



**OPTIMASI TWEEN 80 DAN ETANOL DALAM NANOEMULSI MINYAK
ATSIRI JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

Oleh:

Mei Dwi Cahyani

NIM 152210101046

BAGIAN BIOLOGI FARMASI

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS JEMBER

2019

HALAMAN JUDUL



**OPTIMASI TWEEN 80 DAN ETANOL DALAM NANOEMULSI MINYAK
ATSIRI JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Farmasi
dan mencapai gelar Sarjana Farmasi

Oleh:

Mei Dwi Cahyani
NIM 152210101046

**BAGIAN BIOLOGI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, hidayah, dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir skripsi.
2. Orang tua tercinta, Bapak Asrofi, Ibu Sunarsih, dan Almarhumah Ibu Seniri yang senantiasa mendukung, membimbing dan mendoakan penulis.
3. Kakak saya Setiawan Budi Prayitno dan Lintan Kurnia Farisqi yang telah mendukung dan mendoakan penulis.
4. Ibu Indah Yulia N, S.Farm., M.Farm., Apt. dan Bapak Viddy Agustian R, S.Farm., M.Sc., Apt yang telah berkenan membimbing penulis dan memberikan masukan hingga skripsi ini dapat terselesaikan dengan baik.
5. Sahabat saya Ulul Baqiyati, Cholista Riski Yesida, Alik Almawadah, Ajeng Siska Sari I.P, dan Friskha Herlita Putri, terimakasih telah mendukung dan memberikan semangat untuk segera menyelesaikan tugas akhir skripsi penulis.
6. Bapak dan ibu guru TK Tribakti, SDN Karangwungu Kidul, SMPN 1 Karanggeneng, MAN Lamongan serta bapak ibu dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah memberikan ilmu yang bermanfaat bagi penulis.
7. Almamater tercinta, Fakultas Farmasi Universitas Jember.

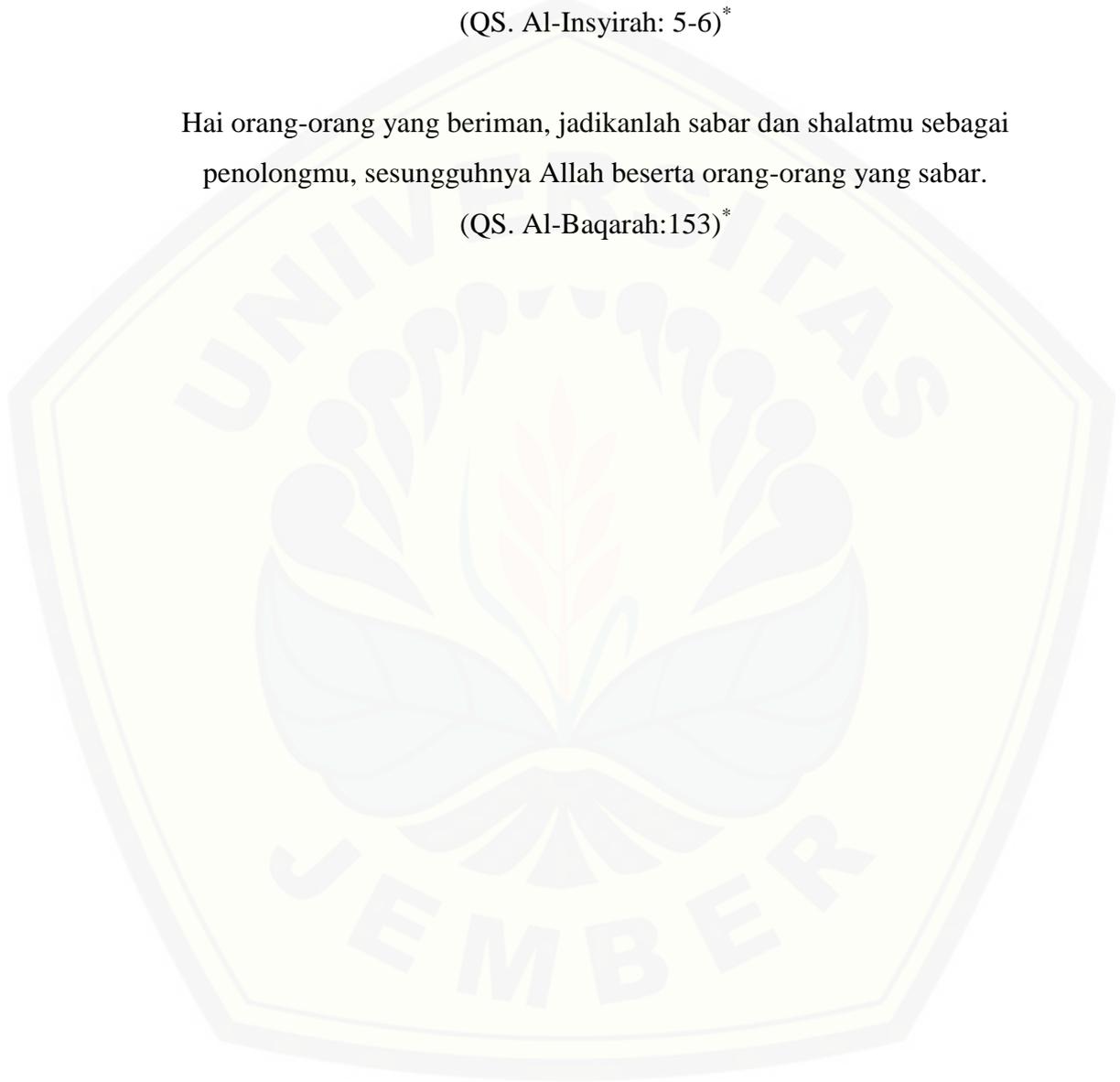
MOTO

Sesungguhnya sesudah kesulitan itu ada kemudahan. Sesungguhnya sesudah
kesulitan itu ada kemudahan.

(QS. Al-Insyirah: 5-6)*

Hai orang-orang yang beriman, jadikanlah sabar dan shalatmu sebagai
penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.

(QS. Al-Baqarah:153)*



* Departemen Agama Republik Indonesia. 2009. AlQur'an dan Terjemahannya. Semarang: PT. Kumudasmoro Grafindo

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

nama : Mei Dwi Cahyani

NIM : 152210101046

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul ” Optimasi Tween 80 dan Etanol dalam Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) sebagai Antioksidan ” merupakan hasil karya sendiri, belum pernah diajukan di institusi mana pun, dan bukan karya tiruan, kecuali kutipan yang saya sebutkan sumbernya. saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 16 Juli 2019

Yang menyatakan,

Mei Dwi Cahyani

NIM 152210101046

SKRIPSI

**OPTIMASI TWEEN 80 DAN ETANOL DALAM NANOEMULSI MINYAK
ATSIRI JAHE EMPRIT (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) SEBAGAI
ANTIOKSIDAN**

Oleh:

Mei Dwi Cahyani

NIM 1522101046

Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Indah Yulia N, S.Farm., M.Farm., Apt.

Dosen Pembimbing Anggota : Viddy Agustian R, S.Farm., M.Sc., Apt

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Optimasi Tween 80 dan Etanol dalam Nanoemulsi Minyak
Atsiri Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) sebagai Antioksidan” karya Mei Dwi
Cahyani telah diuji dan disahkan pada:

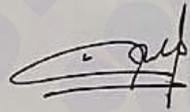
hari, tanggal : Selasa, 16 Juli 2019

tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Tim Pembimbing

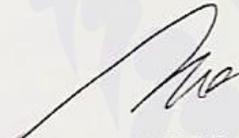
Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,



Indah Yulia N, S.Farm.,M.Farm.,Apt

NIP 198407122008122002



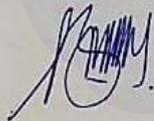
Viddy Agustian R, S.Farm.,M.Sc.,Apt

NIP 198608302009121007

Tim Penguji

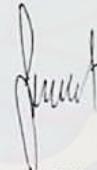
Dosen Penguji I

Dosen Penguji II



Bawon Triatmoko, S.Farm.,M.Sc.,Apt

NIP198201292009121003



Dr. Lina Winarti, S.Farm.,M.Sc.,Apt

NIP 197910192006042002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember,



Lestyo Willandari, S.Si.,M.Farm.,Apt

NIP 197604142002122001

RINGKASAN

Optimasi Tween 80 dan Etanol dalam Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) sebagai Antioksidan: Mei Dwi Cahyani: 152210101046; 2019; 99 Halaman; Fakultas Farmasi, Universitas Jember.

Radikal bebas merupakan molekul yang tidak stabil, memiliki elektron tidak berpasangan sehingga bersifat reaktif (Pham-huy dkk., 2008). Paparan radikal bebas yang berlebih dapat dinetralkan dengan menggunakan antioksidan (Badarinath dkk., 2010). Salah satu antioksidan eksogen alami adalah minyak atsiri jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*), kandungan minyak atsiri jahe emprit cukup banyak dibanding jahe gajah (Setyawan, 2002). Menurut Azizah dkk. (2018) minyak atsiri jahe emprit memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 1mg/mL. Oleh karena itu, minyak atsiri jahe emprit dapat dijadikan sebagai antioksidan alami. Penggunaan minyak atsiri jahe emprit secara langsung sebagai antioksidan kurang efektif dan memiliki beberapa kekurangan yaitu tidak stabil, mudah menguap, sensitif terhadap cahaya, udara, dan panas, sehingga dapat menyebabkan bioavailabilitas minyak atsiri menurun (Bilia dkk., 2002). Oleh karena itu, minyak atsiri perlu dikembangkan menjadi sediaan farmasi agar memiliki efek maksimal, stabil dan mudah diaplikasikan seperti nanoemulsi.

Nanoemulsi adalah sistem emulsi transparan yang biasanya memiliki ukuran droplet antara 20-600 nm (Jaiswal dan Dudhe, 2015). Nanoemulsi memiliki ukuran droplet yang kecil, sehingga dapat menembus permukaan kulit dan dapat meningkatkan penetrasi bahan aktif melalui kulit (Bhatt dan Madhav, 2011). Ukuran nanoemulsi yang kecil juga stabil terhadap flokulasi, *creaming*, koalesensi, dan sedimentasi dibandingkan emulsi (Kale dan Deore, 2017). Salah satu komponen terpenting dari nanoemulsi yaitu surfaktan, yang dapat menstabilkan sistem nanoemulsi dengan mengurangi tegangan antar muka cairan (Sutradhar dan Amin, 2013).

Surfaktan dan kosurfaktan yang dapat digunakan dalam formula sediaan nanoemulsi adalah tween 80 dan etanol 96%. Tween 80 merupakan surfaktan non ionik yang biasa digunakan sebagai agen pengemulsi yang aman, tidak toksik dan

tidak mengiritasi (Rowe dkk., 2015). Etanol 96% adalah kosurfaktan yang dapat mengurangi tegangan antar muka sediaan nanoemulsi. Kombinasi antara surfaktan dan kosurfaktan dengan konsentrasi yang tepat akan menghasilkan nanoemulsi yang stabil (Sutradhar dan Amin, 2013).

Berdasarkan hasil analisis menggunakan *design expert* 11 diperoleh formula optimum dengan proporsi tween 80 sebanyak 3 mL dan etanol 96% sejumlah 1 mL dengan prediksi respon transmittan sebesar 99,759%, pH 6,163, dan IC_{50} 2,486mg/mL. Hasil karakterisasi formula optimum memiliki tipe minyak dalam air (m/a) dengan aroma khas jahe, jernih, kental, berwarna kuning, homogen dan tidak terjadi pemisahan antara fase minyak dan air. Pengujian bobot jenis dan viskositas formula optimum menunjukkan nilai rata-rata sebesar $1,0197 \pm 0,0001$ g/mL dan $62,1703 \pm 1,7599$ mPas. Hasil pengujian stabilitas formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit bersifat stabil dan memiliki ukuran partikel rata-rata sebesar $24,133 \pm 1,026$ nm, bersifat monodispersi dengan indeks polidispersi rata-rata sebesar $0,429 \pm 0,030$.

Hasil verifikasi antara prediksi *simplex lattice design* dan hasil percobaan menunjukkan bahwa respon transmittan dan pH memiliki nilai signifikansi 0,270 dan 0,070. Sedangkan, respon IC_{50} memiliki nilai signifikansi 0,000. Nilai signifikansi $< 0,05$ berarti antara hasil prediksi simplex lattice dan hasil percobaan berbeda signifikan. Nilai signifikansi $> 0,05$ berarti tidak ada perbedaan signifikan antara hasil prediksi simplex lattice dan hasil percobaan.

PRAKATA

Alhamdulillah Robbil ‘alamiin, segala puji bagi Allah SWT, atas segala nikmat dan rahmat serta hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Optimasi Tween 80 dan Etanol dalam Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) sebagai Antioksidan. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan beberapa pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Orang tua tercinta, Bapak Asrofi, Ibu Sunarsih, dan Almarhumah Ibu Seniri.
2. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember, Ibu Lestyo Wulandari, S.Si., Apt., M.Farm.
3. Ibu Indah Yulia N, S.Farm., M.Farm., Apt. dan Bapak Viddy Agustian R, S.Farm., M.Sc., Apt selaku Dosen Pembimbing Utama dan Dosen Pembimbing Anggota yang telah memberikan bimbingan, waktu, dan saran kepada penulis dalam menyelesaikan tugas akhir skripsi.
4. Bapak Bawon Triatmoko, S.Farm., M.Sc., Apt dan Ibu Dr. Lina Winarti, S.Farm., M.Sc., Apt selaku Dosen Penguji I dan Penguji II. Terimakasih atas waktu, kritik, dan saran yang diberikan demi kesempurnaan skripsi ini.
5. Ibu Afifah Machlaurin, S.Farm., M.Sc., Apt. dan Bapak Ari Satia N., S.F. Gdip.Sc-res., Apt., Ph.D., selaku Dosen Pembimbing Akademik.
6. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember.
7. Teman-teman praktikum Juhmawi, Ita Husnul C, Vinach Anggraeni.
8. Teman-teman kos, Elly Safitri, Puji Arini, Elif Nur Aidah, dan Septi Orbita S.

Hanya ucapan terima kasih yang dapat penulis sampaikan karena telah memberikan bimbingan, kritik, dan saran sehingga tugas akhir skripsi dapat terselesaikan. Semoga skripsi ini bermanfaat.

