

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil

4.1.1 Ekstraksi Biji Jinten Hitam dan Pembuatan Formulasi SNEDDS

Sebelum memulai penelitian ini, dilakukan uji determinasi biji jinten hitam di Laboratorium Biologi Sistematika Tumbuhan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. Pengujian ini bertujuan untuk memastikan bahwa biji jinten hitam yang peneliti dapatkan dari Pasar Tradisional Beringharjo merupakan spesies yang sama dengan spesies *Nigella sativa L.* yang peneliti maksudkan untuk diuji dalam penelitian ini. Hasil dari uji determinasi tersebut adalah biji jinten hitam yang peneliti dapatkan tersebut adalah benar merupakan spesies dari *Nigella sativa L.* dengan klasifikasi sebagai berikut (Lampiran 2):

Kingdom : Plantae
Divisio : Tracheophyta
Classis : Magnoliopsida
Ordo : Ranunculales
Famili : Ranunculaceae
Genus : *Nigella*
Spesies : *Nigella sativa L.*
Nama Lokal : Jinten hitam

Sebanyak 1 Kg biji jinten hitam yang telah dikeringkan terlebih dahulu, diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Proses ekstraksi tersebut menghasilkan ekstrak minyak biji jinten hitam berwarna coklat kehitaman sebanyak 50 mL. Setelah itu ekstrak minyak biji jinten hitam diformulasikan dalam sediaan *Self-Nanoemulsifying Drug Delivery System* (SNEDDS) dengan menambahkan fase surfaktan dan ko-surfaktan. Pada penelitian ini formula SNEDDS dibuat dengan mengacu pada komposisi formula optimal SNEDDS yang diperoleh dari analisis menggunakan *Software Design Expert* versi 10 pada penelitian sebelumnya (Putri, 2018). Kemudian berdasarkan penelitian tersebut, dibuat formula lain dengan 3 variasi konsentrasi minyak biji

jinten hitam. Formulasi ini selanjutnya dievaluasi di Laboratorium Pengujian Obat, Makanan, dan Kosmetik Universitas Islam Indonesia, mulai dari ukuran nanopartikelnya, stabilitas fisik serta aktivitas antioksidan yang dimiliki.

Penelitian ini menggunakan surfaktan non ionik Tween 80 dan ko-surfaktan PEG 400 untuk diformulasikan dalam sediaan SNEDDS Ekstrak Biji Jinten Hitam. Mula-mula pembuatan SNEDDS dilakukan dengan cara mencampur minyak biji jinten hitam dengan Tween 80 sesuai dengan formula yang telah dibuat sebelumnya. Kemudian dilakukan pengadukan dengan menggunakan sonikator selama 5-10 menit hingga memperoleh sediaan yang jernih dan transparan. Setelah itu baru ditambahkan PEG 400 ke dalam formula dan disonikasi kembali hingga mendapatkan formula optimal SNEDDS yang jernih dan memiliki ukuran partikel yang kecil. Untuk mengetahui apakah formula SNEDDS berhasil dibuat atau tidak, formula tersebut kemudian dipipet ke dalam segelas aquades dan diaduk. Formula SNEDDS dianggap telah berhasil dibuat, ketika sediaan tersebut dapat larut dalam aquades menghasilkan larutan yang jernih/ transparan/ sedikit berkabut. Penampakan awal ketiga formula SNEDDS dapat dilihat pada Gambar 4:



Gambar 4. Ketiga formula SNEDDS dengan 3 variasi konsentrasi sebelum pengujian.

Selanjutnya dari ketiga formula SNEDDS yang telah berhasil dibuat masing-masing dilakukan evaluasi dan pengamatan organoleptis tahap awal. Hasil pengamatan tersebut adalah sebagai berikut:

A. Konsentrasi 1

Sediaan SNEDDS pada formula 1 dengan konsentrasi minyak biji jinten hitam 0,532 ini berwarna kuning kecokelatan, jernih, dan memiliki bau khas minyak biji jinten hitam.

B. Konsentrasi 2

Sediaan SNEDDS pada formula 2 dengan konsentrasi minyak biji jinten hitam 0,266 berwarna kuning kecokelatan, jernih, dan memiliki bau khas minyak biji jinten hitam.

