

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 Jinten Hitam

Jinten hitam (*Nigella sativa L.*) termasuk salah satu spesies dari genus *Nigella* yang mempunyai kurang lebih 25 spesies tanaman dan merupakan famili Ranunculaceae (Abedi *et al.*, 2017). Jinten hitam adalah tanaman asli Afrika Utara, Eropa Selatan, dan Asia Barat Daya yang banyak dibudidayakan di beberapa negara seperti kawasan Mediterania Timur Tengah, Eropa Selatan, India, Pakistan, Suriah, Turki, dan Arab Saudi (Ahmad *et al.*, 2013). *Nigella sativa L.* atau yang lebih dikenal oleh masyarakat Indonesia dengan nama jinten hitam ini memiliki beberapa nama lain di dunia seperti *black carraway seed*, *black cumin*, *black seed* (Inggris), *habbatus sauda* (Arab), *karun jiragam* (Tamil), *karunshiragam* (Malayalam), *kalonji* (Hindi), *karijirigi* (Kanada), *nulajirakara* (Telugu), *kalanjire* (Marathi), *kalajira* (Bangladesh), *Hak Jung Chou* (Cina) dan *shonaiz* (Persia) (Khan *et al.*, 2011). Biji jinten hitam (Gambar 1) biasa digunakan sebagai bumbu untuk pengawetan makanan dan dimanfaatkan sebagai obat tradisional yang dipercaya dapat mengatasi berbagai masalah kesehatan selama ribuan tahun (Mammad *et al.*, 2017).



Gambar 1. Biji jinten hitam (*Nigella Sativa L.*) (Sultana *et al.*, 2015)

Jinten hitam (*Nigella sativa* L.) memiliki batang yang bergaris-garis dan tidak berbulu yang tumbuh setinggi 20-90 cm dengan daun berbentuk linear sempit, halus seperti benang, yang tersusun melingkar serta bertumpuk-tumpuk (Ahmad *et al.*, 2013). Bunganya terdiri dari 5-10 kelopak dengan berbagai macam warna yaitu putih, kuning, merah muda, biru muda dan ungu (Gambar 2). Tumbuhan tersebut berbunga setiap tahunnya pada bulan Januari hingga April. Buah dari tumbuhan ini berbentuk seperti biji-bijian atau kapsul berwarna hitam *dicotyledonous*, *trigonus*, dengan bau sedikit aromatik dan rasa yang pahit. Waktu budidaya tumbuhan ini biasanya antara bulan November dan April, kemudian mulai berkecambah sekitar 10–15 hari setelahnya (Kanter, 2008; Kooti *et al.*, 2016). Berikut klasifikasi dari jinten hitam (Sultana *et al.*, 2015):

Kingdom : Plantae
Divisi : Tracheophyta
Subdivisi : Magnoliophyta
Kelas : Magnoliopsida
Ordo : Ranunculales
Famili : Ranunculaceae
Genus : *Nigella*
Spesies : *Nigella sativa* L.



Gambar 2. Bunga dan biji jinten hitam (*Nigella Sativa* L.) (Kooti *et al.*, 2016).

Biji jinten hitam biasa dikonsumsi secara langsung berupa makanan yang diolah menjadi acar atau dalam bentuk bubuk maupun minyak yang dicampurkan ke makanan seperti roti sebagai penyedap makanan di beberapa negara tertentu (Ahmad *et al.*, 2013). Selain itu, biji jinten hitam juga biasa digunakan sebagai pengawet makanan dan sebagai obat herbal (Mammad *et al.*, 2017). Pada umumnya biji jinten hitam di pasaran berupa bubuk maupun minyak murni atau dikombinasi dengan minyak zaitun, sari kurma dan madu yang dikemas dalam *soft* kapsul. Sejak dahulu hingga saat ini biji jinten hitam dipercaya sebagai obat herbal paling mujarab yang dapat mengobati berbagai macam penyakit seperti asma, batuk, bronkitis, antihistamin, antidiabetes, antiinflamasi, antioksidan, imunomodulator dan lain sebagainya (Celik Altunoglu *et al.*, 2017).