Jember, 16 Juli 2019

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN BIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
HALAMAN RINGKASAN	viii
HALAMAN PRAKATA	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tinjauan Minyak atsiri	5
2.1.1 Deskripsi Minyak Atsiri	5
2.2 Tinjauan Tentang Jahe Emprit	5
2.2.1 Klasifikasi Jahe.....	5
2.2.2 Deskripsi Jahe Emprit	6
2.2.3 Kandungan Kimia dan Khasiat Jahe.....	6
2.3 Radikal Bebas dan Aktivitas Antioksidan.....	8
2.4 Tinjauan Tentang Nanoemulsi	9
2.4.1 Deskripsi Nanoemulsi.....	9
2.4.2 Komponen Nanoemulsi.....	10
2.4.3 Teknik Pembuatan Nanoemulsi.....	11
2.4.4 Karakteristik Nanoemulsi.....	12

2.5 Uji Peredaman DPPH (<i>1,1-difenil-2-pikrilhidrazil</i>).....	14
2.6 Monografi bahan.....	16
2.6.1 Tween 80.....	16
2.6.2 Etanol 96%.....	17
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN.....	18
3.1 Jenis Penelitian.....	18
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian.....	18
3.3 Variabel Penelitian	18
3.3.1 Variabel Bebas	18
3.3.2 Variabel Terikat	18
3.3.3 Variabel Terkendali	18
3.4 Rancangan Penelitian	18
3.4.1 Alat uji	20
3.4.2 Bahan uji	20
3.5 Prosedur Penelitian.....	20
3.5.1 Susunan Formulasi Penelitian.....	20
3.5.2 Preparasi Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit.....	20
3.5.3 Karakterisasi Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit	22
3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan Dengan Metode DPPH	24
3.5.5 Pembuatan Larutan Asam Galat	24
3.5.6 Penentuan Waktu Inkubasi	24
3.5.7 Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Uji dan Asam Galat.....	25
3.5.8 Analisis Data.....	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
4.1 Penentuan Formula Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit.....	27
4.2 Pengamatan Organoleptis Nanoemulsi.....	29
4.3 Analisis <i>Simplex Lattice Design</i>	30
4.3.1 Uji Transmittan Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit	30
4.3.2 Uji pH Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit	33
4.3.3 Uji Aktivitas Antioksidan IC ₅₀ (mg/mL) Nanoemulsi.....	35
4.4 Penentuan Formula Optimum Nanoemulsi	38

4.5	Karakterisasi Formula Optimum Nanoemulsi	39
4.5.1	Pengujian Organoleptis.....	39
4.5.2	Pengujian Bobot Jenis.....	40
4.5.3	Pengukuran Viskositas.....	40
4.5.4	Pengujian Stabilitas.....	40
4.5.5	Pengujian <i>Dye test</i> (tipe nanoemulsi)	41
4.5.6	Pengujian Ukuran Partikel	41
4.6	Verifikasi Formula Optimum Nanoemulsi.....	42
BAB 5.	KESIMPULAN	44
5.1	Kesimpulan.....	44
5.2	Saran	44
	DAFTAR PUSTAKA	46
	LAMPIRAN.....	51

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2. 1 Komponen Minyak Atsiri Jahe Emprit	7
Tabel 2. 2 Kekuatan Antioksidan.....	15
Tabel 3. 1 Formulasi Optimum	20
Tabel 3. 2 Kriteria Respon	25
Tabel 4. 1 Pengamatan Organoleptis Nanoemulsi	29
Tabel 4. 2 Pengujian Respon Transmitan Nanoemulsi	30
Tabel 4. 3 Hasil Pengujian Respon pH Nanoemulsi.....	33
Tabel 4. 4 Hasil Pengujian Respon IC ₅₀ Nanoemulsi	36
Tabel 4. 5 Prediksi <i>Simplex Lattice Design</i> Dan Hasil Percobaan.....	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2. 1 Jahe Emprit.....	6
Gambar 2. 2 Struktur Kimia Tween 80.....	16
Gambar 2. 3 Struktur Kimia Etanol	17
Gambar 3. 1 Gambar Skema Kerja Penelitian	19
Gambar 3. 2 Skema Pembuatan Nanoemulsi.....	21
Gambar 4. 1 Hasil Orientasi Surfaktan Dan Kosurfaktan.....	28
Gambar 4. 3 Hasil Analisis Grafik Respon Nilai Transmittan.....	32
Gambar 4. 4 Hasil Analisis Grafik Respon Nilai Ph.....	34
Gambar 4. 5 Hasil Analisis Grafik Respon Nilai IC ₅₀	37
Gambar 4. 6 Hasil Kurva <i>Desirability</i>	39
Gambar 4. 7 Formula Optimum Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit.....	40
Gambar 4. 8 Hasil Pengujian <i>Dye Test</i>	41

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran A. Sertifikat minyak atsiri jahe emprit.....	51
Lampiran B. Evaluasi Respon	52
B. 1 Hasil Transmitan (%) Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit .	52
B. 2 Hasil pH Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit.....	52
B. 3 Hasil IC ₅₀ mg/mL Nanoemulsi	52
Lampiran C. Perhitungan Konsentrasi Nanoemulsi dan Asam Galat	53
C. 1 Perhitungan Konsentrasi Minyak Atsiri Jahe Emprit	53
C. 2 Perhitungan Larutan Uji dari Nanoemulsi.....	53
C. 3 Perhitungan Konsentrasi Larutan Standar Asam Galat	53
Lampiran D. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum 517 nm	55
Lampiran E. Penentuan Waktu Inkubasi.....	56
E. 1 Waktu Inkubasi Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit.....	56
E. 2 Waktu Inkubasi Asam Galat	57
Lampiran F Kurva Waktu Inkubasi	57
F. 1 Kurva Waktu Inkubasi Nanoemulsi	57
F. 2 Kurva Waktu Inkubasi Asam Galat	58
Lampiran G. Kurva % Inhibisi	59
G. 1 Kurva % Inhibisi Nanoemulsi Formula 1.....	59
G. 2 Kurva % Inhibisi Nanoemulsi Formula 2.....	60
G. 3 Kurva % Inhibisi Nanoemulsi Formula 3.....	61
G. 4 Kurva % Inhibisi Asam Galat	62
Lampiran H. Hasil Karakterisasi Formula Optimum	63
H. 1 Pengujian Bobot Jenis	63
H. 2 Pengujian Viskositas	63
H. 3 Hasil Pengujian Stabilitas.....	64
H. 4 Sertifikat Pengujian Ukuran Partikel.....	66
Lampiran I. Verifikasi Formula Optimum	69
I. 1 % Inhibisi Formula Optimum	69

I. 2 Kurva % Inhibisi Formula Optimum	69
I. 3 Hasil IC ₅₀ Formula Optimum (1).....	70
I. 4 Hasil Transmitan Formula Optimum (1)	70
I. 5 Hasil pH Formula Optimum (1).....	70
Lampiran J. Hasil Analisis Data Menggunakan Design Expert 11.....	71
J. 1 Transmitan	71
J. 2 pH	74
J. 3 IC ₅₀	77
Lampiran K. Uji Normalitas dan Homogenitas	81
K. 1 Transmitan.....	81
K. 2 pH.....	83
K. 3 IC ₅₀	84
Lampiran L. Hasil Uji Normalitas Formula Optimum.....	86
L. 1 Transmitan	86
L. 2 pH.....	86
L. 3 IC ₅₀	86
Lampiran M. Hasil One Simple T-Test	86
M. 1 Transmitan	86
M. 2 pH	87
M. 3 IC ₅₀	87

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang tidak stabil, memiliki elektron tidak berpasangan sehingga dapat bereaksi dengan berbagai substrat organik seperti lipid, protein, dan DNA (Pham-huy dkk., 2008). Elektron yang tidak berpasangan dari radikal bebas ini, dapat menyerang molekul sel tubuh yang sehat dengan menarik elektronnya, sehingga molekul yang diserang akan kehilangan elektron dan menimbulkan kerusakan sel (Badarinath dkk., 2010). Kerusakan sel yang diakibatkan oleh paparan radikal bebas berlebih, dapat menyebabkan stress oksidatif dan menimbulkan berbagai penyakit kronis dan mempercepat proses penuaan (Pham-huy dkk., 2008). Kulit merupakan salah satu organ tubuh yang rentan terhadap paparan radikal bebas seperti radiasi, polusi, asap rokok, dan sinar matahari (Rohmatussolihat, 2009). Untuk mencegah paparan radikal bebas yang berlebih dapat dinetralisir dengan menggunakan antioksidan.

Antioksidan adalah senyawa yang dapat mendonorkan elektron kepada molekul radikal bebas, sehingga molekul radikal bebas stabil dan tidak menarik elektron dari sel tubuh yang sehat (Winarsi, 2007). Ada dua jenis antioksidan yaitu endogen dan eksogen. Antioksidan endogen dihasilkan secara alami oleh tubuh, sedangkan antioksidan eksogen diperoleh dari luar tubuh melalui makanan atau suplemen (Pham-huy dkk., 2008). Tubuh manusia memiliki antioksidan endogen yang terbatas, apabila terjadi paparan radikal bebas yang berlebih maka diperlukan antioksidan eksogen (Asmarani dan Wahyuningsih, 2015).

Salah satu antioksidan eksogen alami adalah minyak atsiri jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*). Kandungan minyak atsiri jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) cukup banyak dibandingkan dengan jahe gajah (Setyawan, 2002). Menurut Azizah dkk. (2018), minyak atsiri jahe emprit memiliki aktivitas antioksidan dengan IC_{50} sebesar 1 mg/mL. Oleh karena itu, minyak atsiri jahe emprit dapat dijadikan sebagai antioksidan alami.

Penggunaan minyak atsiri secara langsung sebagai antioksidan kurang efektif dan memiliki beberapa kekurangan yaitu tidak stabil, mudah menguap, sensitif terhadap cahaya, udara, dan panas, sehingga dapat menyebabkan menurunnya bioavailabilitas minyak atsiri (Bilia dkk., 2002). Oleh karena itu, minyak atsiri sebagai bahan aktif perlu dikembangkan menjadi formulasi sediaan farmasi yang dapat menutupi kekurangan minyak atsiri agar memiliki efek maksimal dan mudah diaplikasikan serta lebih stabil seperti nanoemulsi.

Nanoemulsi adalah sistem emulsi transparan yang biasanya memiliki ukuran droplet antara 20-600 nm (Jaiswal dan Dudhe, 2015). Nanoemulsi memiliki ukuran droplet yang kecil, sehingga dapat menembus permukaan kulit dan dapat meningkatkan penetrasi bahan aktif melalui kulit. Sistem ini juga dapat digunakan sebagai pembawa obat yang tepat ke daerah yang lebih spesifik dan ditargetkan (Bhatt dan Madhav, 2011). Ukuran nanoemulsi yang kecil juga stabil terhadap flokulasi, *creaming*, koalesensi, dan sedimentasi dibandingkan dengan sediaan emulsi (Kale dan Deore, 2017). Sediaan nanoemulsi terdiri dari tiga komponen nanoemulsi yaitu fase minyak, surfaktan/kosurfaktan dan fase air. Salah satu komponen terpenting dari nanoemulsi yaitu surfaktan, yang dapat menstabilkan sistem nanoemulsi dengan mengurangi tegangan antar muka cairan (Sutradhar dan Amin, 2013).

Surfaktan dan kosurfaktan yang dapat digunakan dalam formula sediaan nanoemulsi adalah tween 80 dan etanol 96%. Tween 80 merupakan surfaktan non ionik yang biasa digunakan sebagai agen pengemulsi yang aman, tidak toksik dan tidak mengiritasi (Rowe dkk., 2015). Selain itu, penggunaan tween 80 sebagai surfaktan juga dapat menghasilkan ukuran dropet <100 nm dibandingkan dengan tween 21 dan tween 85 (Hasan dkk., 2017). Etanol 96% adalah kosurfaktan yang dapat mengurangi tegangan antar muka sediaan nanoemulsi. Kombinasi antara surfaktan dan kosurfaktan dengan konsentrasi yang tepat akan menghasilkan nanoemulsi yang stabil (Sutradhar dan Amin, 2013).

Berdasarkan uraian diatas, maka diperlukan penelitian untuk memperoleh formulasi optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit sebagai antioksidan melalui optimasi tween 80 dan etanol 96% sebagai surfaktan dan kosurfaktan

dengan metode *simplex lattice design*. Respon yang diamati ada penelitian ini yaitu pH, transmittan, dan aktivitas antioksidan. Selanjutnya formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit yang diperoleh diuji karakteristik fisiknya yang terdiri dari stabilitas, viskositas, organoleptis, bobot jenis, *dye test*, dan ukuran patikel serta aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} .

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Bagaimana pengaruh tween 80, etanol 96% dan kombinasi keduanya terhadap transmittan dalam sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit?
2. Bagaimana pengaruh tween 80, etanol 96% dan kombinasi keduanya terhadap pH dalam sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit?
3. Bagaimana pengaruh tween 80, etanol 96% dan kombinasi keduanya terhadap aktivitas antioksidan dalam sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit?
4. Bagaimana formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit menggunakan metode *simplex lattice design*?
5. Bagaimana karakteristik fisik dari formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit?
6. Bagaimana verifikasi antara prediksi *simplex lattice design* dan hasil pengujian?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukanya penelitian ini adalah sebagai berikut :

1. Mengetahui pengaruh tween 80, etanol 96% dan kombinasi keduanya terhadap transmittan dalam sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit.
2. Mengetahui pengaruh tween 80, etanol 96% dan kombinasi keduanya terhadap pH dalam sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit.

3. Mengetahui pengaruh tween 80, etanol 96% dan kombinasi keduanya terhadap aktivitas oksidan dalam sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit.
4. Mengetahui formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit menggunakan metode *simplex lattice design*.
5. Mengetahui karakteristik fisik dari formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit.
6. Mengetahui verifikasi antara prediksi *simplex lattice design* dan hasil pengujian.

1.4 Manfaat Penelitian

Diharapkan penelitian ini dapat digunakan sebagai informasi ilmiah terutama dalam mengembangkan sediaan nanoemulsi dengan menggunakan minyak atsiri jahe emprit, dan dapat dijadikan referensi untuk penelitian lanjutan dalam pengembangan minyak atsiri jahe emprit.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Minyak atsiri

2.1.1 Deskripsi minyak atsiri

Minyak atsiri atau dikenal sebagai minyak eteris atau minyak terbang (*esssential oil* atau *volatile oil*) merupakan minyak yang mudah menguap dan memiliki aroma khas, yang diperoleh dari berbagai bagian tumbuhan seperti akar, daun, batang, ranting, bunga dan buah, biji, kulit biji. Secara fisik minyak atsiri berupa cairan kental dan dapat disimpan pada suhu ruang. Minyak atsiri termasuk salah satu jenis minyak nabati yang memiliki banyak manfaat (Rusli, 2010). Dalam bidang kesehatan, minyak atsiri biasanya digunakan untuk berbagai penyembuhan penyakit yang terbukti secara empiris maupun ilmiah. Senyawa aktif dari minyak atsiri juga memiliki kemampuan sebagai antiradang, antibakteri, penambah nafsu makan, deodorant, insektisida, dan sedatif (Mustamin, 2015).

2.2 Tinjauan Tentang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*)

2.2.1 Klasifikasi jahe

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Viridiplantae
Infrakingdom	: Streptophyta
Superdivisi	: Embryophyta
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Superorder	: Lilianae
Order	: Zingiberales
Family	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: <i>Zingiber officinale</i> var. <i>Amarum</i>



Gambar 2. 1 Jahe emprit(Sumber: dokumentasi pribadi)

2.2.2 Deskripsi jahe emprit

Berdasarkan warna, aroma, bentuk, dan besar rimpang terdapat tiga varietas jahe di Indonesia yaitu jahe merah atau jahe sunti, jahe gajah atau jahe badak, dan jahe emprit atau biasa disebut jahe kecil (Herlina dkk., 2002). Jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) secara morfologi terdiri dari rimpang, akar, batang, daun dan bunga. Tinggi tanaman jahe emprit sekitar $49,16 \pm 7,29$ cm. Ukuran rimpang jahe emprit lebih kecil daripada jahe gajah dan lebih besar daripada jahe merah, kadang-kadang berbentuk seperti umbi agak pipih dan menggelembung, seratnya agak kasar, mempunyai rasa yang pedas, dan aroma yang tajam. Panjang akar sekitar 20,5-21,1 cm dengan diameter 4,8-5,9 mm, sedangkan tinggi rimpang 7,86-11,1 cm, panjang 16,13-31,7 cm dan lebar 6,38-11,1 cm. Jahe emprit juga memiliki batang yang berbentuk bulat agak keras dan berwarna hijau muda serta terdapat pelepah daun. Daun jahe emprit berjumlah $24,70 \pm 4,33$ berselang-seling teratur dan daunnya berwarna hijau muda dengan lebar daun 2,24-3,26 cm dan lebar tajuk $39,90 \pm 4,97$ cm, serta memiliki panjang bunga 4-4,2 cm (Santoso, 1994; Setyaningrum dan Saparinto, 2013).