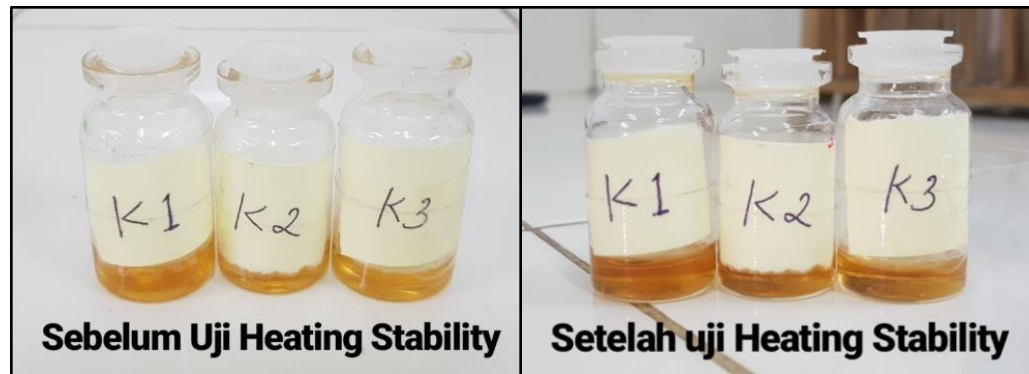
C. Konsentrasi 3

Sediaan SNEDDS pada formula 3 dengan konsentrasi minyak biji jinten hitam 0,133 berwarna kuning kecokelatan, jernih, dan memiliki bau khas minyak biji jinten hitam.

Secara umum, hasil pengamatan organoleptis yang dilakukan pada masing-masing formula tersebut dari segi bentuk, warna, maupun bau tidak memiliki perbedaan yang signifikan.

Tahap pengujian berikutnya adalah uji stabilitas fisik pada masing-masing formula SNEDDS yang dilakukan dengan 3 cara yaitu uji *Heating Stability*, uji *Freeze-Thaw*, dan uji sentrifugasi. Uji *Heating Stability* dilakukan dengan cara menyimpan ketiga sampel SNEDDS pada inkubator dengan suhu 60°C–100°C yang dinaikkan secara bertahap, lalu dibiarkan selama 5 jam, kemudian dilakukan pengamatan secara organoleptis. Sedangkan untuk pengujian *Freeze-Thaw* yaitu dengan cara ketiga sampel SNEDDS disimpan dalam lemari pendingin pada suhu 4°C selama 24 jam, lalu dipindahkan ke inkubator dengan suhu 40°C selama 24 jam (1 siklus). Selanjutnya pada pengujian *Freeze-Thaw* dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali atau 3 siklus, dan dilakukan pengamatan secara organoleptis. Pada penelitian ini untuk uji stabilitas fisik dengan sentrifugasi tidak dapat dilakukan karena keterbatasan alat yang ada di Laboratorium Teknologi Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Sleman.

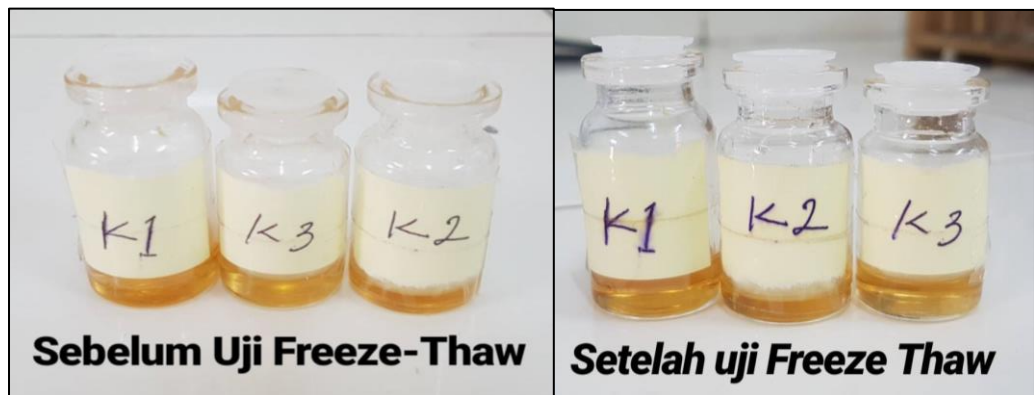
Berikut hasil dari uji *Heating Stability* dan uji *Freeze-Thaw* dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6 maupun Tabel 4 dan 5 dibawah ini berturut-turut:



Gambar 5. Penampakan ketiga formula SNEDDS sebelum dan sesudah uji *Heating Stability*.

Tabel 4. Hasil uji *Heating Stability*.

SNEDDS	Sebelum Uji <i>Heating Stability</i>	Sesudah Uji <i>Heating Stability</i>		
	Pengamatan Organoleptis	Pengamatan Organoleptis	Pemisahan Fase	Presipitasi
K 1	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Tidak ada	Tidak ada
K 2	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Tidak ada	Tidak ada
K 3	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Tidak ada	Tidak ada



Gambar 6. Penampakan ketiga formula SNEDDS sebelum dan sesudah uji *Freeze-Thaw*.

