	2					
Sangat Tidak Suka	1					

Spesifikasi	Nilai	Rasa				
		Sampel A	Sampel B	Sampel C	Sampel D	Sampel E
Sangat Suka	7					
Suka	6					
Agak Suka	5					
Netral	4					
Agak Tidak Suka	3					
Tidak Suka	2					
Sangat Tidak Suka	1					

Komentar:

TTD Panelis

Lampiran 42. Sertifikat analisis minyak biji jinten hitam

 <p>Kementerian Perindustrian REPUBLIC 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 Pengujian 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 : 17 April 2012 <i>date of issue</i></p>
--	---

Yang bertanda tangan dibawah ini menerangkan, bahwa hasil pengujian
The undersigned artis 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
Pengujian 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 43. Sertifikat analisis tween 80


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



Apoteker
SIK 3836/B

HEAD OFFICE : Jl. Cikarang Barat No.78, Jakarta Pusat 10150, Telp. (021) 3522733 (hunting) Fax. : (021) 3522734, E-mail : bioetek@brataco.com
 BRANCH OFFICE :
 • JAKARTA : Jl. Mangga 944er V No.6, Jakarta 11180 Telp. (021) 8290113 (hunting 3 lines) Fax. (021) 6292430
 • BANDUNG : Jl. Boulevard Raya Blok 7B2 No. 8, Jakarta 14240 Telp. (021) 4564890-04 Fax. (021) 4522615
 • SEMARANG : Jl. Kolombeng No. 8, Bandung Telp. (022) 8077128, 8030808 Fax. (022) 8031979
 • YOGYA : Jl. Tanah Abang Jakarta No. 770, Bandung Telp. (022) 7101277, 7810308-309 Fax. (022) 7216310
 • SURABAYA : Jl. Brigjen. Katarno No. 18 Telp. (034) 8415372, 8419979 Fax. (034) 8414990
 • MEDAN : Jl. Bhevanokara No. 45, Yogyo Telp. (0274) 843348, 8153390 Fax. (0274) 843348
 SUB BRANCH OFFICE : TANGERANG, BOGOR, CIKARANG, CIREBON, TASIKMALAYA, SOLO, PURWOKERTO, TEGAL, MALANG, SIDOARJO, DENPASAR, PALEMBANG, MAKASSAR
 Jl. Iskandar Muda no. 40 B, Medan Telp. (061) 4148272, 4823169 Fax. (061) 4825968

The Nationwide Chemicals and Ingredients Distributor

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

Lampiran 44. Sertifikat analisis xanthan gum

Cargill

Cargill Bioengineering (Zibo) Co., Ltd
 1162 Industrial Road, HuanTai
 Zibo, Shandong Province
 P. R. China 256400
 Tel: (86) 533 7971000
 Fax: (86) 533 7971007

CERTIFICATE OF ANALYSIS


Product: Xanthan Gum, VersaGum™ 80
 Manufacture Date: Jan.22,2011 Expiry Date: Jan.21,2013
 Package: 25.0 kg/carton Lot No.: 1101220303

Item	Results	Specification Limits
Appearance	conforms	White to cream colored powder
Viscosity Test (50X ± 1% KCl 75oF Brookfield LRV No 3 Spindle 60 rpm), V1/V2 test	1442 mPa.s 1.09	1200-1600 mPa.s 1.02-1.45
Loss on Drying V1 1% XG + 1% KCl 75 oF; Brookfield LRV No 3 Spindle 60 rpm V2: Hl. At 150 oF	14.0%	≤14%
Heavy Metals	≤20 ppm	≤20 ppm
Pb	≤2 ppm	≤2 ppm
As	≤2 ppm	≤2 ppm
Ethanol or Isopropanol	≤ 500 ppm	≤500 ppm
pH(1% solution)	6.0	6.0 - 8.0
Pyruvic Acid	≥ 1.5%	≥ 1.5%
Granulation, %		
Sieve #60 (250 micron)	100%	100% minimum
Sieve #80 (177 micron)	95.0%	95% minimum
Total Plate Count	190 cfu/g	≤2000 cfu/g
Yeast	Not detected	≤100 cfu/g
Mould	50 cfu/g	≤100 cfu/g
Coliform	Negative	Negative in 1 g
E. Coli	Negative	Negative in 25 g
Salmonella	Negative	Negative in 25 g
Pseudomonas aeruginosa	conforms	Negative in 1 g
Staphylococcus aureus	conforms	Negative in 1 g

