

NANOEMULSIFIKASI SPONTAN EKSTRAK JINTAN HITAM DAN KARAKTERISTIK PRODUK ENKAPSULASINYA

[Spontaneous Nanoemulsification of Black Cumin Extract and the Characteristics of the Encapsulation Product]

Rovie Farah Diba^{1)*}, Sedarnawati Yasni¹⁾ dan Sri Yuliani²⁾

¹⁾ Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾ Balai Besar Litbang Pascapanen Pertanian, Bogor

Diterima 04 Desember 2013 / Disetujui 28 Oktober 2014

ABSTRACT

Research on the use of low energy nano technology on black cumin is still limited. Encapsulation of black cumin extract nanoemulsion has been developed and the products have been characterized. The aims of this study were to determine the extraction method of the black cumin seed, produce black cumin extract nanoemulsion by spontaneous emulsification technique, and produce encapsulated black cumin extract nanoemulsion. Three steps of experiments were done in this study, i.e. extraction, nanoemulsification and encapsulation. In the first step, extraction was done using maceration and reflux methods and the best result was sent to the next step. Second, a spontaneous nanoemulsification was performed using organic phase (ethanol 70%), and water phase (Tween 80 solution at 1, 2 and 3% w/w) to produce the best nanoemulsion. Finally, the best nanoemulsion based on size, homogeneity, and stability of the particles, was encapsulated using two different encapsulating material compositions, i.e. maltodextrin (100%) and a combination of maltodextrin and soy protein isolate at a ratio of 80 : 20 (w/w). The results showed that the three-hour reflux method produced better black cumin extract properties than that of maceration. Use of 3% surfactant gave a stable nanoemulsion with average droplet size of 10.93 nm. Reconstitution of the encapsulated nanoemulsion resulted in products with more spherical globules, indicating an efficient encapsulation process. The combination of maltodextrin and soy protein isolate provided a better preservation of phenolic content and antioxidant capacity as compared to the use of maltodextrin alone.

Keywords: black cumin, encapsulation, extraction, nanoemulsion

ABSTRAK

Penelitian menggunakan teknologi nano berenergi rendah dengan bahan baku jintan hitam masih terbatas. Enkapsulasi nanoemulsi ekstrak jintan hitam telah dihasilkan dan produknya telah dikarakterisasi. Penelitian ini bertujuan menentukan metode ekstraksi biji jintan hitam, melakukan pembuatan nanoemulsi ekstrak jintan hitam dengan teknik emulsifikasi spontan dan melakukan enkapsulasi terhadap nanoemulsi ekstrak jintan hitam. Tiga tahap penelitian yang dilakukan yaitu ekstraksi, nanoemulsifikasi, dan enkapsulasi. Pertama, ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dan *reflux*, dan hasil terbaik digunakan pada pembuatan nanoemulsi. Kedua, nanoemulsifikasi spontan menggunakan fase organik (ekstrak jintan hitam yang terlarut dalam etanol 70%), fase air (larutan Tween 80 dengan konsentrasi 1, 2, dan 3% w/w) untuk menghasilkan nanoemulsi terbaik. Ketiga, nanoemulsi terbaik berdasarkan ukuran, keseragaman, dan kestabilan partikel, dilakukan enkapsulasi menggunakan bahan penyalut maltodekstrin (100%) dan campuran maltodekstrin dengan isolat protein kedelai pada rasio 80 dan 20 (w/w). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak jintan hitam yang dihasilkan dari metode *reflux* selama tiga jam memiliki sifat yang lebih baik dibandingkan metode maserasi. Penambahan surfaktan sebanyak 3% menghasilkan nanoemulsi yang stabil dengan rata-rata ukuran partikel 10.93 nm. Rekonstitusi produk enkapsulasi nanoemulsi lebih banyak molekul berbentuk bulat yang mengindikasikan bahwa proses enkapsulasi sudah cukup efisien. Penggunaan kombinasi maltodekstrin dan isolat protein kedelai memberikan perlindungan terhadap kandungan fenol dan kapasitas antioksidan apabila dibandingkan dengan penggunaan maltodekstrin secara tunggal.

Kata kunci: ekstraksi, enkapsulasi, jintan hitam, nanoemulsi

PENDAHULUAN

Jintan hitam (*Nigella sativa*) merupakan salah satu spesies dari genus *Nigella* yang memiliki 25 spesies tanaman yang termasuk dalam famili *Ranunculaceae*. Tanaman jintan hitam dipercaya berasal dari daerah Mediterania, namun saat ini telah dibudidayakan di berbagai belahan dunia, termasuk di Eropa

Selatan, Afrika Utara, dan Asia Selatan. Di beberapa negara, jintan hitam digunakan dalam hidangan tradisional yang manis, seperti pasta jintan hitam yang dimaniskan dengan madu atau sirup, dan bumbu makanan pada produk roti dan keju (Rouhou *et al.* 2007).