Tabel 5. Hasil uji *Freeze-Thaw*.

SNEDDS	Sebelum Uji <i>Heating Stability</i>	Sesudah Uji <i>Heating Stability</i>		
	Pengamatan Organoleptis	Pengamatan Organoleptis	Pemisahan Fase	Presipitasi
K 1	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Tidak ada	Tidak ada
K 2	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Tidak ada	Tidak ada
K 3	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Kuning kecoklatan, jernih, berbau khas minyak jinten hitam	Tidak ada	Tidak ada

Setelah dilakukan uji *Heating Stability* dan *Freeze-Thaw* dapat disimpulkan bahwa dari ketiga formula SNEDDS yang dibuat oleh peneliti memiliki tingkat kestabilan fisik yang sangat bagus, di mana tidak terlihat adanya perubahan organoleptis sebelum dan sesudah perlakuan, tidak ada pemisahan fase, dan tidak terjadi pembentukan kristal maupun endapan.

Setelah dilakukan pengujian stabilitas fisik, selanjutnya dilakukan pengukuran globul/partikel dan zeta potensial pada ketiga formula SNEDDS dengan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA). Penentuan pengukuran globul dan zeta potensial tujuannya adalah untuk mengetahui besar ukuran partikel yang terbentuk dengan emulsi spontan dalam nanometer (nm) serta mengukur kestabilan dari partikel-partikel yang berada dalam sediaan SNEDDS tersebut. Hasil dari pengukuran globul dan zeta potensial pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 6:

Tabel 6. Ukuran partikel dan nilai zeta potensial dari SNEDDS biji jinten hitam.

SNEDDS	Ukuran Partikel (nm)	Nilai Zeta Potensial (mV)
K 1	178,5	-59,5
K 2	149,0	-34,7
K 3	133,2	-23,5

Hasil pengukuran globul yang disajikan pada tabel 4 menunjukkan adanya penyusutan ukuran partikel dari formula SNEDDS K1 hingga K3. Formula SNEDDS K1 dengan persen konsentrasi minyak biji jinten hitam paling banyak memiliki ukuran globul terbesar yaitu 178,5 nm. Sedangkan Formula SNEDDS K3 dengan persen konsentrasi minyak biji jinten hitam (MBJH) paling sedikit memiliki ukuran globul terkecil yaitu 133,2 nm. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh pada perbandingan formula antara MBJH, Tween 80, dan PEG 400 terhadap besar kecilnya partikel. Semakin kecil persen konsentrasi dari MBJH dan semakin besar persen konsentrasi dari surfaktan/ko-surfaktan, maka partikel nanoemulsi yang dihasilkan semakin kecil. Sementara itu untuk nilai zeta potensial dari formula SNEDDS K1 dan K2 menghasilkan nilai yang lebih rendah dari -30 mV yaitu, -59,5 mV dan -34,7 mV. Hal ini menunjukkan bahwa partikel pada formula SNEDDS K1 dan K2 termasuk stabil. Akan tetapi formula SNEDDS K3 memiliki nilai zeta potensial yang lebih tinggi dari -30 mV namun juga lebih rendah dari +30 mV. Hal ini menunjukkan bahwa partikel pada formula SNEDDS K3 cukup stabil. Partikel pada formula SNEDDS K1 merupakan partikel yang paling stabil di antara formula yang lainnya.

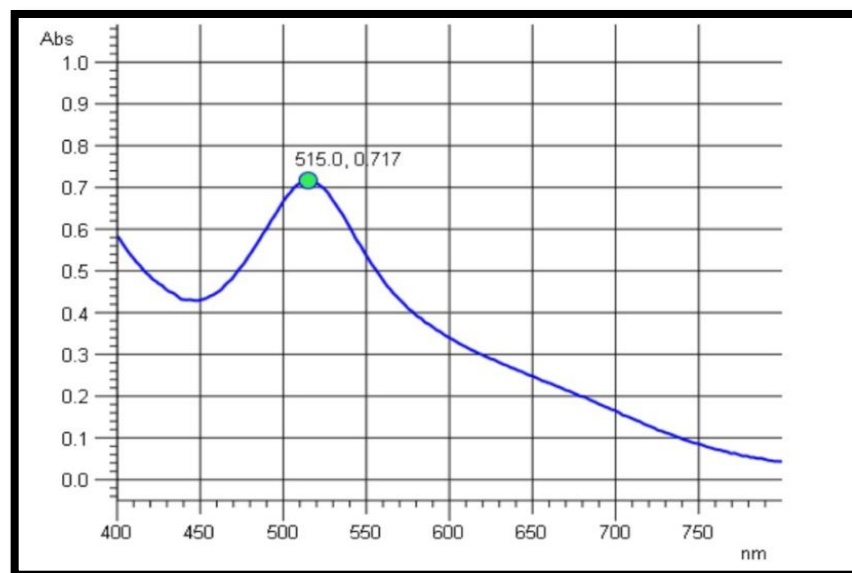
4.1.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH

Setelah melalui serangkaian pengujian untuk menilai kualitas dari SNEDDS ekstrak biji jinten hitam yang telah dibuat oleh peneliti, pengujian dilanjutkan dengan uji aktivitas antioksidan dengan menggunakan metode DPPH. Uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH didasarkan pada fenomena perubahan warna ungu pada larutan DPPH menjadi warna kuning akibat tereduksi oleh antioksidan yang terkandung pada senyawa uji. Intensitas perubahan warna dari ungu ke kuning tersebut kemudian diukur absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimal dari larutan DPPH saat sebelum direaksikan dengan sample uji. Aktivitas antioksidan masing-masing senyawa uji ditentukan dari berdasarkan persentase inhibisi antioksidan masing-masing sampel dan dinyatakan dengan parameter

nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} yang diperoleh dari pengolahan data tersebut lalu dibandingkan dengan larutan quersetin sebagai kontrol positif.

Penentuan aktivitas antioksidan diawali dengan membuat larutan stok DPPH 50 ppm dan larutan stok kuersetin 10 ppm dengan pelarut metanol. Selanjutnya larutan stok DPPH diencerkan menjadi 10 ppm untuk diukur panjang gelombang maksimum dan absorbansinya yang akan digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode DPPH. Larutan DPPH 10 ppm diukur pada panjang gelombang 400-800 nm menggunakan spektrofotometri UV-Vis. Namun setelah dilakukan pengujian ternyata DPPH dengan konsentrasi 10 ppm tidak bisa terbaca panjang gelombang maksimumnya oleh alat. Peneliti bahkan telah melakukan 2x pengujian namun hasilnya tetap sama, di mana DPPH 10 ppm tidak dapat menghasilkan puncak pada panjang gelombang tertentu. Selanjutnya dilakukan modifikasi dengan mengukur panjang gelombang maksimum DPPH pada konsentrasi 50 ppm, sebagaimana yang pernah dipakai pada penelitian sebelumnya (Tristantini *et al.*, 2016). Panjang gelombang maksimum pada DPPH 50 ppm yang dihasilkan adalah pada panjang gelombang 515 nm yang ditandai dengan adanya puncak. Sedangkan absorbansi DPPH pada panjang gelombang maksimum tersebut adalah 0,717.

Spektrum panjang gelombang maksimum dan absorbansi dari larutan DPPH 50 ppm dapat dilihat pada gambar 5:



Gambar 7. Spektrum absorbansi DPPH 50 ppm dengan pelarut

Setelah mendapatkan panjang gelombang maksimum dan absorbansi dari larutan DPPHnya, berikutnya dilakukan uji aktivitas antioksidan pada semua sampel termasuk quersetin. Pada saat penambahan larutan DPPH pada sampel baik SNEDDS ataupun minyak biji jinten hitam (MBJH non SNEDDS), maka terjadi perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning. Berkurangnya intensitas warna tersebut kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum dari DPPH yaitu 515 nm. Hal yang sama juga dilakukan pada quersetin sebagai kontrol positif. Data nilai hasil absorbansi dan persen inhibisi antioksidan dapat dilihat pada tabel dibawah ini:

Tabel 7. Data hasil absorbansi dan % inhibisi antioksidan sampel SNEDDS.

SNEDDS	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi Antioksidan
K 1	20	0.193 ± 0.027	73.129 ± 3.707
K 2	10	0.185 ± 0.023	73.408 ± 2.535
K 3	5	0.187 ± 0.025	73.873 ± 3.546

Tabel 8. Data hasil absorbansi dan % inhibisi antioksidan minyak biji jinten hitam (non SNEDDS).