2.2.3 Kandungan kimia dan khasiat jahe

Komponen kimia yang paling banyak terkandung dalam minyak atsiri jahe emprit yaitu *camphene* (Supriyanto dan Cahyono, 2012). Enam komponen utama minyak atsiri jahe emprit dari yang paling banyak yaitu *camphene*, *curcumene*, *eucalyptol*, *citral*, *zingiberene*, dan *borneol* seperti yang terdapat pada Tabel 2.1.

Tabel 2. 1 Komponen minyak atsiri jahe emprit

Komponen	Total dalam minyak atsiri (%)
Monoterpenes	
<i>Pinene</i>	2,68
<i>Camphene</i>	13,94
<i>Myrcene</i>	1,66
Oxygenated Monoterpenes	
<i>Eucalyptol</i>	7,11
<i>Linalool</i>	1,77
<i>Borneol</i>	4,42
<i>Citronellol</i>	1,18
<i>Geraniol</i>	2,75
<i>Citral</i>	5,56
<i>Sulcatone</i>	1,14
<i>Rose Furan Oxide</i>	1,19
Sesquiterpenes	
<i>Curcumene</i>	8,06
<i>Zingiberene</i>	5,33
<i>Farnesene</i>	1,78
<i>Bisabolene</i>	2,57
<i>Sesquiphellandrene</i>	4,13
<i>trans-Sesquisabinene hydrate</i>	1,34
<i>Isoitalicene</i>	2,03
Oxygenated Sesquiterpenes	
<i>Elemol</i>	1,08
<i>Zingiberenol</i>	3,08

(Azizah dkk., 2018)

Minyak atsiri jahe emprit mengandung senyawa fenol seperti *linalool*, *borneol*, *citronellol* dan *geraniol*. Senyawa fenol diketahui memiliki aktivitas antioksidan dan antiinflamasi (Jeena dkk., 2013). Penelitian Kaban dkk. (2016), mengatakan bahwa ekstrak jahe emprit memiliki aktivitas antioksidan sebesar 32,19 ppm. Rimpang jahe umumnya digunakan sebagai rempah, namun jahe juga bisa digunakan sebagai obat khususnya obat herbal seperti sakit perut dan masuk angin. Rimpang jahe juga diolah menjadi jamu (obat tradisional) yang dipercaya dapat menyembuhkan berbagai penyakit seperti penyakit degeneratif, penurunan imunitas dan penurunan vitalitas. Manfaat lain dari jahe yaitu sebagai bahan pembuatan kue, minuman dan permen (Setyaningrum dan Saparinto, 2013).

2.3 Radikal Bebas dan Aktivitas Antioksidan

Radikal bebas merupakan molekul reaktif yang tidak stabil, memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan, sehingga dapat bereaksi dengan substrat organik seperti, lipid, protein, dan DNA. Elektron yang tidak berpasangan dari radikal bebas ini, dapat menyerang molekul yang stabil dengan menarik elektronnya, sehingga molekul yang stabil kehilangan elektronnya dan menjadi radikal bebas. Ketika radikal bebas diproduksi berlebihan dalam tubuh, maka akan terjadi stres oksidatif yang dapat mengakibatkan kerusakan pada membran sel dan struktur protein, lipid, lipoprotein, dan DNA. Stres oksidatif dapat menimbulkan berbagai penyakit kronis, degeneratif dan mempercepat proses penuaan (Pham-huy dkk., 2008; Badarinath dkk., 2010).

Berdasarkan sumbernya, radikal bebas dibagi menjadi dua yaitu endogen dan eksogen. Endogen berasal dari dalam tubuh seperti, proses autooksidasi, oksidasi enzimatik, dan fagositosis dalam respirasi. Eksogen yang berasal dari luar tubuh yaitu sinar UV, radiasi, polusi, asap rokok, dan pestisida. Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh inilah yang berperan dalam proses penuaan. Oleh karena itu, diperlukan antioksidan eksogen untuk menetralkan radikal bebas yang masuk ke dalam tubuh (Rohmatussolihat, 2009; Werdhasari, 2014).

Antioksidan merupakan suatu senyawa yang dapat menangkal radikal bebas dengan mendonorkan elektron atau reduktan kepada molekul radikal bebas, sehingga terbentuk senyawa non radikal yang lebih stabil, dan mencegah kerusakan sel (Winarsi, 2007; Rohmatussolihat, 2009). Awalnya terjadi pembentukan radikal bebas (inisiasi), perpanjangan rantai radikal (propagasi), dan bereaksinya senyawa radikal bebas dengan radikal lainnya, sehingga propagasinya rendah (terminasi). Pembentukan radikal bebas ini dapat dihambat dengan tiga cara yaitu dengan mencegah pembentukan radikal bebas baru, memutus rantai (propagasi), dan memperbaiki kerusakan yang diakibatkan oleh radikal (Winarsi, 2007).

Antioksidan dapat digolongkan menjadi antioksidan enzimatis dan non enzimatis. Antioksidan enzimatis merupakan antioksidan utama yang berperan dalam mencegah senyawa radikal bebas baru (misalnya superoksida dismutase atau SOD, katalase, dan glutathion peroksidase). Antioksidan non enzimatis dibagi

menjadi metabolik dan nutrisi. Antioksidan metabolik termasuk antioksidan endogen yang diproduksi dari metabolisme dalam tubuh, seperti asam lipoid, glutathion, L-arginine, koenzim Q10, melatonin, asam urat, bilirubin. Sedangkan, antioksidan nutrisi atau eksogen tidak dapat diproduksi dari dalam tubuh tetapi diperoleh dari asupan makanan atau suplemen, seperti vitamin, A, C, E dan β -karoten (Pham-huy dkk., 2008). Antioksidan non enzimatis bekerja dengan menangkap reaksi oksidasi dan mencegah terjadinya reaksi berantai (Winarsi, 2007)

2.4 Tinjauan Tentang Nanoemulsi

2.4.1 Deskripsi nanoemulsi

Nanoemulsi atau submikron emulsi (SME) atau mini emulsi adalah sistem emulsi transparan yang bertindak sebagai pembawa molekul obat dan memiliki ukuran mulai dari 20-600 nm (Jaiswal dan Dudhe, 2015). Ukuran partikel yang kecil dapat meningkatkan stabilitas nanoemulsi. Formulasi sistem nanoemulsi bisa digunakan untuk pengiriman obat tertarget dan terkendali.

Adapun beberapa keuntungan nanoemulsi yaitu (Bhatt dan Madhav, 2011):

- a. Tidak toksik dan tidak mengiritasi, sehingga cocok digunakan pada kulit dan selaput lendir
- b. Cocok untuk tujuan terapeutik manusia dan hewan karena tidak merusak sel yang sehat
- c. Dapat menembus permukaan kulit dan meningkatkan penetrasi bahan aktif karena memiliki ukuran partikel yang kecil.
- d. Dapat mencegah terjadinya *creaming*, flokulasi, koalesensi, dan sedimentasi karena memiliki ukuran partikel yang kecil.
- e. Nanoemulsi merupakan sistem transportasi yang efektif karena memiliki area permukaan yang luas, sehingga dapat menurunkan tegangan antar permukaan.
- f. Nanoemulsi juga bisa digunakan untuk penghantaran obat yang tidak larut dalam air

Kekurangan nanoemulsi antara lain (Patel dan Joshi, 2012) :

- a. Konsentrasi surfaktan dan kosurfaktan yang diperlukan dalam sediaan nanoemulsi besar agar terbentuk nanoemulsi yang stabil.
- b. Surfaktan tidak boleh toksik untuk penggunaan dalam bidang farmasi.
- c. Kapasitas pelarutan terbatas untuk zat yang memiliki titik didih tinggi.
- d. Stabilitas nanoemulsi dipengaruhi oleh pH dan suhu.

Nanoemulsi terdiri dari tiga tipe, yaitu nanoemulsi minyak dalam air (m/a), nanoemulsi air dalam minyak (a/m), dan nanoemulsi bikontinyu. Faktor-faktor yang harus diperhatikan selama persiapan nanoemulsi yaitu surfaktan yang dipilih harus sesuai sehingga dapat menurunkan tegangan antar muka, konsentrasi surfaktan harus besar agar menghasilkan tegangan antar muka rendah, dan surfaktan yang dipilih harus fleksibel agar dapat terbentuk nanoemulsi (Jaiswal dan Dudhe, 2015).

2.4.2 Komponen nanoemulsi

Pada umumnya komponen nanoemulsi terdiri dari fase minyak, surfaktan, kosurfaktan, dan fase air.

a. Fase Minyak

Fase minyak bersifat hidrofobik. Fase minyak sangat penting karena akan mempengaruhi pemilihan surfaktan dan kosurfaktan yang akan digunakan. Selain itu, fase minyak juga menentukan tipe nanoemulsi terutama dalam fase m/a yang biasanya mengandung 5-20% *droplet* minyak. Fase minyak dalam nanoemulsi juga bisa digunakan sebagai pembawa obat yang bersifat hidrofobik (Singh dkk., 2017).

b. Surfaktan

Surfaktan merupakan komponen integral dari sistem nanoemulsi yang digunakan untuk menurunkan tegangan permukaan antar dua cairan yang tidak larut atau tidak saling bercampur dengan mengurangi gaya tolak antar cairan dan gaya tarik menarik antar molekul. Surfaktan tidak boleh toksik dan tidak mengiritasi kulit untuk sediaan topikal.

Nilai HLB dari surfaktan akan menentukan tipe nanoemulsi. Apabila surfaktan yang digunakan memiliki nilai HLB 3 sampai 6 maka akan terbentuk nanoemulsi tipe air dalam minyak (a/m). Sedangkan surfaktan yang memiliki

nilai HLB 8 sampai 18 akan terbentuk nanoemulsi minyak dalam air (m/a) (Ansel, 1989; Choudhury dkk., 2017).

c. Fase air

Fase air yang sering digunakan yaitu akuades atau air dan memiliki sifat hidrofilik. Konsentrasi air sebagai fase air dalam nanoemulsi perlu diperhatikan karena akan mempengaruhi penentuan tipe nanoemulsi.

2.4.3 Teknik Pembuatan Nanoemulsi

Teknik pembuatan nanoemulsi dibagi menjadi dua, yaitu dengan emulsifikasi energi tinggi atau *High-Energy Emulsification (HEE)* yang meliputi homogenisasi tekanan tinggi, mikrofluidisasi, ultrasonikasi; dan dengan emulsifikasi energi rendah atau *Low-Energy Emulsification (LEE)* yang meliputi Emulsifikasi spontan, evaporasi pelarut, dan fase inversi (Kale dan Deore, 2017; Nastiti dkk., 2017).

a. Homogenisasi tekanan tinggi

Homogenisasi tekanan tinggi merupakan teknik pembuatan nanoemulsi yang membutuhkan suhu dan energi yang tinggi. Pada tekanan siklus homogenisasi (500-5000 psi) fasa air dan minyak masuk melalui lubang kecil sehingga menghasilkan ukuran dropet yang kecil karena adanya turbulensi yang kuat dan pergeseran hidrolis. Semakin tinggi tekanan maka ukuran dropet yang terbentuk semakin kecil (Kale dan Deore, 2017).

b. Mikrofluidisasi

Teknik ini menggunakan perangkat fluidizer mikro dengan tekanan tinggi (500-20000 psi). Emulsi kasar yang terdiri dari campuran fasa air dan minyak dipaksa masuk melewati saluran interaksi/saluran ukuran mikro, kemudian emulsi kasar mengalir dan menghasilkan ukuran dropet yang halus (nano). Fasa air dan minyak selanjutnya difilter untuk mendapatkan ukuran dropet yang seragam (Kale dan Deore, 2017)

c. Ultrasonikasi

Ultrasonikasi merupakan salah satu teknik pembuatan nanoemulsi yang sangat efisien untuk memperkecil ukuran dropet. Dalam ultrasonikasi energi dihasilkan dari *probe* sonikator. Ketika emulsi kasar (fasa air dan minyak)

menyentuh ujung sonikator maka akan menghasilkan getaran mekanis dan terjadi kavitasi sehingga akan terbentuk droplet dengan ukuran nano (Kale dan Deore, 2017; Jaiswal dan Dudhe, 2014).

d. Emulsifikasi spontan

Metode pembuatan ini sederhana, yaitu menyiapkan larutan organik homogen yang terdiri minyak, surfaktan lipofilik, surfaktan hidrofilik. Kemudian, fase organik dimasukkan ke dalam fase air dengan pengadukan magnetis secara kontinyu. Fase air dihilangkan dengan penguapan di bawah tekanan tereduksi untuk mendapatkan nanoemulsi (Jaiswal dan Dudhe, 2015).

e. Fase inversi

Metode ini menggunakan prinsip dimana terjadi transisi fase yang dipengaruhi oleh perubahan suhu. Pada suhu rendah emulsi yang terbentuk yaitu tipe m/a, sedangkan pada suhu tinggi emulsi yang terbentuk yaitu tipe a/m. Surfaktan non-ionik seperti polioksietilen menjadi lipofilik pada suhu tinggi dan hidrofilik pada suhu rendah karena dehidrasi rantai polimer (Kale dan Deore, 2017).

f. Evaporasi pelarut

Pada teknik ini yaitu campuran obat dengan pelarut organik menggunakan surfaktan yang sesuai secara kontinu dan menyiapkan emulsi m/a dengan menguapkan pelarut organik di bawah vakum atau pemanasan selanjutnya disentrifugasi atau filtrasi (Kale dan Deore, 2017).

2.4.4 Karakteristik Nanoemulsi

a. Uji organoleptis

Uji organoleptis dilakukan secara visual menggunakan panca indera. Tujuan uji organoleptis adalah untuk mengetahui karakteristik sediaan nanoemulsi. Hal yang diamati meliputi aroma, warna, kekentalan, kejernihan, pemisahan fase dan homogenitas.

b. Bobot Jenis

Bobot jenis adalah perbandingan antara massa zat di udara dengan suhu yang telah ditetapkan terhadap massa air dengan volume dan suhu yang sama. Pengujian bobot jenis dilakukan dengan menggunakan piknometer. Bobot jenis

sediaan nanoemulsi diukur dengan mengurangkan bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi, kemudian membagi bobot zat dengan bobot air dalam piknometer (Depkes RI, 1995).

c. Uji Viskositas

Viskositas atau kekentalan dilakukan untuk mengetahui kecepatan alir dari suatu cairan yang mengalir melalui kapiler. Uji ini menggunakan viskosimeter tipe ostwald (Depkes RI, 1995).

d. Uji Stabilitas

Pengujian stabilitas sediaan nanoemulsi dapat dilakukan dengan uji stabilitas secara termodinamik. Ada beberapa jenis uji yang dapat digunakan diantaranya yaitu *heating cooling cycle*, *centrifugation*, dan *freeze thaw cycle*.