Salah satu penelitian yang melakukan ekstraksi senyawa aktif biji jintan hitam menyatakan bahwa timokuinon adalah senyawa aktif utama pada minyak atsiri jintan hitam (Edris, 2009). Ekstraksi jintan hitam dengan metode *reflux* selama 3 jam menggunakan pelarut etanol memiliki kemampuan meng-

*Penulis Korespondensi:
Email: roviefarahdiba@yahoo.com

hambat pertumbuhan mikroba (Yasni *et al.* 2009). Secara *in vivo*, suplementasi jintan hitam dalam ransum tikus dapat menurunkan gula darah dan kolesterol (Fararh *et al.* 2004; Tasawar *et al.* 2011).

Saat ini teknologi nano banyak dikembangkan dalam meningkatkan kualitas pangan fungsional. Banyak senyawa bioaktif yang memiliki sifat lipofilik dan kelarutannya rendah dalam air, serta penyerapannya dalam saluran pencernaan terbatas. Pada industri pangan, hal tersebut dapat diatasi dengan cara melakukan enkapsulasi senyawa bioaktif sebagai sistem pengantaran ke dalam tubuh, melindungi senyawa bioaktif yang kurang larut dalam air, dan mengatur pelepasan senyawa bioaktif yang terdapat dalam pangan fungsional. Enkapsulasi berbasis nanoemulsi minyak dalam air merupakan pendekatan yang efektif dalam memasukkan senyawa bioaktif ke dalam bahan pangan. Nanoemulsi merupakan cara yang baik dalam meningkatkan kelarutan, penyerapan, dan fungsionalitas senyawa bioaktif yang bersifat hidrofobik (Silva *et al.* 2012).

Penelitian menggunakan teknologi nano dengan bahan baku jintan hitam masih terbatas. Ravindran *et al.* (2010) melakukan pembuatan nanoemulsi jintan hitam menggunakan energi rendah dengan komposisi timokuinon murni, asetonitril sebagai pelarut, dan pluron F-68 sebagai surfaktan. ALHaj *et al.* (2010) melakukan pembuatan nanopartikel menggunakan energi tinggi dengan komposisi ekstrak jintan hitam dengan metode ekstraksi superkritik *supercritical fluid extraction* (SFE), palm oil, 1% Tween 80, dan sorbitol. Tubesha *et al.* (2013) dalam penelitiannya melakukan pembuatan nanoemulsi jintan hitam menggunakan energi tinggi dengan komposisi timokuinon murni, glyceroltrioleate, 2% Tween 80, dan air demineralisasi. Ketiga penelitian nanopartikel jintan hitam tersebut dengan bahan baku senyawa timokuinon murni, ekstrak jintan hitam dengan metode ekstraksi cairan superkritik, dan penggunaan energi tinggi, masih belum dimanfaatkan pada industri pangan. Oleh karena itu tujuan penelitian ini adalah melakukan pembuatan nanoemulsi dari ekstrak jintan hitam menggunakan energi rendah dan produk enkapsulasi terhadap nanoemulsi tersebut. Perlakuan konsentrasi surfaktan mengacu pada penelitian ALHaj *et al.* (2010) dan Tubesha *et al.* (2013). Metode ekstraksi jintan hitam yang digunakan mengacu pada penelitian Yasni *et al.* (2009) dan Sugindro *et al.* (2008). Hasil penelitian ini diharapkan diharapkan mampu menjadi bahan referensi untuk pengembangan produk pangan fungsional berbasis jintan hitam menggunakan teknologi nano.

BAHAN DAN METODE

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji jintan hitam yang diperoleh dari Mekah, Arab Saudi. Bahan emulsifier dan penyalut yang digunakan adalah Tween 80 (Sigma Co, USA), isolat protein kedelai (Solae, Switzerland) dan maltodekstrin yang dibeli dari Toko Setia Guna, Bogor.

Ekstraksi oleoresin biji jintan hitam

Ekstraksi oleoresin dilakukan dengan metode pemanasan (*reflux*) dan tanpa pemanasan (maserasi) menggunakan pelarut etanol 70%. Bahan baku ditimbang dan ditambahkan pelarut

dengan perbandingan 1:5 (w/v). Waktu ekstraksi *reflux* yang diujikan adalah 1 dan 3 jam dengan suhu tidak melebihi 60°C, sedangkan waktu maserasi yang diujikan adalah 6 dan 24 jam pada suhu ruang dan dilakukan pengadukan. Setelah itu pada masing-masing perlakuan dilakukan penyaringan dan filtrat dikumpulkan. Pada masing-masing ampas dilakukan penambahan pelarut dengan perbandingan 1:3, disaring dan filtrat dikumpulkan. Filtrat dari masing-masing cara dicampurkan dan dipisahkan dengan *rotary vacuum evaporator* (Buchi Rotavapor R-210 dan R-114) pada suhu 45°C. Metode ekstraksi terbaik dari kedua metode akan dipilih berdasarkan pengamatan warna ekstrak secara indrawi, nilai rendemen, dan kapasitas antioksidan tertinggi.

Nanoemulsifikasi ekstrak jintan hitam

Pembuatan nanoemulsi menggunakan teknik emulsifikasi spontan (Bouchemal *et al.* 2004). Sistem emulsi terdiri dari fase organik (oleoresin dan etanol 70%) dan fase air (air dan surfaktan nonionik). Fase organik disiapkan dengan mencampurkan ekstrak kental jintan hitam dan pelarut etanol 70% hingga mencapai total padatan terlarut 20° brix.