Berbagai studi ilmiah tentang khasiat jinten hitam bagi kesehatan telah banyak diteliti dalam dekade terakhir. Penelitian tersebut membuktikan adanya aktivitas senyawa-senyawa dalam jinten hitam yang memiliki potensi sebagai zat diuretik, antihipertensi, antidiabetes, antikanker, antidiare, imunomodulator, analgesik, antibakterial, antihelmintik, analgesik, antiinflamasi, spasmolitik, bronkodilator, gastroprotektif, hepatoprotektif, dan lain-lain (Ahmad *et al.*, 2013). Beberapa studi fitokimia pada *Nigella sativa L.* juga menunjukkan bahwa ekstrak jinten hitam banyak mengandung senyawa-senyawa antioksidan, di antaranya adalah *thymoquinone*, *carvacrol*, *t-anethole* dan *4-terpineol* yang secara tidak langsung dapat mengurangi produksi spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*) dan menyebabkan penghambatan pada peroksidasi lipid (Amina, 2016). Namun di antara senyawa-senyawa antioksidan yang terkandung pada biji jinten hitam, *thymoquinone* diketahui merupakan senyawa dengan sifat antioksidan yang paling kuat (Kooti *et al.*, 2016).

2.1.2 Self-nanoemulsifying Drug Delivery Systems (SNEDDS)

Penggunaan tanaman herbal sebagai sumber obat-obatan alami masih banyak dipilih karena dipercaya memiliki efek samping yang lebih ringan dibandingkan dengan obat-obat sintetik kimia (Majdalawieh *et al.*, 2017). Obat-obatan herbal umumnya dikemas dalam bentuk sediaan per oral, hal ini disebabkan karena pemberian obat dengan rute oral merupakan cara yang dirasa paling aman, nyaman, dan berbiaya rendah (Cherniakov *et al.*, 2015). Tingkat kelarutan yang rendah dan bioavailabilitas oral yang

buruk pada ekstrak tanaman herbal membuat efektivitas obat di dalam tubuh kurang maksimal. Solusi untuk mengatasi hal tersebut adalah dengan mengurangi ukuran zat bioaktifnya, sehingga studi tentang nanoteknologi farmasi untuk pengemasan obat herbal kini sedang marak dikembangkan oleh para peneliti (Alexander *et al.*, 2016). Berbagai penelitian mulai mengembangkan formulasi obat berdasarkan minyak dalam bentuk nanoemulsi yang diharapkan dapat meningkatkan bioavailabilitas oral dan kelarutan obat dari ekstrak tanaman herbal. Salah satunya adalah *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) (Abdelbary *et al.*, 2012).

Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System merupakan formulasi yang terdiri dari campuran isotropik minyak, surfaktan, kosurfaktan dan zat bioaktif obat yang mampu membentuk nanoemulsi minyak dalam air secara spontan di dalam saluran gastrointestinal dengan menghasilkan ukuran tetesan yang berukuran nanometer saat terdispersi dalam media cair (Patel *et al.*, 2011; Christophersen *et al.*, 2014). *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* merupakan solusi yang tepat untuk meningkatkan bioavailabilitas obat yang bersifat hidrofobik yang mudah larut dalam fase minyak. Mekanisme utama SNEDDS dalam meningkatkan bioavailabilitas obat adalah dengan meningkatkan kelarutan obat, melindungi obat terhadap hidrolisis enzimatik, meningkatkan luas permukaan spesifik tetesan dengan mengatur ukuran tetesan hingga nanometer, yang mengarah ke distribusi luas obat dalam saluran gastrointestinal dan meningkatkan permeabilitas obat yang diinduksi oleh surfaktan (Abdelbary *et al.*, 2012).

Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System merupakan salah satu sediaan farmasi yang memiliki banyak keunggulan, di antaranya mampu memaksimalkan absorpsi, transportasi, memodulasi biodistribusi dan disposisi obat, serta memungkinkan pengiriman obat yang tertarget sehingga dapat mengurangi efek samping obat (Date *et al.*, 2010). Selain itu, SNEDDS juga mampu menurunkan risiko obat terdegradasi dengan mengurangi metabolisme intra-enterosit obat dan menstimulasi transportasi obat melalui sistem limfatik usus untuk mencegah obat termetabolisme di dalam hati (Cherniakov *et al.*, 2015). Dibandingkan dengan sistem nanoemulsi yang lain, formulasi SNEDDS cenderung lebih stabil secara fisik dan kimiawi untuk penyimpanan jangka panjang dan memungkinkan pengemasan obat dalam bentuk dosis satuan seperti kapsul

hidroksipropilmetilselulosa atau gelatin baik yang lunak maupun keras (Date *et al.*, 2010).

Formulasi SNEEDS yang optimal dipengaruhi oleh sifat fisikokimia dan konsentrasi dari fase komponen penyusunnya, yaitu fase minyak, surfaktan, ko-surfaktan, zat aktif obat serta rasio masing-masing komponen. Komponen utama penyusun SNEEDS adalah minyak sebagai pembawa obat, surfaktan sebagai pengemulsi minyak ke dalam air serta menjaga stabilitas zat bioaktif, dan kosurfaktan untuk meningkatkan penggabungan obat atau memfasilitasi nanoemulsifikasi dalam SNEEDS (Date *et al.*, 2010; Makadia *et al.*, 2013).

A. Minyak

Pemilihan minyak yang tepat merupakan faktor penting dalam formulasi SNEEDS. Komponen minyak berperan dalam menentukan spontanitas emulsifikasi, ukuran emulsi yang terbentuk, serta kapasitas zat aktif yang dapat dibawa karena minyak merupakan pembawa utama zat aktif dalam SNEEDS (Date *et al.*, 2010). Minyak juga berperan meningkatkan fraksi obat lipofilik yang tertransport melalui sistem intestinal limfatik dengan menginduksi ekskresi empedu dan jus pankreas, serta menstimulasi pembentukan misel campuran yang terbuat dari garam empedu, fosfolipid, dan kolesterol, yang kesemuanya secara bersamaan meningkatkan absorpsi obat pada saluran gastrointestinal (Cherniakov *et al.*, 2015). Minyak dengan rantai hidrokarbon yang pendek akan lebih mudah diemulsifikasi dibandingkan dengan hidrokarbon rantai panjang (Krstić *et al.*, 2018).

B. Surfaktan

Molekul surfaktan memiliki bagian polar yang suka akan air (hidrofilik) dan bagian non polar yang suka dengan minyak/lemak (lipofilik) (Fudholi, 2013). Surfaktan berperan dalam menurunkan tegangan permukaan dan berpengaruh besar terhadap proses pembentukan nanoemulsi, serta ukuran tetapan nanoemulsi sehingga dapat meningkatkan permeabilitas obat (Patel *et al.*, 2011). Surfaktan juga berperan dalam memperlambat waktu pengosongan lambung sehingga memberikan obat lebih banyak waktu untuk dilarutkan dan diabsorpsi di dalam saluran gastrointestinal. Beberapa jenis surfaktan tertentu

dapat menyebabkan iritasi pada mukosa saluran cerna dan kulit, utamanya jika konsentrasinya tinggi. Oleh sebab itu faktor penting dalam pemilihan surfaktan adalah dengan memperhatikan jenis, keamanan, dan konsentrasinya (Krstić *et al.*, 2018). Jenis surfaktan yang sering digunakan adalah tween 80 dan tween 20 yang merupakan jenis surfaktan nonionik (Rowe *et al.*, 2009). Surfaktan nonionik biasanya lebih sering dipilih dibandingkan surfaktan ionik karena sifatnya yang tidak terlalu dipengaruhi oleh pH media, lebih aman untuk penggunaan secara oral (Azeem *et al.*, 2009).