VersaGum 80 complies with the FCC (VI) xanthan gum identification tests (locust bean gum and pyruvic acid)

Date: Jan.29,2011 Quality Control Manager: *[Signature]*

Lampiran 45. Sertifikat analisis *d-alpha tocopherol* 1300 UI

 <p>BASF The Chemical Company</p>	<p>Certificate of Analysis BASF Corporation</p>
---	--

Please note that the certificates of analysis are also conveniently available online and around the clock at www.worldaccount.basf.com

<p>P.T. BASF Care Chemicals Indonesia CIMANGGIS, DEPOK 16953 JAKARTA Indonesia</p>	<p>Fax No 0002187103090218724777 2011-11-01 BASF CORPORATION Certificate No 4698 Page 1 of 2</p>
--	--

Certificate of Analysis according to DIN 55350-18-4.2.2

<p>Covitol® F-1300 10KG IP Plastics Buckets Purchase Order/Customer Product# 4900125525 50229800</p>	<p>Material 50229800 Order 1327652197 000010 Delivery 0121725680 000010 Lot 0007845407 Lot/Qty 240.000 KG Total 240.000 KG</p>
--	--

Characteristic/Method	UOM	Result	Specification
ACIDITY, ML		0.1	<=1.0
ASSAY, I.U./G	H02	1323	>=1300
D-ALPHA TOC., MG/G	HJ01	888	872-1000
IDENTIFICATION: USP METHOD C	HJ01	CERTIFIED	
SPECIFIC ROTATION	H29	CERTIFIED	24.0-35.0
HEAVY METALS (PB), PPM	USP 231, METHOD II	CERTIFIED	<=10
BAP, < 2 PPB		CERTIFIED	
RESIDUAL SOLVENTS, USP (467)	GC-MS 8260B	CERTIFIED	
NEXT INSPECTION DATE		11.08.2014	


Manufacturing Date: 12.08.2011

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.

The aforementioned data shall constitute the agreed contractual quality of the product at the time of passing of risk. The data are controlled at regular intervals as part of our quality assurance program. Neither these data nor the properties of product specimens shall imply any legally binding guarantee of certain properties or of fitness for a specific purpose. No liability of ours can be derived therefrom.

This is a computer-generated document. No signature is required.

(Lanjutan)

 BASF The Chemical Company	Certificate of Analysis BASF Corporation												
Please note that the certificates of analysis are also conveniently available online and around the clock at www.worldaccount.basf.com													
P.T. BASF Care Chemicals Indonesia CIMANGGIS, DEPOK 16953 JAKARTA Indonesia	Fax No 0002187103090218724777 2011-11-01 BASF CORPORATION Certificate No 4698 Page 2 of 2												
Certificate of Analysis according to DIN 55350-18-4.2.2													
Covitol® F-1300 10KG IP Plastics Buckets Purchase Order/Customer Product# 4900125525 50229800	<table border="0"> <tr> <td>Material</td> <td>50229800</td> </tr> <tr> <td>Order</td> <td>1327652197 000010</td> </tr> <tr> <td>Delivery</td> <td>0121725680 000010</td> </tr> <tr> <td>Lot</td> <td>0007845407</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	50229800	Order	1327652197 000010	Delivery	0121725680 000010	Lot	0007845407	Lot/Qty	240.000 KG	Total	240.000 KG
Material	50229800												
Order	1327652197 000010												
Delivery	0121725680 000010												
Lot	0007845407												
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 contractual quality of the product at the time of passing of risk. The data are controlled at regular intervals as part of our quality assurance program. Neither these data nor the properties of product specimens shall imply any legally binding guarantee of certain properties or of fitness for a specific purpose. No liability of ours can be derived therefrom.													
This is a computer-generated document. No signature is required.													

Lampiran 46. Sertifikat analisis sorbitol



No.: 11.05.L.420

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 aqueous 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	3.74°	(-1.5)° - (+3.0)°
	C. Appearance at 25° C	Pass	Clear, Syrupy Liquid
3	Appearance of solution	Pass	Clear, colorless
4	Conductivity	0.2 uS/cm	10 uS/cm Max
5	Reducing Sugars	15.1 mL	N.D., 12.8 ml of 0.05 M sodium thiosulphate (max 0.2% calculated as glucose equivalent) 0.15 % max.
6	Reducing Sugars after hydrolysis	8.5 ml.	N.D., 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	30.50 %	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

ANALYTICAL RESEARCH



PT. CARGILL AGRI-BUSINESS INDONESIA Tbk

PILIHON

FINAL PRODUCT ASSURANCE