Teknik emulsifikasi spontan dilakukan dengan menambahkan fase organik ke dalam fase air melalui penetesan (tetes demi tetes). Pada saat meneteskan fase organik ke dalam fase air, fase air di aduk dengan menggunakan pengaduk magnetik. Fase organik disebarkan ke fase air yang mengandung surfaktan dan menghasilkan nano emulsi spontan dengan difusi cepat pelarut organik. Surfaktan yang digunakan adalah Tween 80 dengan konsentrasi 1, 2, dan 3% dari volume emulsi yang akan dibuat. Formula emulsi terbaik ditentukan berdasarkan ukuran droplet yang kecil, diukur dengan *Particle Size Analyzer* (PSA) Delsa™ Nano C, dan digunakan pada proses enkapsulasi.

Enkapsulasi nanoemulsi ekstrak jintan hitam

Setelah pembuatan nanoemulsi, ditambahkan bahan penyalut berupa maltodekstrin dan isolat protein kedelai dengan total padatan 26% (w/w). Bahan penyalut yang dicobakan terdiri atas maltodekstrin dan campuran maltodekstrin dan isolat protein kedelai dengan perbandingan 80:20 (w/w). Setelah itu dilakukan seragamisasi selama 5 menit dengan alat *seragamizer* Ultra Turrax, kemudian dilakukan hidrasi selama 18 jam pada suhu 4°C. Setelah hidrasi, sesaat sebelum disemprot keringkan dengan penyemprot kering (Lab Plant Sd 05), diseragamisasi kembali selama 30 detik. Semprot kering dilakukan dengan laju alir umpan 15 atau 20 mL/menit dan suhu inlet 160-190°C.

Karakterisasi nanoemulsi

Karakterisasi nanoemulsi meliputi pengukuran distribusi ukuran partikel, indeks polidispersitas dan kestabilan partikel berdasarkan nilai zeta potensial. Pengukuran distribusi ukuran partikel, nilai indeks polidispersitas, dan nilai zeta potensial nanoemulsi dilakukan menggunakan alat *Particle Size Analyzer* (PSA).

Karakterisasi produk enkapsulasi nanoemulsi

Karakterisasi produk enkapsulasi nanoemulsi meliputi pengukuran distribusi ukuran partikel, indeks polidispersitas, dan morfologi permukaan sampel. Pengukuran distribusi ukuran partikel, nilai indeks polidispersitas dilakukan dengan alat PSA. Pengamatan morfologi produk enkapsulasi nanoemulsi dilakukan menggunakan alat *Scanning Electron Microscopy* (SEM) JEOL JSM-6360LA.

Pengukuran kapasitas antioksidan (modifikasi Kubo et al. 2003)

Sebanyak 1.5 mL buffer asetat 100 mM (pH 5.5), 2.85 mL etanol, dan 150 µL larutan DPPH (100M) dalam 1.5 mL metanol. Larutan DPPH dibuat segar setiap akan digunakan. Selanjutnya, sebanyak 45 µL sampel ditambahkan ke dalam tabung tersebut dan diinkubasi pada suhu ruang dan tempat gelap selama 30 menit. Larutan blanko tanpa penambahan sampel. Pengukuran dilakukan menggunakan spektrofotometer dengan penentuan nilai absorbansi pada panjang gelombang 517 nm.

Uji total fenol (Strychaz dan Shetty, 2002)

Larutan standar dibuat dengan melarutkan 10, 25, 50, 75, 100, 125, dan 150 ppm asam galat dalam air suling. Larutan reagen dibuat dengan mencampurkan 50 mL reagen folin-ciocalteau dengan 50 mL air suling. Larutan Na₂CO₃ dibuat dengan melarutkan 5 g Na₂CO₃ dalam 100 mL air suling. Larutan standar atau sampel sebanyak 1 mL dilarutkan dalam 5 mL air suling dan 0.5 mL larutan reagen. Setelah itu, larutan didiamkan selama 5 menit dalam ruang gelap kemudian ditambahkan 1 mL larutan Na₂CO₃ dan diinkubasi kembali dalam ruang gelap selama 1 jam. Setelah inkubasi, larutan divorteks dan diukur absorbansinya pada 725 nm.

Analisis data

Semua data ditunjukkan dalam bentuk nilai rata-rata ± standar deviasi, dengan dua kali pengulangan. Data dianalisis dengan analisis satu arah varians (ANOVA) menggunakan SPSS versi 17, dengan uji lanjut Duncan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada hasil ekstraksi jintan hitam dengan metode maserasi dan *reflux*, dilakukan pengamatan terhadap warna, perhitungan rendemen, uji total fenol dan uji kapasitas antioksidan (Tabel 1). Hasil ekstrak maserasi jintan hitam berwarna hijau kehitaman, sedangkan ekstrak *reflux* berwarna hitam. Hasil perhitungan rendemen menunjukkan bahwa ekstrak *reflux* 3 jam memiliki rendemen tertinggi, meskipun secara statistik tidak berbeda nyata jika dibandingkan dengan *reflux* satu jam. Nilai kapasitas antioksidan ekstrak jintan hitam dengan metode *reflux* 3 jam lebih tinggi dari ekstrak jintan hitam maserasi 6 jam, 24 jam, dan *reflux* 1 jam. Tingginya kapasitas antioksidan pada ekstrak jintan hitam metode *reflux* 3 jam berkorelasi dengan tingginya nilai total fenol. Hal tersebut menunjukkan tingginya kapasitas antioksidan pada ekstrak jintan hitam metode *reflux* 3 jam dipengaruhi oleh adanya senyawa fenolik. Selain itu juga telah dilaporkan bahwa ekstrak jintan hitam dengan metode *reflux* 3

jam menggunakan pelarut etanol dapat menghambat pertumbuhan mikroba (Yasni et al. 2009).