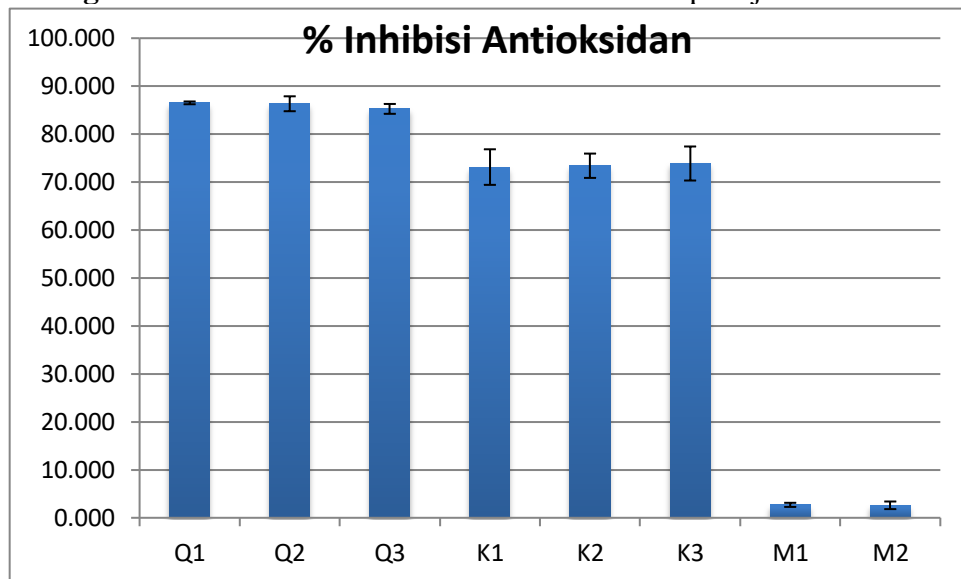
MBJH non SNEDDS	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi Antioksidan
M 1	50	0.698 ± 0.003	2.696 ± 0.426
M 2	100	0.700 ± 0.006	2.603 ± 0.793

Tabel 9. Data hasil absorbansi dan % inhibisi antioksidan larutan quersetin (kontrol positif).

Quersetin	Konsentrasi	Absorbansi	% Inhibisi Antioksidan
Q 1	10	0.097 ± 0.002	86.518 ± 0.290
Q 2	8	0.098 ± 0.011	86.332 ± 1.553
Q 3	6	0.106 ± 0.007	85.263 ± 1.028

Dari data pada tabel di atas dapat disimpulkan semakin kecil nilai absorbansi suatu larutan maka semakin tinggi persen inhibisinya. Tingginya nilai persen inhibisi antioksidan suatu senyawa menunjukkan semakin tinggi pula potensi larutan tersebut sebagai antioksidan. Berdasarkan data diatas persen inhibisi antioksidan tertinggi adalah quersetin K1 yaitu $86.518 \pm 0.290 \%$, sedangkan yang terendah adalah minyak biji jinten hitam K2 (non SNEDDS) yaitu $2.603 \pm 0.793 \%$. Berikut diagram yang merangkum seluruh hasil persen inhibisi antioksidan:

Diagram 1. Persen inhibisi antioksidan semua sampel uji.



Persen inhibisi antioksidan menunjukkan adanya potensi antioksidan dalam sampel uji, namun aktivitas antioksidan dengan metode uji DPPH ini menggunakan parameter nilai *Inhibitory Concentration* (IC_{50}). Nilai IC_{50} dapat diperoleh dari membuat persamaan garis regresi linier antara masing-masing konsentrasi larutan sampel dan persen inhibisinya dengan menggunakan *software* SPSS versi 21. Setelah itu hasil regresi berupa nilai konstanta “a” dan nilai koefisien regresi “b” dimasukkan kedalam rumus persamaan garis regresi linier, yaitu : $y=ax+b$.

Berdasarkan data yang diperoleh dari tabel 7, 8, dan 9 didapatkan persamaan garis regresi linier yang ditunjukkan pada tabel di bawah ini:

Tabel 10. Data hasil persamaan garis regresi linier serta nilai IC₅₀ dari sample SNEDDS, MBJH non SNEDDS, dan quersetin.