- *Heating cooling cycle*: formulasi nanoemulsi disimpan antara suhu 4°C dan 45°C dengan 6 siklus selama kurang dari 48 jam. Formula yang stabil disentrifugasi.
- *Centrifugation*: formulasi nanoemulsi disentrifugasi selama 30 menit dengan kecepatan 3500 rpm. Uji stabilitas ini bertujuan untuk mengetahui apakah sediaan nanoemulsi mengalami pemisahan fase atau tidak.
- *Freeze thaw cycle*: formulasi nanoemulsi diuji selama 3 siklus antara suhu -21°C dan 25°C dengan lama penyimpanan setiap suhu tidak kurang dari 48 jam. Kestabilan sediaan dilihat apakah sediaan mengalami pemisahan fase atau tidak (Azeem dkk., 2009; Praveen Kumar, 2010).

e. Uji *Dye Test*

Dye test dilakukan untuk mengetahui apakah sediaan nanoemulsi termasuk dalam sistem nanoemulsi m/a atau a/m dengan menggunakan mikroskop. Pengujian ini dapat menggunakan zat pewarna. Jika nanoemulsi m/a ditambahkan zat pewarna larut dalam air, maka akan menghasilkan warna nanoemulsi yang seragam. Sebaliknya, jika pewarna larut air yang ditambahkan ke dalam nanoemulsi a/m, maka warna nanoemulsi tidak akan seragam dan berada pada fase air saja (Jaiswal dan Dudhe, 2015).

f. Ukuran Partikel

Pengujian ukuran partikel berfungsi untuk mengetahui apakah ukuran partikel suatu sediaan nanoemulsi sudah memenuhi kriteria yaitu 20-600 nm. Uji ukuran partikel dilakukan dengan menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*). Pengukuran dengan spektroskopi korelasi dilakukan dengan menganalisis fluktuasi dalam hamburan cahaya karena gerakan Brown (Jaiswal dan Dudhe, 2015). Prinsip alat ini adalah sampel ditembak dengan sinar laser dan akan terjadi penghamburan cahaya. Penghamburan cahaya tersebut akan dideteksi pada sudut tertentu secara cepat. Distribusi dan intensitas yang dihamburkan akan dianalisis oleh komputer sebagai hasil distribusi ukuran partikel (Wahyudi dkk., 2011).

g. Uji Transmitan

Uji transmitan dilakukan untuk mengetahui kejernihan suatu sediaan. Uji ini menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 650nm. Sediaan dinyatakan jernih dan transparan apabila memiliki nilai kejernihan mendekati 100% (Yuliani dkk, 2016).

h. pH

Uji pH pada sediaan menggunakan alat pH meter. Nanoemulsi yang ditujukan untuk sediaan topikal harus sesuai dengan pH kulit yaitu 4,5-6,5 agar tidak mengiritasi kulit (Depkes, 1995; Naibaho dkk., 2013).

2.5 Uji Peredaman DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*)

Aktivitas antioksidan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit diuji menggunakan metode DPPH. Menurut Maesaroh dkk. (2018), metode ini lebih efektif dan efisien untuk pengujian aktivitas antioksidan. Sampel yang memiliki aktivitas antioksidan akan bereaksi dengan DPPH menjadi DPPH-H yang ditandai dengan perubahan warna dari ungu menjadi kuning (Asmarani dan Wahyuningsih, 2015). Semakin pudar warna DPPH yang telah direaksikan dengan antioksidan, maka aktivitas antioksidannya semakin besar pula. Hal tersebut karena terjadinya

reaksi antara larutan DPPH dan sampel yang mendonorkan elektron hidrogennya, sehingga radikal bebas DPPH menjadi berpasangan (Molyneux, 2004).

Uji peredaman DPPH dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang maksimum 517 nm. DPPH dicampur dengan sampel kemudian diinkubasi dan dilihat absorbansinya. Absorbansi yang diperoleh digunakan untuk menghitung aktivitas antioksidan yang dinyatakan dalam nilai IC_{50} atau konsentrasi yang mampu meredam 50% radikal bebas DPPH. Semakin kecil nilai IC_{50} , maka aktivitas antioksidannya semakin kuat (Molyneux, 2004). Kategori aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai IC_{50} sebagai berikut :

Tabel 2. 2 Kekuatan antioksidan

Aktivitas antioksidan	IC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)
Sangat kuat	< 50
Kuat	< 50-100
Sedang	101-250
Lemah	250-500

(Sulastridkk., 2017)

Nilai IC_{50} dapat dihitung dengan mengetahui persen inhibisi dari masing-masing konsentrasi, persen inhibisi dihitung dengan persamaan 2.1. (Ghosal dan Mandal, 2012).

$$\text{Persen inhibisi} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi sampel}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100 \dots\dots\dots(2.1)$$

Keterangan :

Absorbansi kontrol : Larutan DPPH dan etanol p.a

Absorbansi sampel : Larutan uji dan etanol p.a

Setelah didapat persen inhibisi, selanjutnya perhitungan dilakukan dengan menggunakan persamaan regresi linear 2.2. untuk memperoleh nilai IC_{50} . (Asmarani dan Wahyuningsih, 2015).

$$y = a + bx \dots\dots\dots(2.2)$$

Keterangan :

X : Konsentrasi sampel ($\mu\text{g/mL}$)

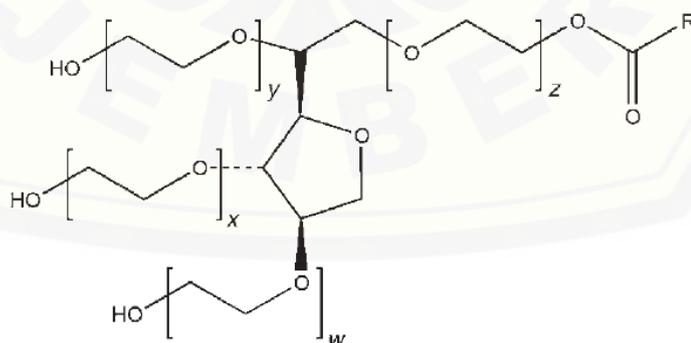
Y : Persen inhibisi

2.6 Monografi bahan

2.6.1 Tween 80

Tween 80 atau polisorbat 80 merupakan surfaktan nonionik hidrofilik yang digunakan secara luas sebagai agen pengemulsi dalam sediaan emulsi minyak dalam air. Penggunaan tween 80 sebagai agen pengemulsi minyak dalam air bisa dikombinasi dengan agen pengemulsi yang bersifat hidrofilik atau tidak dikombinasi. Konsentrasi tween 80 dalam kombinasi dengan pengemulsi hidrofilik sebesar 1%-10%, sedangkan konsentrasi tanpa kombinasi yaitu 1-15%. Selain digunakan sebagai agen pengemulsi, tween 80 juga berfungsi sebagai agen pendispersi, agen pelarut, dan agen pembasah. Menurut Salim dkk. (2011), penggunaan tween 80 sebagai surfaktan dengan konsentrasi 20-40% dapat menghasilkan ukuran dropet < 100 nm.

Tween 80 berupa cairan berminyak warna kuning yang memiliki bau khas, rasa agak pahit dengan rumus empiris $C_{64}H_{124}O_{26}$, berat molekul 1310, nilai HLB 15, dan viskositas 425 mPas. Kelarutan tween 80 adalah larut dalam etanol dan air, tidak larut dalam minyak mineral dan minyak sayur. Tween 80 bersifat inkompatibel apabila digunakan secara bersamaan dengan metilparaben, sehingga akan menurunkan aktivitas antimikroba dari metilparaben. Penggunaan tween 80 dalam sediaan topikal bersifat aman serta tidak mengiritasi, dan tidak toksik (Rowe dkk., 2015).



Gambar 2. 2 Struktur kimia tween 80 (Sumber: Rowe dkk., 2009)

2.6.2 Etanol 96%

Etanol 96% atau etil alkohol atau etil hidroksida atau gandum alkohol atau metil karbinol memiliki rumus empiris C_2H_6O dengan berat molekul 46,07. Etanol 96% berupa cairan bening yang larut dalam kloroform, eter, gliserin, dan air. Dalam formulasi sediaan farmasi etanol 96% biasa digunakan sebagai pengawet antimikroba, pelarut, disinfektan dan kosurfaktan. Etanol 96% tidak efektif sebagai antimikroba apabila dikombinasi dengan surfaktan nonionik.



Gambar 2. 3 Struktur kimia etanol (Sumber: Rowe.,dkk 2009)

BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian optimasi tween 80 dan etanol 96% dalam sediaan nanoemulsi minyak atsiri (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) dan uji antioksidan ini merupakan jenis penelitian *true experimental laboratories*.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dimulai pada bulan Mei – Juli 2019 dan dilaksanakan di Laboratorium Teknologi Sediaan Likuida dan Semisolida Bagian Farmasetika dan Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perbedaan proporsi surfaktan tween 80 dan kosurfaktan etanol 96% dalam sediaan nanoemulsi.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam adalah respon yang ingin diketahui yaitu pH, transmittan, dan aktivitas antioksidan IC_{50}

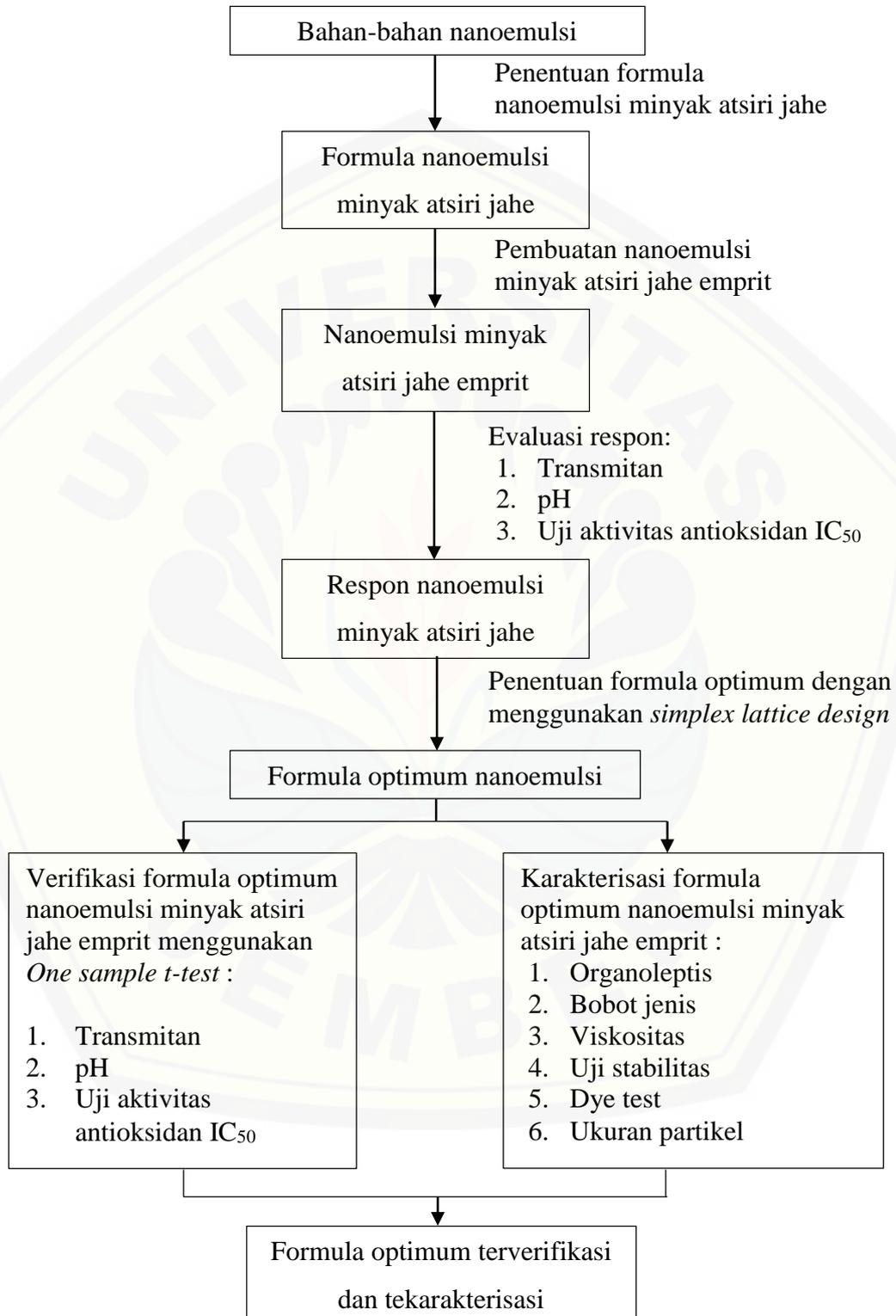
3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol pada penelitian ini yaitu jumlah minyak atsiri jahe emprit dan air, lama waktu pengadukan dan kecepatan pengadukan.

3.4 Rancangan Penelitian

Penelitian yang akan dilaksanakan merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan metode *simplex lattice design*. Adapun tahapan dalam penelitian ini antara lain : (1) penentuan formula nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit; (2) pembuatan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit; (3) evaluasi sediaan (transmittan, pH, uji aktivitas antioksidan); (4) Penentuan formula optimum

nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit; (5) Verifikasi dan uji karakteristik formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit.



Gambar 3. 1 Gambar skema kerja penelitian

3.4.1 Alat uji

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah spektrofotometer UV-Vis (*Genesys*), neraca analitik (*Advanturer Ohaus*), *hotplate* (*Cimarec*), viskosimeter ostwald, pH meter (*Elmetron*), *sentrifuge*, piknometer (*Brand*), mikro pipet (*Socorex*), *particle size analyzer* (*Horiba*), *vortex* (*Brantead*), *magnetic stirrer*, alat-alat gelas (*Pyrex*), dan *software* pengolah data (*IBM SPSS Statistics*).

3.4.2 Bahan uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini yaitu minyak atsiri jahe emprit yang diperoleh dari Yogyakarta, tween 80 (*Brataco*), etanol 96%, akuades, DPPH, dan etanol p.a.

3.5 Prosedur Penelitian

3.5.1 Susunan formulasi penelitian

Optimasi formula dilakukan dengan menggunakan metode *simplex lattice design*. Metode ini menggunakan 2 faktor (variabel bebas) dan 3 respon (Variabel terikat). Variabel terikat (Y) terdiri dari transmittan, pH dan aktivitas antioksidan IC_{50} , sedangkan variabel bebas terdiri dari (A) jumlah tween 80 dan (B) jumlah etanol 96%. Susunan formula nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit dapat dilihat pada Tabel 3.1.