Berdasarkan hasil pengamatan warna, rendemen, dan kapasitas antioksidan, maka hasil ekstraksi yang akan digunakan pada pembuatan nanoemulsi adalah dari metode ekstraksi *reflux* 3 jam.

Tabel 1. Hasil ekstraksi jintan hitam

| Ekstrak | Oleoresin | | | |
|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| | Maserasi | | Reflux | |
| Metode | 6 jam | 24 jam | 1 jam | 3 jam |
| Warna Ekstrak | Hijau kehitaman | Hijau kehitaman | Hitam | Hitam |
| Rendemen (%) | 2.26 ± 0.52 ^a | 3.79 ± 0.14 ^b | 14.49 ± 0.23 ^c | 15.39 ± 0.09 ^c |
| Total fenol (mg/g GAE) | 20898.17 ± 3.53 ^a | 21271.82 ± 7.68 ^b | 21827.30 ± 2.28 ^c | 35877.72 ± 0.10 ^d |
| Aktivitas antioksidan (mg/g AEAC) | 19368.18 ± 5.79 ^a | 12481.82 ± 9.64 ^b | 10027.27 ± 7.71 ^c | 32481.82 ± 6.43 ^d |

Keterangan: Angka pada baris yang sama yang diikuti oleh huruf *superscript* yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $p < 0.05$

Karakteristik nanoemulsi

Nanoemulsi dipersiapkan dengan mekanisme emulsifikasi spontan, yang terjadi saat fase organik dan fase air dicampurkan. Fase organik adalah larutan seragam dari pelarut organik (etanol 70%) dan oleoresin jintan hitam. Untuk mengetahui komposisi perbandingan fase organik maka dilakukan pencampuran antara keduanya dimulai dari perbandingan terendah, yaitu 1:1 (w/w). Pada perbandingan ekstrak kental jintan hitam dengan pelarut 1:1 menunjukkan saling larut antara keduanya dengan nilai total padatan terlarut 31° brix. Untuk memperoleh oleoresin dengan nilai total padatan terlarut 20° brix yang akan digunakan pada pembuatan nano emulsi diperlukan pelarut 5 gram.

Fase air disiapkan dengan melarutkan air dan surfaktan non ionik. Surfaktan non ionik paling umum digunakan untuk menstabilkan emulsi (Silva et al. 2012). Tween 80 sebagai surfaktan non ionik memiliki nilai keseimbangan hidrofilik/lipofilik (HLB) yang tinggi (15.0±1.0) sehingga dapat stabil pada sistem emulsi minyak dalam air (Brandelero et al. 2010). Pencampuran air dan Tween 80 sebagai fase air dilakukan dengan pengaduk magnetik selama 30 menit pada suhu ruang. Sementara itu, fase organik disiapkan sebanyak 10% dari total emulsi. Emulsifikasi terjadi saat fase organik diinjeksikan pada fase air (Schalbart et al. 2010). Pengadukan dilakukan selama 45 menit untuk mencapai keseimbangan sistem (Bouchemal et al. 2004).

Emulsifikasi spontan dipengaruhi oleh komposisi fase organik, fase air dan karakteristik fisikokimia seperti sifat fisik dari fase organik dan sifat kimia dari surfaktan yang digunakan (Bouchemal et al. 2004). Pada penelitian ini, terjadi penyebaran cepat dari pelarut yang larut air, dalam hal ini etanol 70%, yang awalnya dilarutkan pada fase organik kepada fase air saat keduanya dicampurkan. Proses emulsifikasi spontan ini telah banyak dilaporkan terjadi pada sistem *oil in water* atau *o/w* (Dewangan dan Suresh, 2011).

Pada penelitian ini pembuatan emulsi dilakukan menggunakan Tween 80 pada tiga konsentrasi (1, 2, dan 3%) dengan metode energi rendah (emulsifikasi spontan). Pada hasil penelitian nanopartikel dengan metode energi tinggi, menunjukkan ukuran 150-200 nm pada penggunaan Tween 80 sebesar 1% (ALHaj *et al.* 2010). Tubesha *et al.* (2013) menghasilkan nanoemulsi jintan hitam dengan metode energi tinggi kisaran pada kisaran ukuran partikel 66–143 nm dengan penggunaan Tween 80 sebesar 2%. Hasil karakterisasi nanoemulsi yang dihasilkan melalui metode energi rendah pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Ukuran partikel nanoemulsi jintan hitam berdasarkan konsentrasi surfaktan

| Sampel | Ukuran Partikel (nm) | Indeks Polidispersitas | Nilai Zeta Potensial (mV) |
|--------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| T1 | 25.4 ± 4.45 ^a | 0.52 ± 0.05 ^a | 44.31 ± 0.97 ^b |
| T2 | 21.18 ± 1.03 ^a | 0.62 ± 0.05 ^a | 56.67 ± 6.39 ^a |
| T3 | 10.93 ± 0.60 ^b | 0.31 ± 0.06 ^b | 45.32 ± 2.73 ^b |