Sampel Uji	Persamaan Garis Regresi Linier	Nilai Y	Nilai X atau IC ₅₀
SNEDDS	$y = 74.013x - 0.047$	50	0.677 ± 0.028
MBJH	$y = 2.789x - 0.002$	50	18.126 ± 2.260
Quersetin	$y = 83.528x + 0.314$	50	0.595 ± 0.015

Data pada tabel 10 menunjukkan aktivitas antioksidan SNEDDS ekstrak biji jinten hitam ternyata masih belum bisa menyamai aktivitas antioksidan quersetin yang merupakan kontrol positif dari penelitian ini. Hal tersebut ditunjukkan dengan nilai IC₅₀ dari quersetin yaitu 0.595 ± 0.015 µg/mL yang masih lebih rendah dibandingkan dengan nilai IC₅₀ dari SNEDDS ekstrak biji jinten hitam sebesar 0.677 ± 0.028 µg/mL. Akan tetapi berdasarkan jurnal referensi dari penelitian terdahulu baik SNEDDS ekstrak biji jinten hitam maupun quersetin masih tergolong kategori antioksidan sangat kuat. Penelitian ini juga membuktikan bahwa aktivitas antioksidan biji jinten hitam yang dikemas dalam sediaan SNEDDS jauh lebih baik jika dibandingkan dengan ekstrak minyak biji jinten hitam biasa (non SNEDDS) dengan nilai IC₅₀ 18.126 ± 2.260 µg/mL.

4.2 Pembahasan

Prosedur penelitian ini merujuk pada penelitian (Handayani *et al.*, 2014). Penelitian ini menggunakan biji jinten hitam (*Nigella sativa L.*) yang dikeringkan terlebih dahulu sebelum diekstraksi. Pengeringan ini dimaksudkan untuk mencegah terjadinya reaksi enzimatik akibat adanya aktivitas mikroba yang dapat merusak komposisi kimianya. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah metode maserasi, yaitu ekstraksi yang dilakukan dengan cara merendam simplisia ke dalam pelarut tertentu yang disesuaikan selama beberapa hari (Rusdi *et al.*, 2018). Kelebihan dari metode ini adalah karena cara pengerjaannya yang mudah, sederhana, biaya operasional yang relatif murah, dan dapat menghindari kerusakan senyawa-senyawa yang termolabil (Savitri *et al.*, 2017).

Biji jinten hitam yang diekstraksi menghasilkan minyak biji jinten hitam, kemudian diformulasikan dalam sediaan SNEDDS. Untuk membuat formulasi SNEDDS ekstrak biji jinten hitam dilakukan dengan cara mencampur minyak biji jinten hitam, surfaktan, dan ko-surfaktan. Pada penelitian ini surfaktan yang digunakan oleh peneliti adalah Tween 80. Pemilihan surfaktan menjadi sangat penting dalam pembuatan formulasi SNEDDS karena surfaktan berperan penting dalam pembentukan nanoemulsi dan menurunkan tegangan antar 2 fase (minyak-air) agar dapat terdispersi dengan baik (Patel *et al.*, 2011). Selain itu Tween 80 dipilih sebagai surfaktan karena merupakan jenis surfaktan non-ionik yang memiliki angka toksisitas rendah sehingga lebih aman untuk digunakan (Handayani *et al.*, 2017). Namun untuk menciptakan tegangan permukaan yang bagus, surfaktan perlu dibantu dengan penambahan ko-surfaktan (Shakeel *et al.*, 2007). Ko-surfaktan juga membantu surfaktan memperkecil ukuran globul nanoemulsi dibandingkan dengan hanya satu surfaktan saja, ko-surfaktan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Polietilen glikol (PEG) 400 (Krstić *et al.*, 2018). PEG 400 dipilih karena selain merupakan jenis ko-surfaktan yang paling sering digunakan, serta termasuk surfaktan non ionik yang sifatnya stabil, mudah bercampur dengan komponen lain, tidak iritatif, dan tidak beracun (Kurniawati & Zulkarnain, 2012).

Berdasarkan hasil evaluasi tahap awal sediaan SNEDDS minyak biji jinten hitam yaitu pengamatan organoleptis pada formula K1, K2 dan K3 memperlihatkan bahwa sediaan nanoemulsi memiliki bentuk berupa minyak, berwarna kuning kecokelatan, jernih, dan memiliki bau khas minyak biji jinten hitam. Evaluasi sediaan nanoemulsi yang dibuat pada semua formula juga menunjukkan hasil berupa sediaan yang jernih dan transparan. Menurut Handayani *et al.*, (2019) reaksi nanoemulsi yang berhasil membentuk partikel berukuran nanometer akan menghasilkan sediaan yang jernih dan transparan atau sedikit berkabut sebagaimana yang terlihat pada Gambar 4. Hal ini telah dibuktikan dengan hasil pengujian selanjutnya yang disajikan pada Tabel 4, yaitu pada pengukuran globul baik dari K1, K2, dan K3 yang menghasilkan partikel dengan satuan nanometer berturut-turut 178,5 nm, 149 nm, dan 133,2 nm. Ukuran tersebut telah memenuhi persyaratan besaran partikel nanoemulsi dalam sistem penghantaran obat yaitu 50-300 nm, sehingga sangat cocok untuk digunakan dalam industri baik makanan ataupun obat (Taurina *et al.*, 2017; McClements, 2011).