C. Ko-surfaktan

Ko-surfaktan dalam formulasi SNEDDS berperan dalam membantu surfaktan meningkatkan *drug loading*, mempercepat *self-emulsification*, dan mengatur ukuran *droplet* nanoemulsi (Date *et al.*, 2010). Hasilnya, kombinasi surfaktan dan ko-surfaktan dapat lebih menurunkan tegangan permukaan air dan minyak, mempercepat proses emulsifikasi di saluran gastrointestinal, serta membantu memperkecil ukuran tetesan nanoemulsi dibandingkan dengan hanya surfaktan murni, sehingga dapat meningkatkan kelarutan obat (Krstić *et al.*, 2018). Kosurfaktan yang sering digunakan dalam formulasi SNEDDS adalah PEG 400 dan propilen glikol (Rowe *et al.*, 2009).

2.1.3 Antioksidan

Antioksidan merupakan senyawa yang berperan sangat penting dalam mekanisme sistem pertahanan tubuh untuk melawan patologi yang terkait dengan serangan radikal bebas (Biochem *et al.*, 2011). Antioksidan dapat menghambat atau mencegah kerusakan oksidatif senyawa molekuler biologis tubuh yang dapat mengarah kepada kondisi stres oksidatif. Fenomena stres oksidatif terjadi saat ada ketidakseimbangan antara pembentukan spesies oksigen reaktif (*reactive oxygen species/ROS*) dengan jumlah molekul senyawa antioksidan di dalam tubuh. Hal tersebut dapat menyebabkan kerusakan makromolekul seluler dan ekstraseluler seperti lipid, protein, asam nukleat dan karbohidrat struktural (Figueiredo-gonzález *et al.*, 2017). Radikal bebas dapat berasal dari luar tubuh seperti polusi, debu, alkohol, asap rokok maupun dari dalam tubuh yang

diproduksi secara terus-menerus sebagai hasil dari metabolisme normal (Zuhra *et al.*, 2008).

Kelebihan spesies oksigen reaktif (ROS) dalam tubuh dapat memicu reaksi inflamasi dengan merangsang pelepasan sitokin-sitokin dan mengaktivasi enzim-enzim peradangan seperti lipoxigenases (Dzoyem & Eloff, 2014). Oleh karena itu kondisi stres oksidatif dianggap memberikan kontribusi signifikan terhadap berbagai penyakit yang berkaitan dengan inflamasi seperti radang sendi, vaskulitis, glomerulonefritis, lupus eritematosa, sindrom pernapasan, kardiovaskuler, stroke, sindrom imunodefisiensi, emfisema, ulkus gaster, hipertensi, preeklamsia, juga gangguan neurologis seperti penyakit alzheimer dan penyakit parkinson (Lobo *et al.*, 2010). Selain itu, kerusakan struktur dan fungsi sel yang disebabkan oleh penumpukan radikal bebas dalam tubuh diyakini berkaitan erat dengan peran stres oksidatif dalam proses penuaan dan karsinogenesis (Figueiredo-gonzález *et al.*, 2017)

Antioksidan dapat menunda atau menghambat kerusakan sel karena senyawa molekulnya cukup stabil untuk menyumbangkan elektron ke radikal bebas yang reaktif dan menetralisirnya, sehingga dapat mengurangi kapasitasnya untuk merusak (Lobo *et al.*, 2010). Prinsip utama antioksidan dalam menangkal radikal bebas ada dua, yaitu dengan menghambat pembentukan radikal bebas, atau memutus rantai senyawa ROS sehingga menjadi tidak reaktif dan lebih stabil. Antioksidan bekerja melalui beberapa mekanisme di antaranya, mengurangi laju oksidasi lemak dan minyak yang berpotensi menghasilkan ROS dan mendeaktivasi senyawa ROS yang reaktif dengan mendonorkan elektron tunggal. Selain itu antioksidan juga bertanggung jawab dalam menstabilkan radikal bebas dengan menyumbangkan atom hidrogen yang membentuk kompleks senyawa yang lebih stabil (Yadav *et al.*, 2016; Lobo *et al.*, 2010).