Keterangan: T1 (Tween 80 1%); T2 (Tween 80 2%); T3 (Tween 80 3%). Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf *superscript* yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $p < 0.05$

Berdasarkan ukuran partikel nanoemulsi, tampak adanya pengaruh dari surfaktan. Semakin besar konsentrasi surfaktan, ukuran partikel semakin menurun. Ukuran partikel pada emulsi yang menggunakan Tween 80 sebesar 1% (T1), 2% (T2), dan 3% (T3) berturut-turut mengalami penurunan dari 25.4 nm menjadi 10.93 nm. Hal tersebut diperkirakan pada ukuran partikel yang lebih kecil, luas permukaan akan semakin besar, dan memerlukan lebih banyak surfaktan untuk mengisi luas permukaan tersebut (Affandi *et al.* 2011).

Indeks polidispersitas mengindikasikan kualitas keseragaman suatu dispersi. Nilai indeks polidispersitas yang kecil menunjukkan distribusi ukuran partikel yang sempit, yang berarti ukuran partikel semakin seragam (Lovelyn dan Attama, 2011). Berdasarkan hasil pada Tabel 2, nilai Indeks polidispersitas berturut-turut dari yang terbesar 0.62 (T2), 0.52 (T1), 0.31 (T3). Hal tersebut menunjukkan bahwa nanoemulsi T1 dengan ukuran partikel 25 nm lebih seragam dibandingkan T2 dengan ukuran partikel 21 nm. Ukuran partikel dan indeks polidispersitas terkecil dimiliki oleh T3, yang berarti ukuran partikel 10.93 nm pada T3 lebih seragam bila dibandingkan T1 dan T2. Penurunan ukuran partikel dan indeks polidispersitas seiring peningkatan konsentrasi surfaktan lebih jelas menunjukkan pengaruh konsentrasi surfaktan pada pembentukan nano droplet. Dengan rasio fase organik yang sama (10% w/w) pada ketiga emulsi, peningkatan konsentrasi surfaktan dapat mengurangi tegangan permukaan antara fase organik dan fase air sehingga droplet yang terbentuk lebih seragam, terjadi penurunan penggabungan droplet dan menstabilkan pembentukan droplet kecil (Karjiban *et al.* 2012).

Muatan permukaan zeta potensial menghasilkan gaya tolak listrik diantara droplet minyak yang dapat menghambat penggabungan droplet. Secara umum, partikel dengan nilai zeta potensial melebihi +30 mV atau kurang dari -30 mV menunjukkan kestabilan, karena muatan listrik dari droplet cukup kuat untuk menolak antara droplet yang dominan dalam sistem nanoemulsi (Trujillo *et al.* 2013). Kisaran nilai zeta potensial

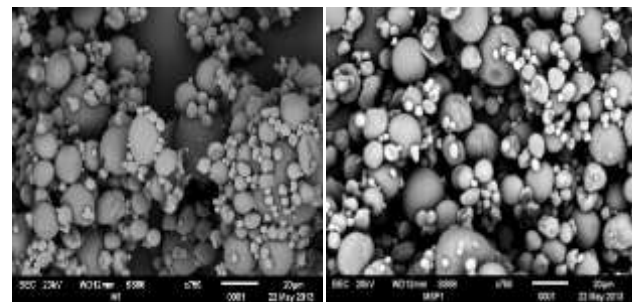
yang dihasilkan ketiga nanoemulsi pada penelitian ini 44–57 mV. Nilai zeta potensial yang melebihi +30 mV tersebut menandakan ketiga emulsi yang dihasilkan stabil.

Dari data ketiga nanoemulsi yang dihasilkan pada penelitian ini, ukuran partikel terkecil dengan indeks polidispersitas yang kecil dan nilai zeta potensial melebihi +30 mV atau kurang dari -30 mV dimiliki oleh emulsi dengan konsentrasi emulsifier 3% (T3).

Enkapsulat nanoemulsi dan karakteristik produk enkapsulasi

Enkapsulasi nanoemulsi dari bahan pangan dapat memberikan perlindungan dan mengatur pelepasan senyawa aktif, meningkatkan ketersediaan biologis (bioavailabilitas), dan kelarutan yang lebih baik (Mozafari *et al.* 2006). Maltodekstrin sering digunakan pada enkapsulasi senyawa polifenol. Maltodekstrin juga dapat dikombinasikan dengan bahan enkapsulat lain seperti gum arab dalam mengenkapsulasi prosianidin dari biji anggur (Du *et al.* 2007 dalam Fang dan Bhandari, 2010). Pada penelitian ini, bahan enkapsulat yang digunakan adalah maltodekstrin dan isolat protein kedelai. Protein pangan dapat mengikat berbagai molekul bioaktif ke dalam struktur polipeptida sehingga dapat melindungi molekul bioaktif lebih baik sampai pada sel yang dituju. Kestabilan nanopartikel isolat protein kedelai telah diujikan secara *in vitro* pada pH asam dan basa (Zhang *et al.* 2012), serta nanopartikel yang dilapisi dengan protein dapat melindungi senyawa bioaktif pada saluran pencernaan (Chen *et al.* 2006).