Merujuk pada Tabel 4, dari hasil pengukuran globul didapatkan penyusutan ukuran partikel yang signifikan dari formula K1, K2 dan K3. Di mana persen konsentrasi MBJH dari formula K1 hingga K3 dibuat semakin rendah dan persen konsentrasi Tween 80 dan PEG 400 dibuat semakin tinggi. Data tersebut menunjukkan bahwa penggunaan konsentrasi surfaktan dan ko-surfaktan yang semakin meningkat akan menghasilkan ukuran globul yang semakin kecil. Hal ini disebabkan peningkatan absorpsi Tween 80 meningkatkan penurunan tegangan permukaan, mendukung pembentukan nanoemulsi dan menstabilkan globul nanoemulsi dalam sediaan SNEDDS (Salim *et al.*, 2011; Nadia *et al.*, 2014). Penambahan PEG 400 juga membantu Tween 80 dalam pembentukan nanoemulsi sehingga menghasilkan ukuran globul yang lebih kecil lagi dibandingkan jika hanya menggunakan satu surfaktan saja (Krstić *et al.*, 2018).

Zeta potensial adalah potensial atau tegangan elektrostatik yang terjadi pada bidang permukaan nanopartikel akibat interaksi antar partikel yang memiliki muatan ataupun interaksi antara partikel dan medium pendispersi (Mujamilah & Sulungbudi, 2013). Nilai zeta potensial merupakan parameter yang digunakan untuk mengkarakterisasi tingkat kestabilan nanopartikel dalam sediaan SNEDDS (Taurina *et al.*, 2017). Tingginya nilai zeta potensial baik negatif ataupun positif dapat mencegah terjadinya agregasi partikel dengan gaya tolak menolak dari partikel terdispersi sehingga nanopartikel dapat lebih stabil (Handayani *et al.*, 2019). Karakteristik kestabilan yang tergambar pada Tabel 4, menunjukkan bahwa formula SNEDDS K1 dan K2 memiliki nanopartikel yang stabil dengan nilai zeta potensial -59,5 mV dan -34,7 mV. Nanopartikel dengan nilai zeta potensial lebih besar dari +30 mV atau lebih kecil dari -30 mV dapat dikatakan memiliki tingkat kestabilan tinggi (Ayuningtias *et al.*, 2017). Sementara itu formula SNEDDS K3 memiliki nilai zeta potensial sebesar -23,5 mV, nilai ini tidak memenuhi kriteria nilai zeta potensial yang baik. Namun demikian hasil dari pengujian stabilitas fisik nanoemulsi menunjukkan semua formulasi memiliki kestabilan yang baik karena memenuhi kriteria yaitu, tidak terdapat tanda pemisahan fase, kekeruhan ataupun presipitasi (Kassem *et al.*, 2016).

Pada penelitian ini pengujian aktivitas antioksidan dari ketiga formula SNEDDS dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Alasan pemilihan metode ini adalah karena prosedur pengukurannya yang mudah, tidak memerlukan waktu yang lama dan

hanya menggunakan sampel dalam jumlah yang sedikit (Hasanah *et al.*, 2017). Prosedur pengujian diawali dengan pengukuran panjang gelombang DPPH yang dilarutkan menggunakan pelarut metanol. Panjang gelombang maksimum ini nantinya akan digunakan untuk pengukuran aktivitas antioksidan sampel uji dengan metode DPPH. Mulanya pengujian panjang gelombang maksimum dengan menggunakan larutan DPPH sempat gagal 2 kali. Selanjutnya dilakukan modifikasi konsentrasi dari larutan DPPH menjadi 50 ppm. Selanjutnya hasil panjang gelombang maksimum dan absorban dari larutan DPPH 50 ppm dapat dilihat pada Gambar 5. Prinsip kerja dari Spektrofotometer UV-Vis adalah didasarkan pada serapan (absorbansi) radiasi atau cahaya oleh suatu larutan berwarna pada panjang gelombang tertentu. Alat ini juga dikenal sebagai kolometri, karena hanya larutan berwarna saja yang dapat diukur menggunakan alat ini (Bintang, M., 2010). Hal ini menjelaskan alasan mengapa larutan DPPH dengan konsentrasi 10 ppm tidak dapat dibaca dengan baik panjang gelombang maksimumnya, karena intensitas warna ungu pada larutan tersebut sangat rendah.