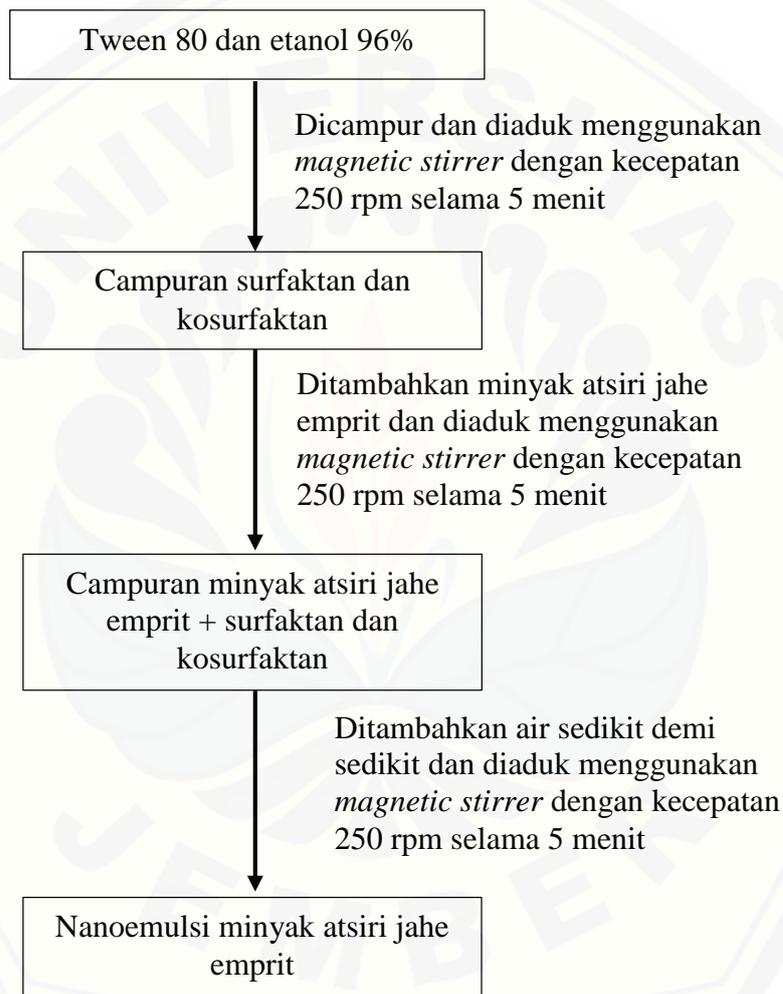
Tabel 3. 1 Formulasi optimum

Bahan	Konsentrasi (mL)		
	F1	F2	F3
Minyak atsiri	0,5	0,5	0,5
Tween 80	3	2	1
Etanol 96%	1	2	3
Akuades	3	3	3
Jumlah	7,5	7,5	7,5

3.5.2 Preparasi nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit

Pembuatan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit dilakukan dengan mencampur tween 80 dan etanol 96% sesuai jumlah pada Tabel 3.1. Campuran tersebut diaduk dengan *magnetic stirrer* pada kecepatan 250 rpm selama 5 menit.

Minyak atsiri jahe emprit ditambahkan ke dalam campuran surfaktan dan kosurfaktan, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan kecepatan 250 rpm selama 5 menit. Setelah homogen, akuades ditambahkan sedikit demi sedikit dan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 5 menit dengan kecepatan 250 rpm. Selanjutnya, sediaan nanoemulsi diuji karakteristiknya. Pembuatan sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit dapat dilihat pada Gambar 3.2.



Gambar 3. 2 Skema pembuatan nanoemulsi

3.5.3 Karakterisasi nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit

a. Uji Organoleptis

Uji organoleptis nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit pada penelitian ini meliputi aroma, warna, kekentalan, dan kejernihan/kekeruhan, homogenitas, dan pemisahan fase yang dilakukan secara visual.

b. Uji bobot jenis

Uji bobot jenis dilakukan pada suhu ruang 25°C dengan menggunakan piknometer. Piknometer yang bersih, kering dan telah dikalibrasi ditimbang (X g), kemudian diisi dengan air, dan ditimbang (X_1 g). Air dibuang dari piknometer dan piknometer dibersihkan sampai kering. Piknometer yang sudah bersih diisi dengan sediaan nanoemulsi sampai penuh dan ditimbang kembali (X_2 g). Perhitungan bobot jenis dilakukan dengan menggunakan persamaan 3.2.

$$\text{Bobot jenis} = \frac{X_2 - X}{X_1 - X} \dots\dots\dots(3.2)$$

c. Uji Viskositas

Uji viskositas nanoemulsi menggunakan viskosimeter ostwald. Pengujian ini dilakukan dengan mengisi nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit dalam tabung dan mengatur meniskus bawah. Kedua tabung pengisi dan kapiler dibuka agar cairan dapat mengalir ke dalam wadah dengan melawan tekanan atmosfer. Selanjutnya waktu (detik) yang diperlukan nanoemulsi dicatat untuk mengalir dari batas atas sampai batas bawah dalam tabung kapiler (Depkes, 1995). Viskositas diukur dengan menggunakan persamaan 3.1.

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{\rho_1 t_1}{\rho_2 t_2} \dots\dots\dots(3.1)$$

Keterangan :

ρ_1 = bobot jenis sediaan

ρ_2 = bobot jenis akuades

η_1 = viskositas sediaan

η_2 = viskositas akuades

t_1 = waktu alir sediaan

t_2 = waktu alir akuades

d. Uji Stabilitas

Stabilitas nanoemulsi dilakukan dengan uji *centrifugation test* dan *freeze thaw cycle*. Uji *centrifugation test* ditentukan dengan cara sediaan nanoemulsi disentrifugasi pada kecepatan 3500 rpm selama 30 menit, kemudian dilihat apakah terjadi pemisahan fase nanoemulsi atau tidak. Uji *freeze thaw cycle* ditentukan dengan cara sediaan nanoemulsi disimpan pada suhu -21°C dan 25°C dengan lama penyimpanan setiap suhu tidak kurang dari 48 jam. Pengujian ini dilakukan selama 3 siklus dan kestabilan sediaan dilihat apakah sediaan mengalami pemisahan fase atau tidak (Azeem dkk., 2009; Praveen Kumar, 2010).

e. Uji Dye Test

Pengujian *dye test* diamati dengan menggunakan mikroskop. Metilen biru ditambahkan pada permukaan nanoemulsi di kaca obyektif. Apabila nanoemulsi tipe m/a maka nanoemulsi akan berwarna biru merata. Sebaliknya, jika nanoemulsi tipe a/m, maka warna biru berada pada fase air saja (Jaiswal dan Dudhe, 2015).

f. Uji Ukuran Partikel

Penentuan ukuran partikel diukur menggunakan *particle size analyzer* (PSA) dengan tipe *dynamic light scattering*. Kuvet dibersihkan terlebih dahulu lalu diisi dengan nanoemulsi sebanyak 10 ml. Kemudian kuvet dimasukkan dalam holder dan dianalisis oleh instrumen (Yuliani dkk, 2016).

g. Uji Transmittan

Pengujian transmittan dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 650 nm. Kuvet yang telah diisi dengan sampel dimasukkan dalam spektrofotometer UV-Vis. Blanko yang digunakan adalah akuades. Sediaan nanoemulsi yang baik ditunjukkan dengan tampilan yang jernih dengan persentase kejernihan mendekati 100% (Yuliani dkk, 2016).

h. Uji pH

Uji pH pada nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit ini menggunakan alat pH meter. Elektroda dikalibrasi dan diverifikasi dengan menggunakan larutan

dapar pH standar. Elektroda dicelupkan dalam nanoemulsi, kemudian pH akan tertera pada layar (Depkes, 1995).

3.5.4 Uji Aktivitas Antioksidan dengan metode DPPH

a. Pembuatan dan Penentuan Panjang Gelombang Maksimum DPPH

DPPH 40 ppm (0,1 mM) ditimbang sebanyak 1 mg dimasukkan dalam labu ukur 25 mL, ditambahkan etanol p.a sampai tanda batas. Selanjutnya larutan DPPH divortex. Larutan DPPH 40 ppm dimasukkan dalam kuvet dan dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 400-600 nm. Kemudian ditentukan panjang gelombang maksimum.

b. Pembuatan Larutan Uji Formula Optimasi

Sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit dengan konsentrasi 60466 μ g/mL dibuat larutan induk dengan konsentrasi 10 mg/mL. Kemudian dibuat 6 seri konsentrasi 0,01, 0,1, 0,5, 1, 2, dan 4 mg/mL.

c. Pembuatan Larutan Uji Formula Optimum

Formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit dengan konsentrasi 60,466 mg/mL dibuat larutan induk dengan konsentrasi 10 mg/mL. Kemudian dibuat seri konsentrasi 0,01, 0,1, 0,5, 1, 2, dan 4 mg/mL.

3.5.5 Pembuatan Larutan Asam Galat

a. Larutan Asam Galat untuk Optimasi Waktu Inkubasi

Sejumlah 5 mg asam galat, dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 0,5 mg/mL.

b. Larutan Asam Galat untuk Formula Optimum

Sejumlah 5 mg asam galat ditimbang, dilarutkan dengan etanol p.a sampai 10 mL, sehingga diperoleh konsentrasi larutan induk 0,5 mg/mL. Kemudian larutan 0,5 mg/mL diencerkan dengan seri konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10, dan 20 μ g/mL.

3.5.6 Penentuan Waktu Inkubasi

Penentuan waktu inkubasi dilakukan dengan mereaksikan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit untuk optimasi dengan larutan DPPH 40 ppm (1:1). Kemudian dilihat absorbansinya pada panjang gelombang maksimum mulai dari menit ke 0 – 70 dengan interval waktu 5 menit.

3.5.7 Uji Aktivitas Antioksidan Larutan Uji dan Asam Galat

Pengujian dilakukan dengan mencampur masing-masing larutan uji dan asam galat dengan larutan DPPH 40 ppm (1:1), kemudian diinkubasi dan dilihat absorbansinya pada panjang gelombang 517 nm. Hasil absorbansi digunakan untuk menghitung persen inhibisi, setelah didapat persen inhibisi selanjutnya dihitung nilai IC_{50} menggunakan *regresi linear*.

3.5.8 Analisis Data

Penelitian ini menggunakan metode *simplex lattice design* yang akan dianalisis dengan menggunakan *software design expert 11* untuk memperoleh formula optimum sediaan nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit. Respon (Y) yang digunakan untuk mengetahui koefisien dari hasil evaluasi nanoemulsi, yaitu variabel terikat yang meliputi pH, transmitan, dan uji aktivitas antioksidan. Faktor yang digunakan yaitu proporsi (A) tween 80 dan (B) etanol 96%. Analisis dari *simplex lattice design* akan didapatkan persamaan 3.4 seperti berikut :

$$Y = B_a (A) + B_b (B) + B_{ab} (A) (B) \dots\dots\dots (3.4)$$

Keterangan :

- Y = Respon hasil evaluasi nanoemulsi
- B_a, B_b, B_{ab} = Koefisien
- A, B = Proporsi formula

Berdasarkan persamaan tersebut dapat dihitung nilai B_a, B_b, B_{ab} , sehingga diketahui efek faktor terhadap respon dan efek kombinasi faktor terhadap respon. Komposisi optimum kombinasi tween 80 dan etanol 96% terhadap respon dapat diketahui melalui *contour plot* yang diperoleh dari hasil perhitungan menggunakan *software design expert 11*. Kriteria respon yang dikehendaki dapat dilihat pada Tabel 3.2.

Tabel 3. 2 Kriteria Respon

Respon	Nilai yang dikehendaki
Transmitan	Tidak kurang dari 90%
pH	4,5-6,5
Aktivitas antioksidan (IC_{50})	Maksimal

Formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit yang diperoleh dari prediksi *simplex lattice design* dipilih berdasarkan nilai *desirability index* terbesar. Kemudian dilakukan uji verifikasi formula optimum menggunakan *One sample t-test*. Respon yang diperoleh dari formulasi optimum diuji normalitas. Apabila data sudah terdistribusi secara normal, maka data hasil pengujian dibandingkan dengan data hasil prediksi *simplex lattice design* menggunakan *One sample t-test*. Verifikasi ini bertujuan untuk mengetahui nilai signifikansi antara hasil percobaan dan nilai respon yang diprediksikan oleh software. Nilai signifikansi $< 0,05$ menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Nilai signifikansi $> 0,05$ menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan antara hasil percobaan dan prediksi software.

BAB 5. KESIMPULAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Tween 80, etanol 96% dan kombinasi keduanya memiliki pengaruh dalam meningkatkan nilai persen transmitan.
2. Tween 80, etanol 96% dan kombinasi keduanya memiliki pengaruh dalam meningkatkan nilai pH.
3. Tween 80 dan etanol 96% berpengaruh dalam meningkatkan nilai IC_{50} , sedangkan kombinasi keduanya berpengaruh menurunkan nilai IC_{50} .
4. Formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) berdasarkan *design expert* yaitu formula 1 dengan komposisi tween 80 sebanyak 3 mL dan etanol 96% sejumlah 1 mL.
5. Karakteristik fisik formula optimum nanoemulsi minyak atsiri jahe emprit yaitu memiliki aroma khas jahe, warna kuning, kental, homogen, dan jernih dengan bobot jenis sebesar $1,0197 \pm 0,0001$ g/mL, viskositas $62,1703 \pm 1,2599$ mPas, bersifat stabil, tipe minyak dalam air (m/a), memiliki ukuran partikel $24,133 \pm 1,026$ nm dan bersifat monodispersi dengan indeks polidispersi. $0,429 \pm 0,030$.
6. Verifikasi menunjukkan bahwa respon transmitan dan pH tidak terdapat perbedaan signifikan antara hasil *simplex lattice design* dan hasil percobaan. Sedangkan, respon IC_{50} terdapat perbedaan signifikan antara hasil *simplex lattice* dan hasil percobaan.

5.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian, saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya adalah sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lanjutan tentang aktivitas antioksidan secara *in vivo*
2. Perlu dilakukan formulasi lebih lanjut dengan meningkatkan jumlah konsentrasi minyak atau mengganti surfaktan dan kosurfaktan untuk

memperoleh aktivitas antioksidan nanoemusi yang lebih baik atau lebih tinggi.



DAFTAR PUSTAKA

- Ansel, H. C. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi 4. Jakarta: UI press.
- Asmarani, F. C. dan Iis Wahyuningsih. 2015. Pengaruh variasi konsentrasi tween 80 dan sorbitol terhadap aktivitas antioksidan minyak zaitun (*Oleum olivae*) dalam formulasi nanoemulsi. *Farmasains*. 2(5):223–228.
- Azeem, A., M. Rizwan, F. J. Ahmad, Z. Iqbal, R. K. Khar, M. Aqil, dan S. Talegaonkar. 2009. Nanoemulsion components screening and selection: a technical note. *AAPS Pharmscitech*. 10(1):69–76.
- Azizah, N., E. Filaila, E. Agustian, A. Sulaswatty, dan N. Artanti. 2018. Antibacterial and antioxidant activities of indonesian ginger (jahe emprit) essential oil extracted by hydrodistillation. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*. 20(2):90–96.
- Badarinath, A. V, K. M. Rao, C. M. S. Chetty, S. Ramkanth, T. V. S. Rajan, dan K. Gnanaprakash. 2010. A review on in-vitro antioxidant methods : comparisons , correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research*. 2(2):1276–1285.
- Bali, V., M. Ali, dan J. Ali. 2010. Study of surfactant combinations and development of a novel nanoemulsion for minimising variations in bioavailability of ezetimibe. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 76(2):410–420.
- Bhatt dan Madhav. 2011. A detailed review on nanoemulsion drug delivery system. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR)*. 2(10):2482–2489.
- Bilia, A. R., C. Guccione, B. Isacchi, C. Righeschi, F. Firenzuoli, dan M. C. Bergonzi. 2002. EssentialOils loaded in nanosystems: a developing strategy for a successful therapeutic approach. *Methods in Molecular Biology*. 193:171–188.
- Choudhury, H., B. Gorain, M. Pandey, L. A. Chatterjee, P. Sengupta, A. Das, N. Molugulu, dan P. Kesharwani. 2017. Recent update on nanoemulgel as topical drug delivery system. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 106(7):1736–1751.
- D.J.Mclements dan E.A.Decker. 2000. Lipid oxidation in oil-in-water emulsions : impact of molecular environment on chemical. *Journal of Food Science*. 65(8):1270–1282.