Berdasarkan sumbernya, antioksidan dibagi menjadi 2 yaitu antioksidan endogen yang berasal dari dalam tubuh dan antioksidan eksogen yang berasal dari luar tubuh (Biochem *et al.*, 2011). Antioksidan endogen adalah antioksidan yang dihasilkan sendiri oleh tubuh yang dapat berupa enzim, misalnya superoksida dismutase, katalase, glutathion peroksidase atau senyawa nonenzimatik, misalnya asam urat, bilirubin, albumin, metallothioneins. Antioksidan eksogen dibagi lagi menjadi 2 jenis yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Antioksidan alami merupakan senyawa antioksidan yang

berasal dari alam seperti vitamin C, vitamin D, vitamin E, β -carotene, tocopherols, tocotrienols, dan garam mineral yang berasal dari makanan yang kita konsumsi, termasuk juga senyawa-senyawa yang banyak terdapat di tumbuhan seperti flavonoids. Sedangkan antioksidan sintetik merupakan senyawa yang disintesis secara kimia yang berfungsi sebagai antioksidan, contohnya butylhydroxyanisole (BHA), butylhydroxytoluene (BHT), gallates, dan lain-lain (100; Yadav *et al.*, 2016; Biochem *et al.*, 2011; Lobo *et al.*, 2010).

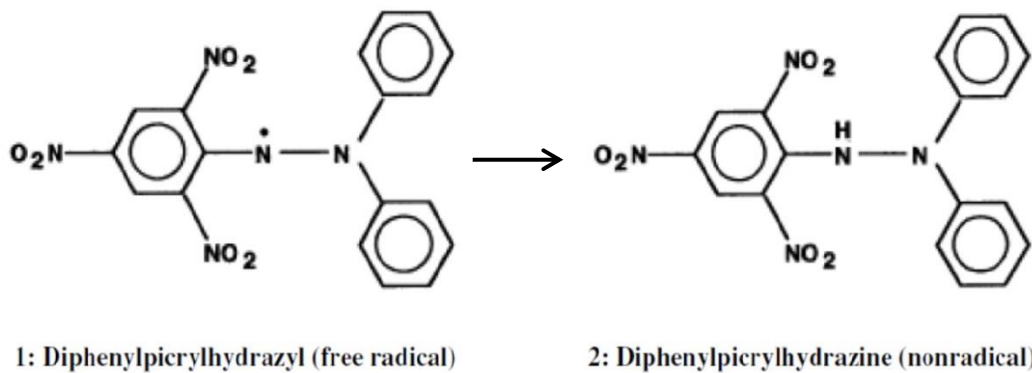
2.1.4 Metode Pengujian Aktivitas Antioksidan DPPH

Ada beberapa metode pengujian yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas dan kapasitas senyawa antioksidan yang terdapat di dalam ekstrak tumbuhan, di antaranya adalah metode 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS), Ferric Ion Reducing Antioxidant Parameter (FRAP), Potassium Ferricyanide Reducing Antioxidant Parameter (PFRAP), Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), Hydroxyl Radical Antioxidant Capacity (HORAC), Cupric Reducing Antioxidant Capacity (CUPRAC), Total Radical Trapping Antioxidant Parameter (TRAP), Fluorimetry dan lain sebagainya (Dudonne' *et al.*, 2009; Thaipong *et al.*, 2006; Biochem *et al.*, 2011). Beberapa studi terdahulu menunjukkan bahwa metode DPPH merupakan metode yang paling populer dilakukan karena prosedurnya yang sederhana, cepat, dan akurat (Moon & Shibamoto, 2009; Mishra & Chaudhury, 2012; Molyneux, 2004; Kedare & Singh, 2011; Thaipong *et al.*, 2006; Dudonne' *et al.*, 2009). Metode DPPH juga dinilai sangat sensitif untuk menguji aktivitas antioksidan dibandingkan dengan metode lain dengan angka reproduksibilitas yang tinggi (Thaipong *et al.*, 2006; Dudonne' *et al.*, 2009).