Morfologi enkapsulasi nanoemulsi jintan hitam dilakukan dengan *scanning electron microscopy* (SEM) yang memberikan gambar globula dengan tiga dimensi (Lovelyn dan Attama, 2011), seperti terlihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Foto SEM nanoemulsi yang telah dienkapsulasi dengan bahan penyalut maltodekstrin (a), malto-dekstrin: isolat protein kedelai (b)

Secara keseluruhan, kedua produk enkapsulasi dengan penyalut maltodekstrin (M) maupun dengan penyalut campuran maltodekstrin dan isolat protein kedelai (MSP) lebih banyak yang berbentuk bulat, meskipun ada sebagian kecil yang berkerut. Bentuk bulat menunjukkan bahwa nanoemulsi sebagian besar telah terenkapsulasi dengan baik. Ukuran partikel dari kedua produk enkapsulasi M dan MSP pada Gambar 1 tampak beragam. Beragamnya ukuran partikel dapat dipengaruhi oleh kecepatan laju alir dan suhu selama proses pengeringan

semprot (Harimurti *et al.* 2011). Hasil ukuran partikel dan indeks polidispersitas produk enkapsulasi jintan hitam dapat dilihat pada Tabel 3.

Ukuran partikel produk enkapsulasi yang telah direkonstitusi dengan air sehingga memiliki total padatan sama seperti sebelum dilakukan pengeringan semprot berkisar antara 700–1300 nm. Besarnya ukuran partikel pada produk enkapsulasi M dapat disebabkan kurang optimalnya proses rekonstitusi, terjadi penggabungan pada sebagian droplet partikel, peningkatan suhu selama proses pengeringan semprot (Sansone *et al.* 2011). Besarnya ukuran partikel pada produk enkapsulasi MSP dapat dipengaruhi oleh partikel protein (Dickinson, 2012). Nilai indeks polidispersitas produk enkapsulasi MSP yang lebih kecil dari produk enkapsulasi M, menunjukkan bahwa produk enkapsulasi MSP dengan ukuran partikel 1331 nm lebih seragam dibandingkan produk enkapsulasi M yang ukuran partikelnya 797 nm.

Tabel 3. Ukuran partikel bubuk kapsul jintan hitam

| Sampel | Ukuran Partikel (nm) | Indeks Polidispersitas |
|--------|----------------------------|------------------------|
| M | 797.1±57.77 ^a | 0.71±0.19 ^c |
| MSP | 1331.58±32.49 ^b | 0.23±0.08 ^d |

Keterangan: M: nanoemulsi yang dienkapsulasi dengan bahan penyalut maltodekstrin; MSP: nanoemulsi yang dienkapsulasi dengan bahan penyalut maltodekstrin dan isolat protein kedelai 80:20 (w/w)

Sifat antioksidan ekstrak, nanoemulsi, dan bubuk kapsul jintan hitam

Penelitian Bourgou *et al.* (2008) menyebutkan aktivitas antioksidan pada jintan hitam dipengaruhi oleh adanya senyawa fenolik. Hasil uji kapasitas antioksidan dan kandungan total fenol pada ekstrak, nanoemulsi, dan produk enkapsulasi nanoemulsi jintan hitam dapat terlihat pada Tabel 4.

Tabel 4. Nilai kapasitas antioksidan dan nilai total fenol ekstrak, nanoemulsi, dan bubuk kapsul jintan hitam

| Sampel | Antioksidan (mg/g AEAC) | Total Fenol (mg/g GAE) |
|-------------------------|------------------------------|----------------------------|
| Ekstrak jintan hitam | 32981.82 ± 6.43 ^a | 35877.72±0.10 ^a |
| Nanoemulsi jintan hitam | 426.41 ± 8.68 ^b | 652.22±3.39 ^b |
| M | 1065.15 ± 2.57 ^c | 1364.49±9.56 ^c |
| MSP | 6689.39 ± 0.64 ^d | 6871.23±6.63 ^d |

Keterangan: M: nanoemulsi yang dienkapsulasi dengan bahan penyalut maltodekstrin; MSP: nanoemulsi yang dienkapsulasi dengan bahan penyalut maltodekstrin dan isolat protein kedelai 80:20 (w/w). Angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf *superscript* yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata pada $p < 0.05$