- Depkes RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Devarajan, V. dan V. Ravichandran. 2011. Nanoemulsions : as modified drug delivery tool advantages of nanoemulsion. *International Journal Of Comprehensive Pharmacy (IJCP)*. 02(04):1–6.
- Ghosal, M. dan P. Mandal. 2012. Phytochemical screening and antioxidant activities of two selected “Bihi” fruits used as vegetables in darjeeling himalaya. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 4(2):567–574.
- Gupta, P. K., J. K. Pandit, A. Kumar, P. Swaroop, dan S. Gupta. 2010. Pharmaceutical nanotechnology novel nanoemulsion high energy emulsification preparation, evaluation and application. *The Pharma Research*. 3(June):112–116.
- Hasan, F., A. Pereshki, dan H. Hamishehkar. 2017. Original research article effect of surfactant and oil type on size droplets of original research article effect of surfactant and oil type on size droplets of betacarotene-bearing nanoemulsions the use of nano carriers for hydrophobic. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 9:146–155.
- Herlina Rose, Ss., M. Ir. Murhananto, I. J. E. H, S. Tri Listyarini, dan S. Seno teguh Pribadi. 2002. *Khasiat & Manfaat Jahe Merah Si Rimpang Ajaib*. Tangerang: PT. AgroMedia Pustaka.
- Huda, N. dan I. Wahyuningsih. 2019. Karakterisasi self-nanoemulsifying drug delivery system (SNEDDS) minyak buah merah (*Pandanus conoideus* Lam.). *Jurnal Farmasi Dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 3(2):49.
- Jaiswal, M. dan R. Dudhe. 2015. Nanoemulsion : an advanced mode of drug delivery system. *Biotech*. 5:123–127.
- Jeena, K., V. B. Liju, dan R. Kuttan. 2013. Antioxidant, anti-inflammatory and antinociceptive activities of essential oil from ginger. *Indian Journal of Physiology and Pharmacology*. 57(1):51–62.
- Kaban, A. N., Daniel, dan C. Saleh. 2016. Phtochemical, toxicity, and activity antioxidant fraction n-hexane and ethyl acetate extract of ginger (*Zingiber officinale* var. Amarum). *Jurnal Kimia Mulawarman*. 14(1):24–28.
- Kale, S. N. dan S. L. Deore. 2017. Emulsion micro emulsion and nano emulsion : a review. *Systematic Reviews in Pharmacy*. 8(1):39–47.
- Lu, Y. dan L. Y. Foo. 2014. Antioxidant and radical scavenging activities of

polyphenols from apple pomace - vegetables apple pomace. *Elsevier Science Ltd.* 8146(January 2000):81–85.

Maesaroh, K., D. Kurnia, dan J. Al Anshori. 2018. Perbandingan metode uji aktivitas antioksidan dpph, frap dan fic terhadap asam askorbat, asam galat dan kuersetin. *Chimica et Natura Acta.* 6(2):93–100.

Moharram, H. A. dan M. M. Youssef. 2015. Methods for determining the antioxidant activity: a review methods for determining the antioxidant activity: a review. *Science and Technology.* 11(January 2014):31–42.

Molyneux, P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (dpph) for estimating antioxidant activity. *Journal of Science and Technology.* 26(2):211–219.

Mustamin, Y. 2015. *Pengembangan Minyak Atsiri Tumbuhan Indonesia Sebagai Potensi Peningkatan Nilai Ekonomi.* Bogor: Sekolah Pascasarjana IPB.

Naibaho, O. H., P. V. Y. Yamlean, dan W. Wiyono. 2013. Pengaruh basis salep terhadap formulasi sediaan salep ekstrak daun kemangi (*Ocimum sanctum* L.) pada kulit punggung kelinci yang dibuat infeksi staphylococcus aureus. *Pharmacon Jurnal Ilmial Farmasi.* 2(02):27–34.

Nastiti, C. M. R. R., T. Ponto, E. Abd, J. E. Grice, H. A. E. Benson, dan M. S. Roberts. 2017. Topical nano and microemulsions for skin delivery. *Pharmaceutics.* 1–25.

Nidhin, M., R. Indumathy, K. J. Sreeram, dan B. U. Nair. 2008. Synthesis of iron oxide nanoparticles of narrow size distribution on polysaccharide templates. *Indian Academy of Sciences.* 31(1):93–96.

Panjaitan, R., S. Ni'mah, Romdhonah, dan L. Annisa. 2016. Pemanfaatan minyak biji labu kuning (*Cucurbita moschata* Durch) menjadi sediaan nanoemulsi topikal sebagai agen pengembangan cosmetical anti aging. *Khazanah.* 7(2):61–81.

Patel, R. P. dan J. R. Joshi. 2012. An overview on nanoemulsion: a novel approach. *International Journal of Pharma Sciences and Research (IJPSR).* 3(12):4640–4650.

Pham-huy, L. A., H. He, dan C. Pham-huy. 2008. Free radicals , antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science.* 4(2):89–96.

Rahmawanty, D., E. Anwar, dan A. Bahtiar. 2014. Formulasi gel menggunakan serbuk daging ikan haruan (*Channa striatus*) sebagai penyembuh luka. *Media Farmasi.* 11(1)

- Rohmatussolihat, S. S. 2009. Penyelamat sel-sel tubuh manusia. *Bio Trend*. 4(1):5–9.
- Rowe, R. C., P. J. Sheske, dan M. E. Quinn. 2015. *Handbook of Pharmaceutical Excipients*. Edisi 6. Washington, DC: Pharmaceutical Press.
- Rusli, M. S. 2010. *Sukses Memproduksi Minyak Atsiri*. Edisi 1. Jakarta Selatan: PT. AgroMedia Pustaka.
- Salim, N., M. Basri, D. K. Abdullah, dan H. Basri. 2011. Phase behaviour, formation and characterization of palm-based esters nanoemulsion formulation containing ibuprofen. *Journal of Nanomedicine & Nanotechnology*. 02(04)
- Santoso, I. H. B. 1994. *Jahe Gajah*. Yogyakarta: Kanisius.
- Setyaningrum, H. D. dan C. Saporinto. 2013. *Jahe*. Edisi 1. Jakarta: Swadaya.
- Setyawan, A. 2002. Keragaman varietas jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) berdasarkan kandungan kimia minyak atsiri. *Biosmart: Journal of Biological Science*. 4(2):48–54.
- Singh, Y., J. Gopal, K. Raval, F. Ali, M. Chaurasia, N. K. Jain, dan M. K. Chourasia. 2017. Nanoemulsion : concepts, development and applications in drug delivery. *Journal of Controlled Release*. 252:28–49.
- Sulastri, E., M. Ikram, dan Yuliet. 2017. Uji stabilitas dan aktivitas antioksidan mikroemulsi likopen tomat (*Solanum lycopersicum* L.) stability test and antioxidant activity of tomato lycopene (*Solanum lycopersicum* L.) microemulsion. *Galenika Journal of Pharmacy*. 3(1):10–17.
- Supriyanto dan B. Cahyono. 2012. Perbandingan kandungan minyak atsiri antara jahe segar dan jahe kering. *Chem. Prog*. 5(2):81–85.
- Sutradhar, K. B. dan L. Amin. 2013. Nanoemulsions: increasing possibilities in drug delivery. *European Journal of Nanomedicine*. 5(2):97–110.
- Wahyudi, A., Sariman, dan S. Rochani. 2011. Mining preliminary study of particle size measurement of fine phosphate rocks using dynamic light scattering method. *Indonesian Mining Journal*. 14(3):115–122.
- Wahyuningsih, I. dan W. Putranti. 2015. Optimization of tween 80 and polyethyleneglycol 400 for black cumin seed oil in self nanoemulsifying drug delivery system (snedds) formula. *Pharmacy*. 12(02):223–241.
- Werdhasari, A. 2014. Peran antioksidan bagi kesehatan. *Jurnal Biotek Medisiana*

Indonesia. 3(2):59–68.

- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami & Radikal Bebas*. Edisi 1. Yogyakarta: Kanisius.
- Wungkana, I., E. Suryanto, dan L. Momuat. 2013. Aktivitas antioksidan dan tabir surya fraksi fenolik dari limbah tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Pharmacon*. 2(4):149–155.
- Yuliani, S. H., M. Hartini, Stephanie, B. Pudyastuti, dan enade perdana Istyastono. 2016. PERBANDINGAN stabilitas fisis sediaan nanoemulsi minyak biji delima dengan fase minyak long-chain triglyceride dan medium-chain triglyceride s. *Traditional Medicine Journal*. 21(2):93–98.
- Zhu, Q. Y., R. M. Hackman, J. L. Ensunsa, R. R. Holt, dan C. L. Keen. 2002. Antioxidative activities of oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(23):6929–6934.

LAMPIRAN**Lampiran A. Sertifikat minyak atsiri jahe emprit**

www.eterisnusantara.co.id
eterisnusantara@yahoo.com
082119987127

Certificate Of Analysis Sheet

Product	Ginger essential oil
Botanical name	Zingiber officinale Var. amarum
Origin	Indonesia
Plant part	Rhizomes
Cultivation	Farmed
Method of extraction	Steam distilled
Appearance	Liquid
Colour	Light to pale yellow
Odour	Warm, spicy, sweet, balsamic
Specific gravity @ 20°C	0.9070 – 0.9207
Optical rotation @ 20°C	+1.220
Refractive index @ 20°C	1.4891-1.4895
Solubility	Clear soluble (1:1) in 90 % alcohol

This information is obtained from current and reliable sources.
We provide the information herein without any warranty expressed or implied.
Customers are advised to determine in advance the safe conditions for use of this product.
As it is electronically generated document, hence no signature required.
WWW.ETERISNUSANTARA.CO.ID

Lampiran B. Evaluasi Respon**B. 1 Hasil Transmittan (%) Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit**

Formula	Transmittan (%)			Rata-rata \pm SD	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
1	99,992	99,991	99,293	99,759 \pm 0,403	0,404
2	98,668	98,595	98,150	98,471 \pm 0,280	0,285
3	95,350	95,524	95,342	95,405 \pm 0,102	0,108

B. 2 Hasil pH Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit

Formula	pH			Rata-rata \pm SD	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
1	6,18	6,15	6,16	6,16 \pm 0,015	0,248
2	6,01	6,03	6,08	6,04 \pm 0,036	0,597
3	5,78	5,81	5,80	5,80 \pm 0,015	0,264

B. 3 Hasil IC₅₀ mg/mL Nanoemulsi Persen inhibisi DPPH

Konsentrasi (mg/mL)	Formula 1			Rata-rata \pm SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0,01	11,241	11,007	11,710	11,319 \pm 0,358
0,1	13,115	12,88	13,349	13,115 \pm 0,235
0,5	19,906	19,438	19,906	19,750 \pm 0,270
1	29,977	29,742	30,445	30,055 \pm 0,358
2	46,604	46,838	47,073	46,838 \pm 0,236
4	70,023	70,258	70,023	70,101 \pm 0,136

Konsentrasi (mg/mL)	Formula 2			Rata-rata + SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0,01	13,817	13,349	13,817	13,661 \pm 0,270
0,1	15,222	15,457	15,457	15,379 \pm 0,136
0,5	23,185	22,951	23,185	23,107 \pm 0,135
1	29,274	29,274	28,806	29,118 \pm 0,270
2	42,857	42,857	43,091	42,935 \pm 0,135
4	66,276	66,745	66,511	66,511 \pm 0,235

Konsentrasi (mg/mL)	Formula 3			Rata-rata + SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0,01	9,836	10,304	10,070	10,070 ± 0,234
0,1	11,475	11,710	11,710	11,632 ± 0,136
0,5	16,393	15,691	16,159	16,081 ± 0,357
1	25,059	24,824	24,824	24,902 ± 0,136
2	39,578	39,578	39,813	39,656 ± 0,137
4	62,998	62,998	62,763	62,920 ± 0,137

Lampiran C. Perhitungan Konsentrasi Nanoemulsi dan Asam Galat

C. 1 Perhitungan Konsentrasi Minyak Atsiri Jahe Emprit Dalam Nanoemulsi

$$\rho = \frac{m \text{ (gram)}}{v \text{ (mL)}}$$

$$0,9070 = \frac{m \text{ (gram)}}{0,5 \text{ mL}}$$

$$m = 0,4535 \text{ gram atau } 453,5 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} \text{konsentrasi minyak atsiri jahe emprit dalam nanoemulsi} &= \frac{453,5 \text{ mg}}{7,5 \text{ mL}} \times 1000 \\ &= 60466 \text{ } \mu\text{g/mL} \end{aligned}$$

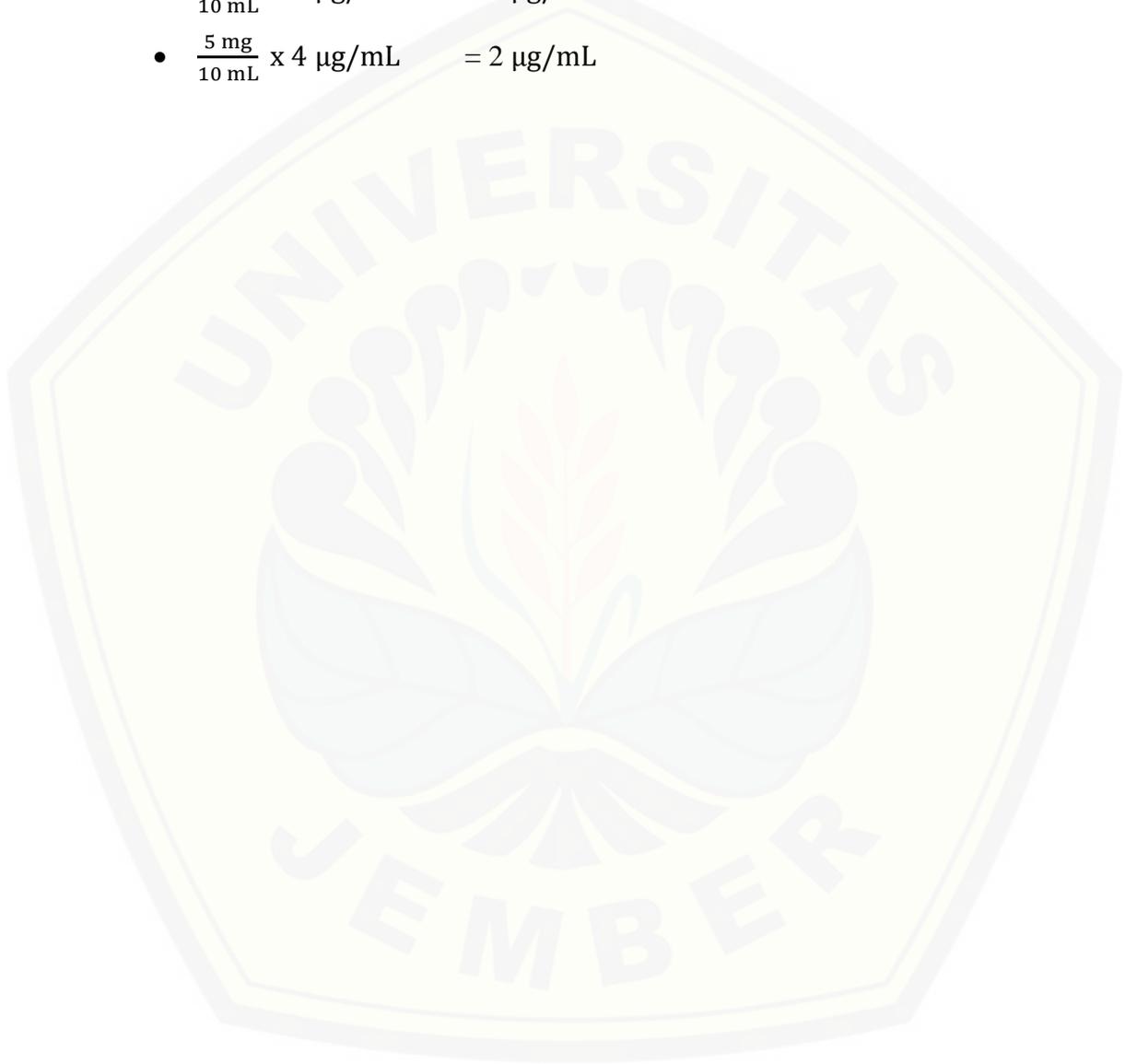
C. 2 Perhitungan Larutan Uji dari Nanoemulsi