Hasil uji aktivitas antioksidan dinyatakan dengan parameter IC_{50} , yaitu bilangan yang menunjukkan konsentrasi ekstrak (ppm) yang mampu meredam DPPH sebesar 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan yang dimiliki senyawa tersebut (Zuhra *et al.*, 2008). Suatu senyawa dapat dikatakan memiliki daya antioksidan yang sangat kuat jika nilai $IC_{50} < 10 \mu\text{g/mL}$, kuat jika nilai IC_{50} antara 10-50 $\mu\text{g/mL}$, sedang apabila nilai IC_{50} berkisar antara 50-100 $\mu\text{g/mL}$, lemah jika nilai IC_{50} berkisar antara 100-250 $\mu\text{g/mL}$ dan tidak aktif jika nilai IC_{50} diatas 250 $\mu\text{g/mL}$ (Phongpaichit *et al.*, 2007). Sebagaimana yang terdapat pada Tabel 10, hasil pengujian menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan quersetin memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah dari SNEDDS ekstrak biji jinten hitam yaitu $0.595 \pm 0.015 \mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan aktivitas antioksidan pada quersetin masih **lebih baik** dibandingkan dengan SNEDDS ekstrak biji jinten hitam, meskipun keduanya termasuk kategori antioksidan yang sangat kuat. Akan tetapi aktivitas antioksidan pada SNEDDS ekstrak biji jinten hitam jauh **lebih baik** jika dibandingkan dengan ekstrak minyak biji jinten hitam yang tidak dikemas dalam sediaan SNEDDS dengan nilai IC_{50} sebesar $0.677 \pm 0.028 \mu\text{g/mL}$. Hasil uji ANOVA antara masing-masing konsentrasi sampel dengan persen inhibisi didapatkan

nilai Sig. > 0,05. Hal tersebut bermakna bahwa tidak ada hubungan yang signifikan antara konsentrasi sampel dengan persen inhibisinya.

Reaksi peredaman radikal bebas DPPH menjadi DPPH tereduksi (DPPH-H) terjadi karena adanya reaksi molekul DPPH dengan atom hidrogen yang dilepaskan oleh satu molekul komponen sampel pada penelitian ini. Senyawa antioksidan yang bereaksi dengan DPPH melalui mekanisme donasi menyebabkan terjadinya perubahan intensitas warna larutan dari ungu ke kuning (Zuhra *et al.*, 2008). Efektivitas antioksidan dalam sediaan SNEDDS dipengaruhi oleh sifat fisik nanoemulsi, kestabilan molekulnya serta partisi senyawa antioksidan dalam fase lipid (Jusnita & Syurya, 2019). Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, senyawa yang memiliki potensi sebagai antioksidan pada biji jinten hitam (*Nigella sativa L.*) yaitu *thymoquinone*, *carvacrol*, *t-anethole*, *tokoferol* dan *4-terpineol* yang memiliki gugus hidroksil (Amina, B., 2016). Namun di antara senyawa-senyawa antioksidan yang terkandung pada biji jinten hitam, *thymoquinone* dimungkinkan memiliki peran paling besar sebagai senyawa antioksidan karena persen konsentrasi senyawa nya pada biji jinten hitam paling tinggi dibanding yang lain (Sultan *et al.*, 2009).

Penelitian ini memiliki keterbatasan tidak dapat membuktikan secara spesifik senyawa mana yang memiliki efek antioksidan paling kuat karena senyawa antioksidan yang terkandung di dalam biji jinten hitam terlalu kompleks. Selain itu penggunaan satu jenis metode pengukuran aktivitas antioksidan dirasa belum dapat menghasilkan kesimpulan penelitian yang valid dari keseluruhan aktivitas antioksidan yang terdapat pada biji jinten hitam. Oleh karena itu sangat disarankan untuk menggunakan lebih dari satu metode pengujian aktivitas antioksidan, termasuk penelitian *in vivo*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

1. Tidak terdapat hubungan yang signifikan antara konsentrasi senyawa uji dengan persen inhibisi antioksidan.
2. SNEDDS ekstrak biji jinten hitam memiliki aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan minyak biji jinten hitam non SNEDDS.
3. Aktivitas antioksidan SNEDDS ekstrak biji jinten hitam belum bisa menyamai tingkat aktivitas antioksidan dari kontrol positifnya quersetin.

5.2 Saran

Sediaan SNEDDS pada penelitian ini merupakan bentuk sediaan dasar yang masih dapat dikembangkan dan dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan berbagai macam metode pengujian untuk pengembangan produk obat dan pangan fungsional berbasis biji jinten hitam dengan teknologi nanoemulsi.