Senyawa 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) merupakan radikal bebas yang biasa digunakan sebagai model uji standar dalam mengukur daya penangkapan radikal bebas atau untuk menguji aktivitas antioksidan dari suatu sampel uji tertentu (Mishra & Chaudhury, 2012). Metode DPPH pertama kali diperkenalkan oleh Marsden Blois pada tahun 1958 yang saat itu bekerja di Universitas Stanford (Molyneux, 2004). Molekul α,α -diphenyl- β -Picrylhydrazyl (DPPH) memiliki karakteristik yang unik yaitu merupakan jenis radikal bebas yang stabil dari cadangan di atas molekulnya secara keseluruhan (Kedare & Singh, 2011). Delokalisasi elektron tersebut juga memberikan warna ungu tua

pada larutan DPPH dengan nilai absorbansi berkisar antara 515 hingga 520 nm (Mishra & Chaudhury, 2012; Biochem *et al.*, 2011).

Prinsip metode pengujian DPPH didasarkan pada reduksi dari larutan radikal bebas DPPH oleh senyawa antioksidan yang terkandung dalam suatu ekstrak tanaman tertentu. Ketika larutan DPPH berinteraksi dengan suatu larutan pendonor elektron yang dalam hal ini adalah antioksidan, elektron tunggal pada radikal bebas larutan DPPH menjadi berpasangan. Reaksi larutan yang mengandung senyawa antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH kemudian akan membentuk DPPH tereduksi (Gambar 3). Reaksi tersebut menyebabkan warna larutan akan berubah dari ungu tua menjadi kuning pucat, seiring dengan banyaknya DPPH yang tereduksi. Hasil dekolorisasi larutan DPPH oleh senyawa antioksidan tersebut setara dengan jumlah elektron yang tertangkap atau jumlah hidrogen yang diserap (Moon & Shibamoto, 2009; Mishra & Chaudhury, 2012; Molyneux, 2004; Kedare & Singh, 2011).