- $\frac{4,13 \text{ mL}}{25 \text{ mL}} \times 60,466 \text{ mg/mL} = 10 \text{ mg/mL}$
- $\frac{2 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ mg/mL} = 4 \text{ mg/mL}$
- $\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 10 \text{ mg/mL} = 2 \text{ mg/mL}$
- $\frac{1 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 10 \text{ mg/mL} = 1 \text{ mg/mL}$
- $\frac{0,5 \text{ mL}}{10 \text{ mL}} \times 10 \text{ mg/mL} = 0,5 \text{ mg/mL}$
- $\frac{1 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,5 \text{ mg/mL} = 0,1 \text{ mg/mL}$
- $\frac{0,5 \text{ mL}}{5 \text{ mL}} \times 0,1 \text{ mg/mL} = 0,01 \text{ mg/mL}$

C. 3 Perhitungan Konsentrasi Larutan Standar Asam Galat

- $\frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 1000 \text{ } \mu\text{g/mL} = 500 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{1 \text{ mg}}{25 \text{ mL}} \times 500 \text{ } \mu\text{g/mL} = 20 \text{ } \mu\text{g/mL}$

- $\frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 20 \text{ } \mu\text{g/mL} = 10 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{4 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 20 \text{ } \mu\text{g/mL} = 8 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{3 \text{ mg}}{5 \text{ mL}} \times 20 \text{ } \mu\text{g/mL} = 6 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 8 \text{ } \mu\text{g/mL} = 4 \text{ } \mu\text{g/mL}$
- $\frac{5 \text{ mg}}{10 \text{ mL}} \times 4 \text{ } \mu\text{g/mL} = 2 \text{ } \mu\text{g/mL}$



Lampiran D. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum 517 nm

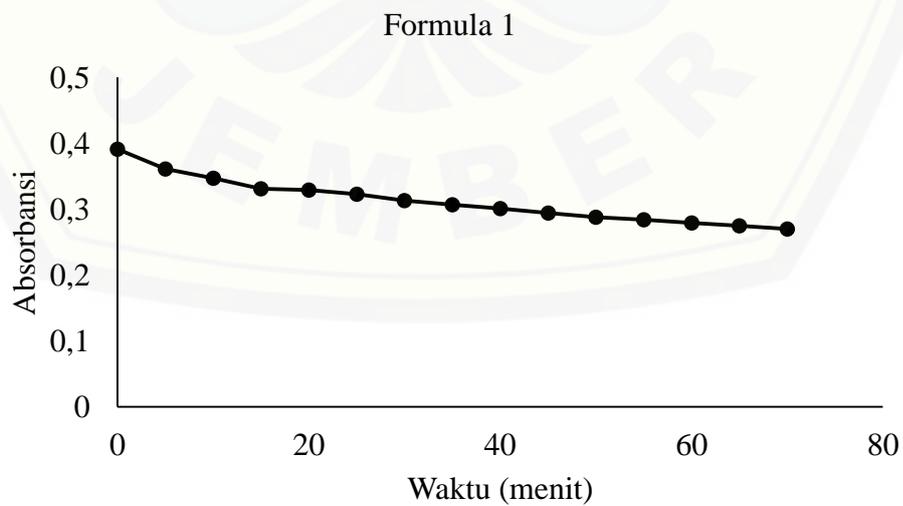
Λ (nm)	Abs	Λ (nm)	Abs	Λ (nm)	Abs	Λ (nm)	Abs	Λ (nm)	Abs
400	0,152	440	0,211	480	0,428	520	0,669	560	0,43
401	0,152	441	0,213	481	0,436	521	0,667	561	0,425
402	0,152	442	0,216	482	0,444	522	0,664	562	0,420
403	0,152	443	0,219	483	0,453	523	0,661	563	0,416
404	0,153	444	0,221	484	0,460	524	0,658	564	0,411
405	0,153	445	0,224	485	0,467	525	0,654	565	0,406
406	0,154	446	0,228	486	0,477	526	0,649	566	0,402
407	0,155	447	0,231	487	0,487	527	0,643	567	0,398
408	0,155	448	0,234	488	0,494	528	0,639	568	0,394
409	0,156	449	0,237	489	0,502	529	0,634	569	0,39
410	0,157	450	0,241	490	0,512	530	0,629	570	0,387
411	0,158	451	0,245	491	0,522	531	0,623	571	0,382
412	0,159	452	0,249	492	0,530	532	0,615	572	0,379
413	0,161	453	0,253	493	0,537	533	0,608	573	0,376
414	0,161	454	0,258	494	0,546	534	0,602	574	0,373
415	0,163	455	0,262	495	0,554	535	0,596	575	0,369
416	0,164	456	0,267	496	0,563	536	0,587	576	0,366
417	0,166	457	0,273	497	0,572	537	0,581	577	0,363
418	0,166	458	0,277	498	0,580	538	0,574	578	0,361
419	0,169	459	0,283	499	0,589	539	0,567	579	0,357
420	0,170	460	0,288	500	0,597	540	0,559	580	0,354
421	0,172	461	0,293	501	0,605	541	0,551	581	0,351
422	0,174	462	0,299	502	0,612	542	0,544	582	0,350
423	0,176	463	0,306	503	0,62	543	0,538	583	0,346
424	0,177	464	0,312	504	0,626	544	0,531	584	0,344
425	0,179	465	0,319	505	0,632	545	0,524	585	0,341
426	0,181	466	0,325	506	0,638	546	0,516	586	0,339
427	0,183	467	0,331	507	0,643	547	0,509	587	0,343
428	0,185	468	0,338	508	0,649	548	0,502	588	0,335
429	0,187	469	0,345	509	0,654	549	0,495	589	0,331
430	0,189	470	0,352	510	0,658	550	0,488	590	0,33
431	0,191	471	0,359	511	0,661	551	0,482	591	0,328
432	0,193	472	0,366	512	0,665	552	0,476	592	0,325
433	0,195	473	0,372	513	0,668	553	0,469	593	0,323
434	0,197	474	0,380	514	0,670	554	0,463	594	0,321
435	0,199	475	0,388	515	0,671	555	0,457	595	0,318
436	0,202	476	0,395	516	0,672	556	0,452	596	0,317
437	0,204	477	0,403	517	0,673	557	0,446	597	0,315
438	0,206	478	0,411	518	0,673	558	0,440	598	0,313
439	0,208	479	0,419	519	0,671	559	0,436	599	0,311

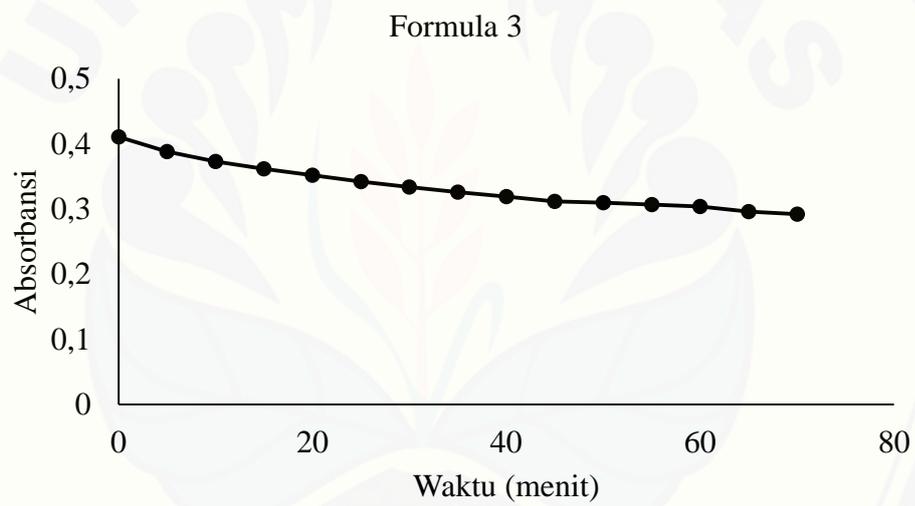
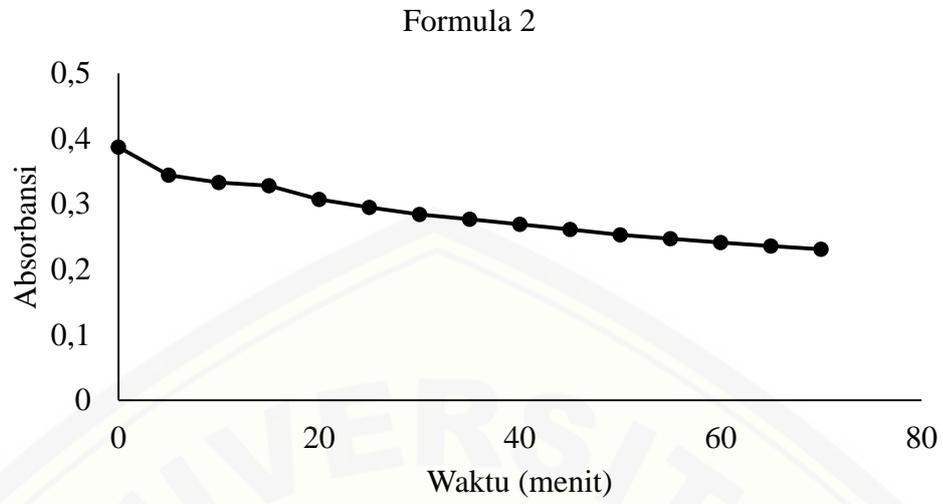
Lampiran E. Penentuan Waktu Inkubasi**E. 1 Waktu Inkubasi Nanoemulsi Minyak Atsiri Jahe Emprit**

Menit ke-	Absorbansi		
	Formula 1	Formula 2	Formula 3
0	0,391	0,387	0,411
5	0,361	0,344	0,388
10	0,347	0,333	0,373
15	0,331	0,328	0,362
20	0,329	0,307	0,352
25	0,323	0,295	0,342
30	0,313	0,284	0,334
35	0,307	0,277	0,326
40	0,301	0,269	0,319
45	0,294	0,261	0,312
50	0,288	0,253	0,31
55	0,284	0,247	0,307
60	0,279	0,241	0,304
65	0,275	0,236	0,296
70	0,27	0,231	0,292

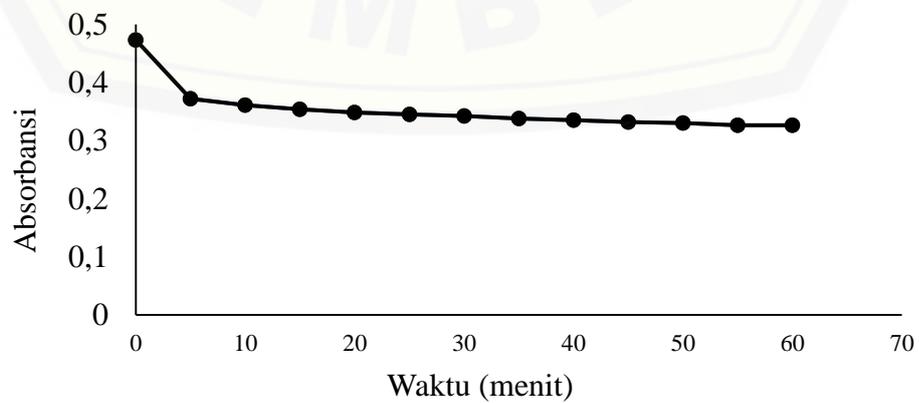
E. 2 Waktu Inkubasi Asam Galat

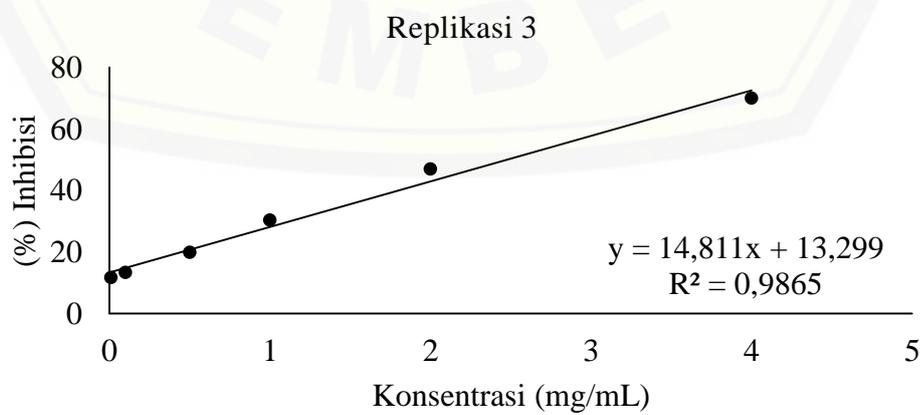
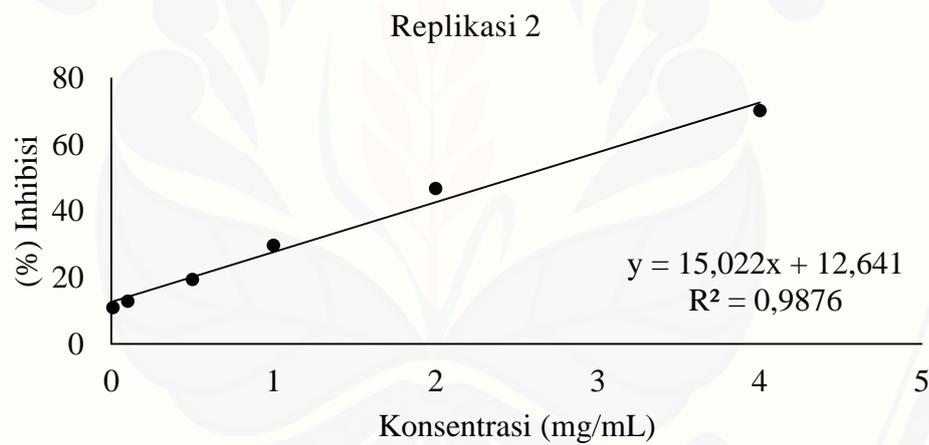
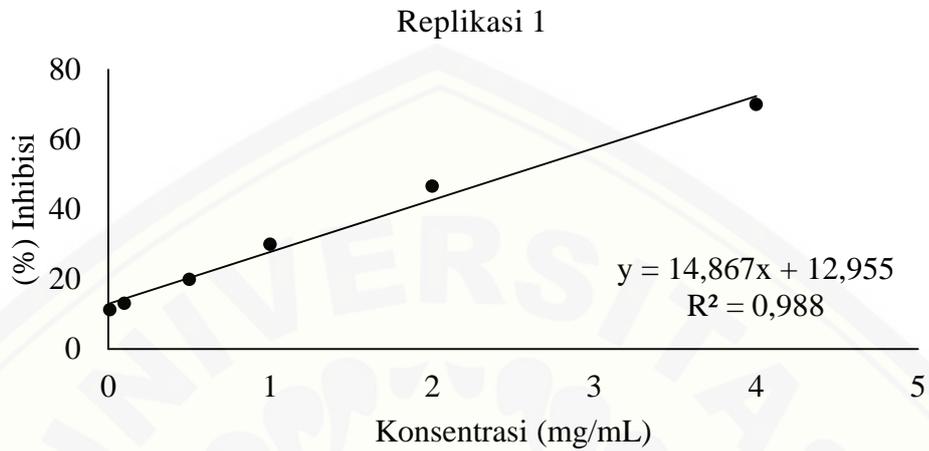
Waktu (menit)	Absorbansi
0	0,473
5	0,372
10	0,361
15	0,354
20	0,348
25	0,345
30	0,342
35	0,338
40	0,335
45	0,332
50	0,330
55	0,326
60	0,326