Sebelum dilakukan pengujian kapasitas antioksidan dan total fenol, dilakukan perhitungan kesetaraan ekstrak. Tingginya kapasitas antioksidan dan kandungan fenolik produk enkapsulasi MSP apabila dibandingkan dengan kapasitas antioksidan dan kandungan fenolik nanoemulsi menunjukkan nanoemulsi yang telah disalut campuran maltodekstrin dan isolat protein kedelai dapat menjaga nilai fungsional didalamnya, lebih tahan terhadap kerusakan selama penyimpanan, dan diduga adanya kontribusi dari bahan penyalut isolat protein kedelai yang mampu meredam radikal bebas (Gunawan, 2009) sehingga kapasitas antioksidan dan kandungan fenolik produk

enkapsulasi MSP lebih tinggi dari nanoemulsi dan produk enkapsulasi M. Dengan demikian ekstrak jintan hitam yang dijadikan nanoemulsi kemudian disalut dengan bahan penyalut maltodekstrin dan isolat protein kedelai 80:20 (w/w) tetap memiliki kapasitas antioksidan dan kandungan fenolik yang cukup tinggi. Tabel 4 juga memperlihatkan adanya korelasi antara kandungan fenolik dengan kapasitas antioksidan. Hal tersebut dapat disebabkan oleh tingginya potensi senyawa fenolik dalam mereduksi senyawa oksidan (Miguel, 2010 dalam Martos *et al.* 2011), dan kemampuan mendonasikan atom hidrogen (Jung *et al.* 2006).

KESIMPULAN

Ekstrak jintan hitam yang dihasilkan dari metode *reflux* tiga jam memiliki jumlah rendemen dan kapasitas antioksidan tertinggi. Nanoemulsi jintan hitam yang dibuat dengan energi rendah yaitu teknik emulsifikasi spontan dan menggunakan konsentrasi 3% surfaktan memiliki rata-rata ukuran partikel 10.93 nm, keseragaman, dan kestabilan yang baik. Rekonstitusi produk enkapsulasi nanoemulsi lebih banyak berbentuk bulat yang menunjukkan proses enkapsulasi cukup efisien. Penggunaan bahan penyalut kombinasi maltodekstrin dan isolat protein kedelai mampu melindungi kapasitas antioksidan dan kandungan fenol apabila dibandingkan dengan penggunaan maltodekstrin secara tunggal. Untuk pengembangan produk pangan fungsional berbasis jintan hitam dengan teknologi nano menggunakan energi rendah, ekstrak jintan hitam dapat dikombinasikan dengan bahan baku lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Affandi MM, Julianto T, Majeed A. 2011. Development and stability evaluation of astaxanthin nanoemulsion. *Asian J Pharm Clin Res* 4: 142-148.
- ALHaj NA, Shamsudin MN, Alipiah NM, Zamri HF, Bustamam A, Ibrahim S, Abdullah R. 2010. Characterization of *Nigella sativa* L. essential oil – loaded solid lipid nanoparticles. *Am J Pharmacol Toxicol* 5: 52-57. DOI: 10.3844/ajtp.2010.52.57.
- Bourgou S, Ksouri R, Bellila A, Skandrani I, Falleh H, Marzouk B. 2008. Phenolic composition and biological activities of Tunisian *Nigella sativa* L. shoots and roots. *Comptes Rendus Biologies* 331: 48–55. DOI: 10.1016/j.crv.2007.11.001.
- Bouchemal K, Briancon S, Perrier E, Fessi H. 2004. Nano-emulsion formulation using spontaneous emulsification: solvent, oil, and surfactant optimisation. *Int J Pharm* 280: 241-551. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2004.05.016.
- Brandelero RPH, Yamashita F, Grossmann MVE. 2010. The effect of surfactant Tween 80 on the hydrophilicity, water vapor permeation, and the mechanical properties of cassava starch and poly(butylenes adipate-co-terephthalate) (PBAT) blend films. *Carbohydr Polym* 82: 1102–1109. DOI: 10.1016/j.carbpol.2010.06.034.
- Chen L, Remondetto GE, Subirade M. 2006. Food protein-based materials as nutraceutical delivery systems. *Trends*