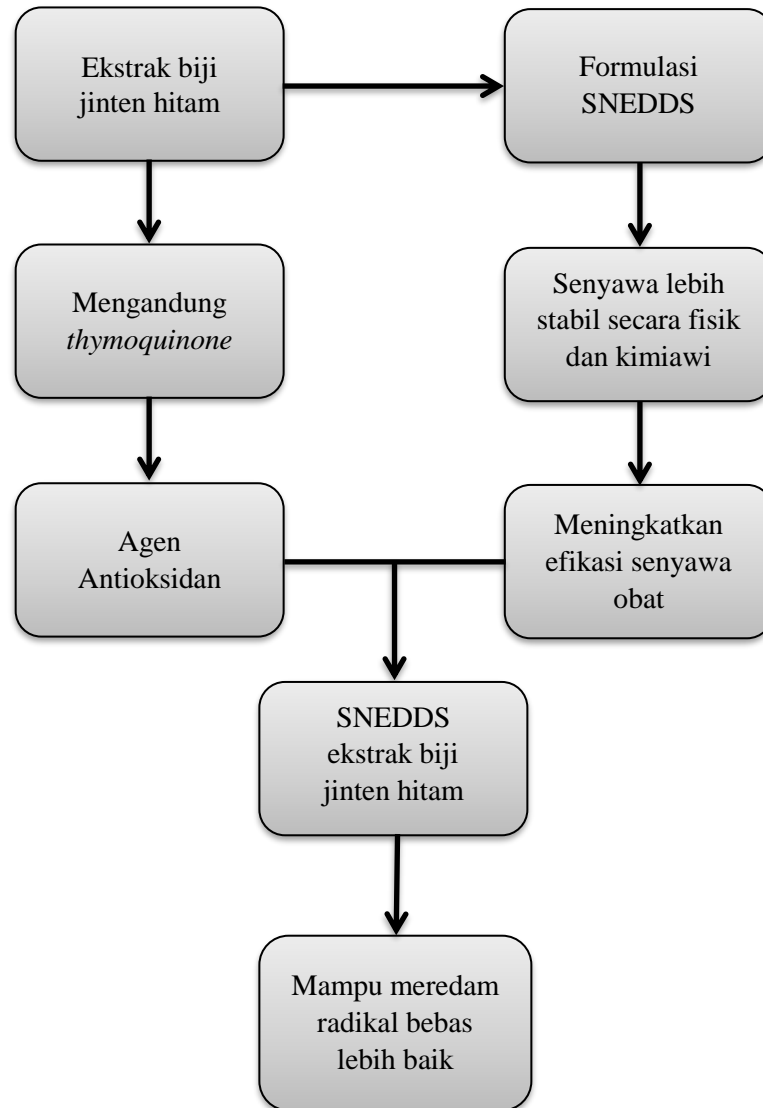


Gambar 3. Reaksi DPPH dengan senyawa antioksidan (Molyneux, 2004).

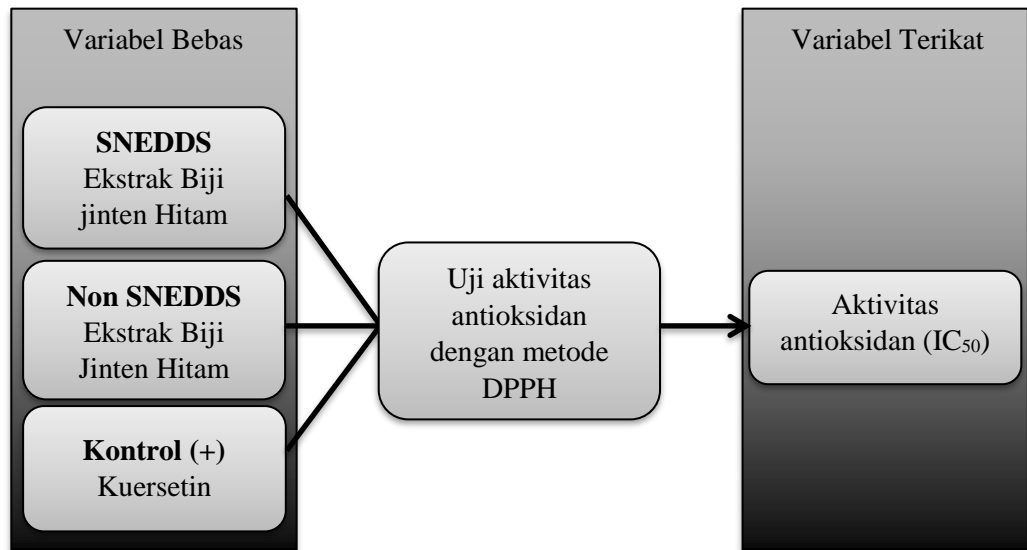
Aktivitas antioksidan selanjutnya dianalisis menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis berdasarkan perubahan absorbansi DPPH pada panjang gelombang tertentu. Salah satu parameter yang digunakan untuk menginterpretasikan hasil dari pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH adalah nilai *Efficient Concentration* 50% (EC₅₀) atau yang lebih dikenal dengan *Inhibitory Concentration* 50% (IC₅₀). Nilai *Inhibitory Concentration* 50% (IC₅₀) atau konsentrasi inhibisi adalah konsentrasi ekstrak (mikrogram/mililiter) yang mampu menangkap 50% radikal bebas DPPH atau yang mampu menghambat 50% oksidasi (Molyneux, 2004). Interpretasi harus dilakukan

dengan cermat sebab hasil dapat bias oleh adanya faktor cahaya, oksigen, pH, dan jenis pelarut pada senyawa antioksidannya (Kedare & Singh, 2011). Hasil senyawa uji DPPH biasanya dibandingkan dengan nilai IC_{50} dari vitamin C, vitamin E, atau kuersetin yang merupakan senyawa antioksidan alami (Sami *et al.*, 2016).

2.2 Kerangka Teori



2.3 Kerangka Penelitian



2.4 Hipotesis

Aktivitas antioksidan pada ekstrak biji jinten hitam formulasi SNEDDS lebih baik daripada ekstrak biji jinten hitam non SNEDDS berdasarkan metode DPPH.