- Food Sci Technol 17: 272–283. DOI: 10.1016/j.tifs.2005.12.011.
- Dewangan D, Suresh PK. 2011. Nanosized emulsions as a drug carrier for ocular drug delivery: a review. *J Innov Trends Pharm Sci* 2: 59-75.
- Dickinson E. 2012. Use of nanoparticles and microparticles in the formation and stabilization of food emulsions. *Trends Food Sci Tech* 24: 4-12. DOI: 10.1016/j.tifs.2011.09.006.
- Edris AE. 2009. Anti-Cancer Properties of *Nigella* spp. essential oils and their major constituents, thymoquinone and β -elemene. *Curr Clin Pharm* 4: 43-46. DOI: 10.2174/157488409787236137.
- Fang Z, Bhandari B. 2010. Encapsulation of polyphenols - a review. *Trends Food Sci Technol* 21: 510-523. DOI: 10.1016/j.tifs.2010.08.003.
- Farah KM, Atoji Y, Shimizu Y, Shiina T, Nikami H, Takewaki T. 2004. Mechanisms of the hypoglycaemic and immunopotentiating effects of *Nigella sativa* L. oil in streptozotocin-induced diabetic hamsters. *Res Vet Sci* 77: 123–129.
- Gunawan SA. 2009. Studi Sifat Fisikokimia, Sifat Fungsional, Nutrisi dan Kapasitas Antioksidan Konsentrat Protein Tempe Kacang Komak [Tesis]. Bogor [ID]: Institut Pertanian Bogor.
- Harimurti N, Nhestricia N, Subardjo SY, Yuliani S. 2011. Effect of oleoresin concentration and composition of encapsulating materials on properties of the microencapsulated ginger oleoresin using spray drying method. *Indonesian J Agric* 33: 33-39.
- Jung CH, Seog HM, Choi IW, Park MW, Cho HY. 2006. Antioxidant properties of various solvent extracts from wild ginseng leaves. *LWT-Food Sci Technol* 39: 266–274. DOI: 10.1016/j.lwt.2005.01.004.
- Karjiban RA, Basri M, Rahman MBA, Salleh AB. 2012. Structural properties of nonionic Tween 80 micelle in water elucidated by molecular dynamics simulation. *APCBEE Procedia* 3: 287 – 297. DOI: 10.1016/j.apcbee.2012.06.084.
- Kubo I, Chen QX, Nihei KI. 2003. Molecular design of antibrowning agents: antioxidative tyrosinase inhibitors. *Food Chem* 81: 241-247. DOI: 10.1016/S0308-8146(02)00418-1.
- Lovelyn C, Attama AA. 2011. Current state of nanoemulsions in drug delivery. *J Biomater Nanobiotechnol* 2: 626-639. DOI: 10.4236/jbnb.2011.225075.
- Martos MV, Mohamady MA, López JF, ElRazik KAA, Omer EA, Alvarez JAP, Sendra E. 2011. *In vitro* antioxidant and antibacterial activities of essential oils obtained from Egyptian aromatic plants. *Food Control* 22: 1715-1722. DOI: 10.1016/j.foodcont.2011.04.003.
- Mozafari MR, Flanagan J, Matia-Merino L, Awati A, Omri A, Suntres ZE, Singh H. 2006. Recent trends in the lipid-based nanoencapsulation of antioxidants and their role in foods. *J Sci Food Agr* 86: 2038-2045. DOI: 10.1002/jsfa.2576.
- Ravindran J, Nair HB, Sung B, Prasad S, Tekmal RR, Aggarwal BB. 2010. Thymoquinone poly(lactide-co-glycolide) nanoparticles exhibit enhanced anti-proliferative, anti-inflammatory, and chemosensitization potential. *Biochem Pharmacol* 79: 1640-1647. DOI: 10.1016/j.bcp.2010.01.023.
- Rouhou SC, Besbes S, Hentati B, Blecker C, Deroanne C, Attia H. 2007. *Nigella sativa* L.: Chemical composition and physicochemical characteristics of lipid fraction. *Food Chem* 101: 673–681. DOI: 10.1016/j.foodchem.2006.02.022.
- Sansone F, Mencherini T, Picerno P, d'Amore M, Aquino RP, Lauro MR. 2011. Maltodextrin/pectin microparticles by spray drying as carrier for nutraceutical extracts. *J Food Eng* 105: 468–476. DOI: 10.1016/j.jfoodeng.2011.03.004.
- Schalbart P, Kawaji M, Fumoto K. 2010. Formation of tetradecane nanoemulsion by low-energy emulsification methods. *Int J Refrig* 33: 1612-1624. DOI: 10.1016/j.ijrefrig.2010.09.002.
- Silva HD, Cerqueira MA, Vicente AA. 2012. Nanoemulsions for food applications: development and characterization. *Food Bioprocess Technol* 5: 854–867. DOI: 10.1007/s11947-011-0683-7.
- Strychaz S, Shetty K. 2002. Effect of *Agrobacterium rhizogenes* on phenolic content of *Menthapulegium* alite clonal line for phytomedition applications. *Process Biochem* 38: 287-293. DOI: 10.1016/S0032-9592(02)00078-X.
- Sugindro, Mardiyati E, Djajadisastra J. 2008. Pembuatan dan mikroenkapsulasi ekstrak etanol biji jintan hitam pahit (*Nigella sativa* Linn.). *Majalah Ilmu Kefarmasian* 5: 57–66.
- Tasawar Z, Siraj Z, Ahmad N, Lashar MH. 2011. The effects of *nigella sativa* (kalonji) on lipid profile in patients with stable coronary artery disease in multan, Pakistan. *Pakistan J Nutr* 10: 162-167. DOI: 10.3923/pjn.2011.162.167.
- Tubessa Z, Imam MU, Mahmud R, Ismail M. 2013. Study on the potential toxicity of a thymoquinone-rich fraction nanoemulsion in sprague dawley rats. *Molecules* 18: 7460-7472. DOI: 10.3390/molecules18077460.
- Trujillo LS, Graü MAR, Fortuny RS, Belloso OM. 2013. Effect of processing parameters on physicochemical characteristics of microfluidized lemongrass essential oil-alginate nanoemulsions. *Food Hydrocolloid* 30: 401-407. DOI: 10.1016/j.foodhyd.2012.07.004.
- Yasni S, Syamsir E, Direja EH. 2009. Antimicrobial activity of black cumin extracts (*Nigella sativa*) against food pathogenic and spoilage bacteria. *Microbiol Indonesia* 3: 146-150. DOI: 10.5454/mi.3.3.8.
- Zhang J, Liang L, Tian Z, Chen L, Subirade M. 2012. Preparation and in vitro evaluation of calcium-induced soy protein isolate nanoparticles and their formation mechanism study. *Food Chem* 133: 390–399. DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.01.049.