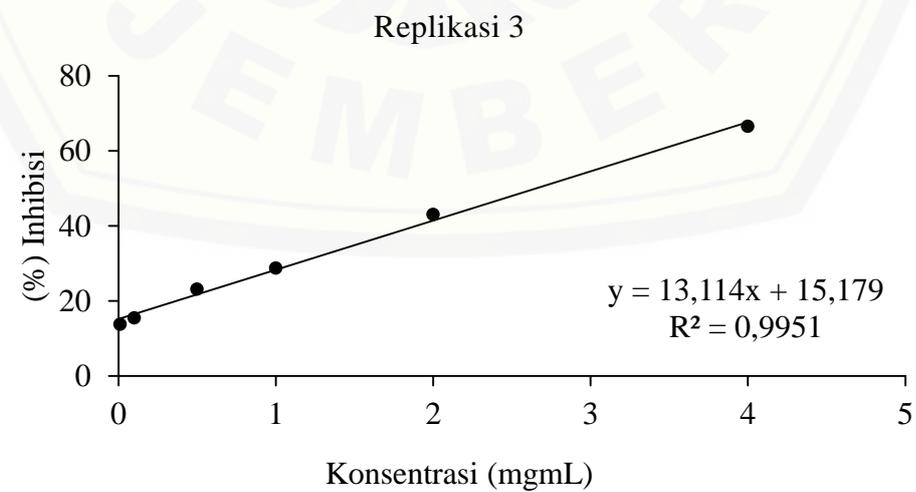
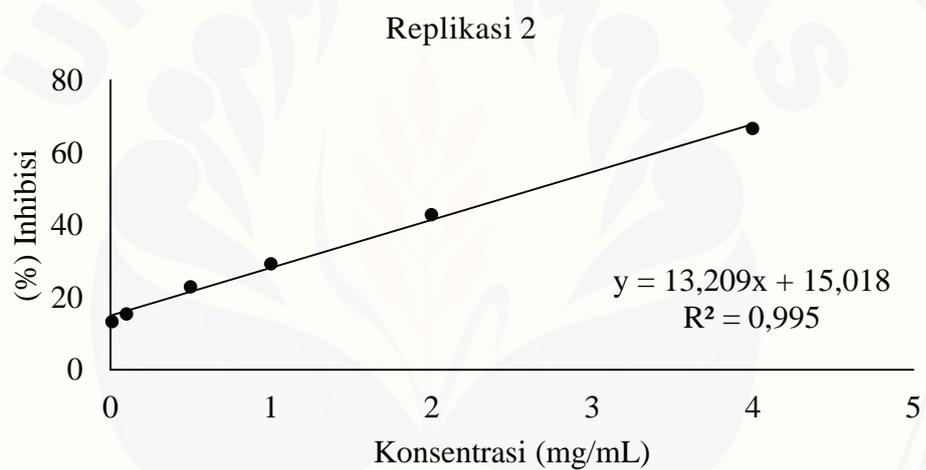
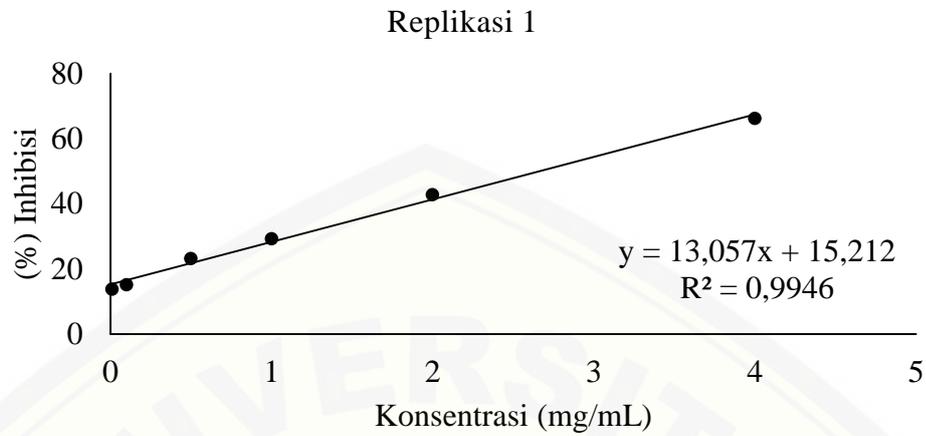
Lampiran F Kurva Waktu Inkubasi**F. 1 Kurva Waktu Inkubasi Nanoemulsi**

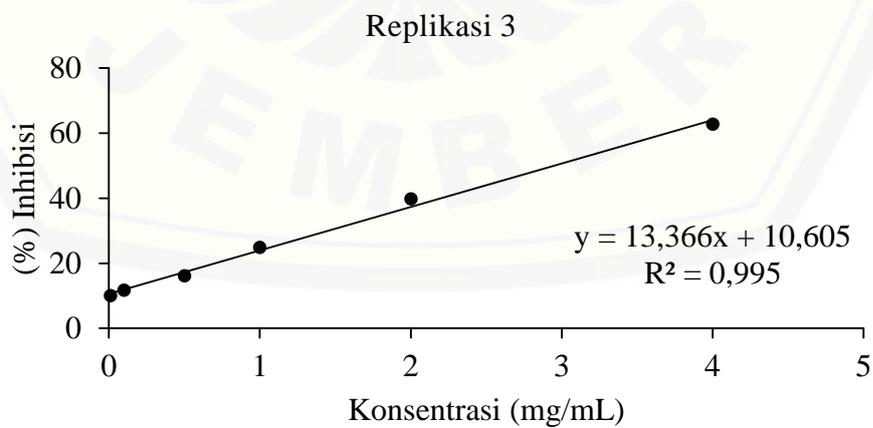
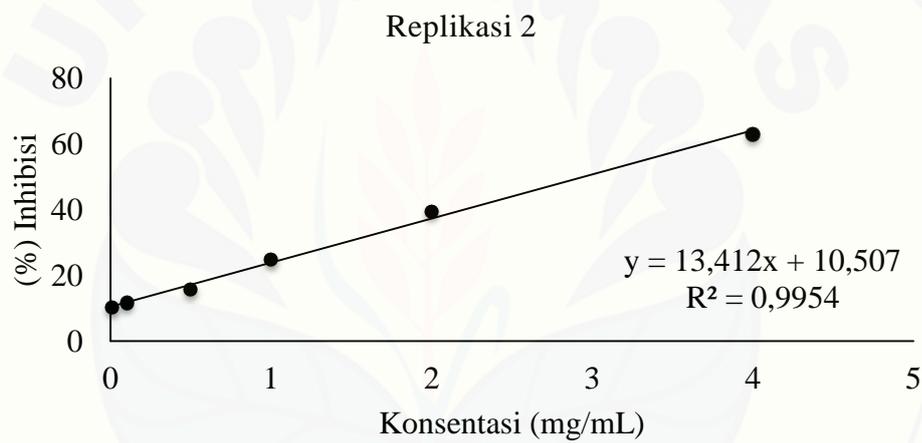
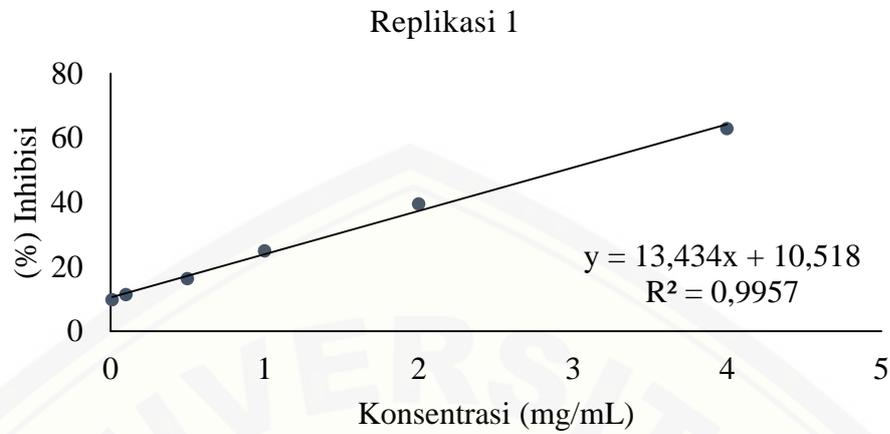


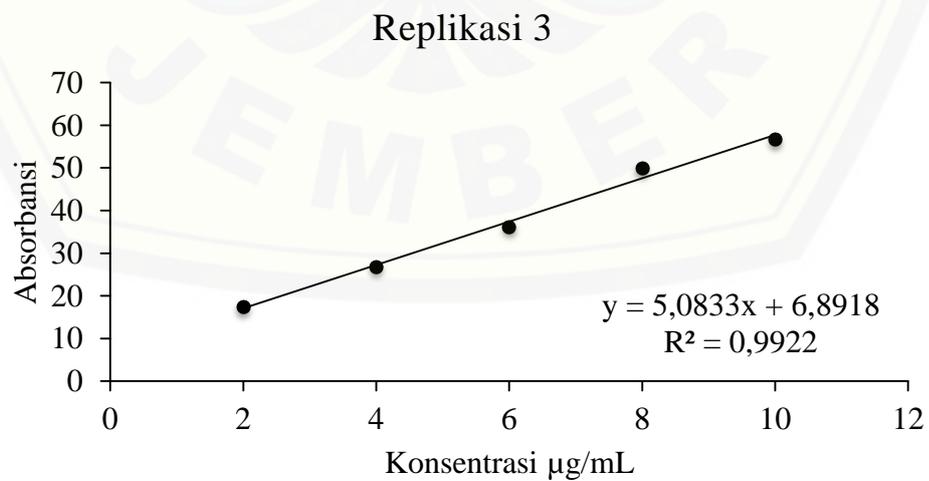
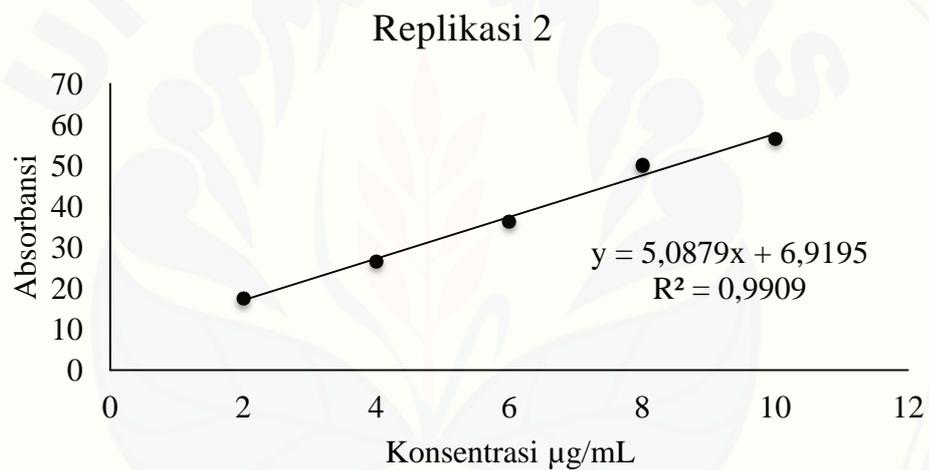
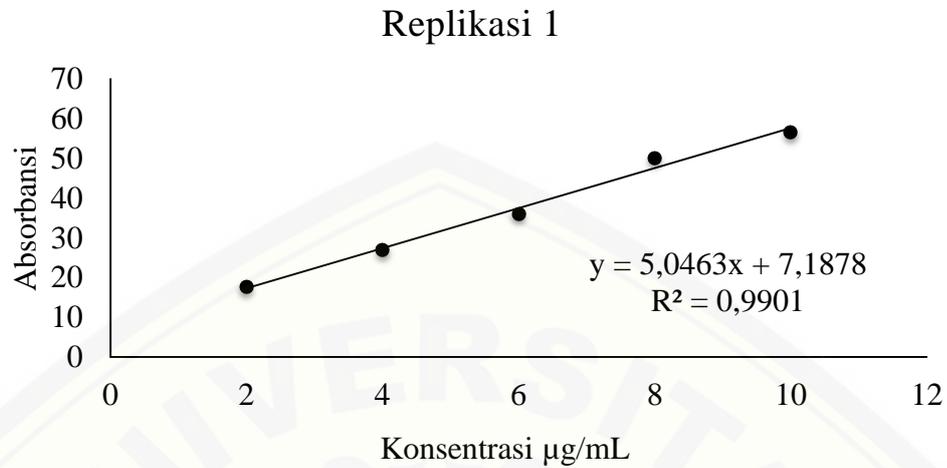
F. 2 Kurva Waktu Inkubasi Asam Galat



Lampiran G. Kurva % Inhibisi**G. 1 Kurva % Inhibisi Nanoemulsi Formula 1**

G. 2 Kurva % Inhibisi Nanoemulsi Formula 2

G. 3 Kurva % Inhibisi Nanoemulsi Formula 3

G. 4 Kurva % Inhibisi Asam Galat

Lampiran H. Hasil Karakterisasi Formula Optimum

H. 1 Pengujian Bobot Jenis

Formula optimum	Bobot jenis (g/mL)			Rata-rata ± SD	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
1	1,0197	1,0195	1,0198	1,0197 ± 0,0001	0,0098

Diketahui :

Massa piknometer kosong = 27,8275 gram

Massa piknometer + akuades = 38,1025 gram

Perhitungan Bobot Jenis Formula Optimum

$$\text{Bobot jenis} = \frac{x_2 - x}{x_1 - x}$$

(Depkes RI, 1995)

Keterangan :

X = Massa Piknometer kosong

X1 = Massa Piknometer + akuades

X2 = Massa Piknometer + sediaan

Perhitungan bobot jenis sediaan replikasi 1

$$\text{Bobot jenis} = \frac{38,3053 - 27,8275}{38,1025 - 27,8275} = 1,0197$$

Perhitungan bobot jenis sediaan replikasi 2

$$\text{Bobot jenis} = \frac{38,3030 - 27,8275}{38,1025 - 27,8275} = 1,0195$$

Perhitungan bobot jenis sediaan replikasi 3

$$\text{Bobot Jenis} = \frac{38,3054 - 27,8275}{38,1025 - 27,8275} = 1,0197$$

H. 2 Pengujian Viskositas

Formula optimum	Viskositas (mPas)			Rata-rata ± SD	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
1	60,1624	62,9033	63,4452	62,1703 ± 1,7599	2,8308

Perhitungan Viskositas Formula Optimum Nanoemulsi

$$\text{Viskositas} = \frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{\rho_1 t_1}{\rho_2 t_2}$$

Keterangan : :

ρ_1 : bobot jenis sediaan

ρ_2 : bobot jenis akuades

η_1 : viskositas sediaan

η_2 : viskositas akuades

t_1 : waktu alir sediaan

t_2 : waktu alir akuades

Diketahui :

Viskositas air : 0,89 mPas

Bobot jenis air : 0,9971

(Rowe dkk., 2015)

Perhitungan viskositas sediaan replikasi 1

$$\text{Viskositas} = \frac{\eta_1}{0,89} = \frac{1,0197.26,44}{0,9971.0,40} = 60,1624$$

Perhitungan viskositas sediaan replikasi 2

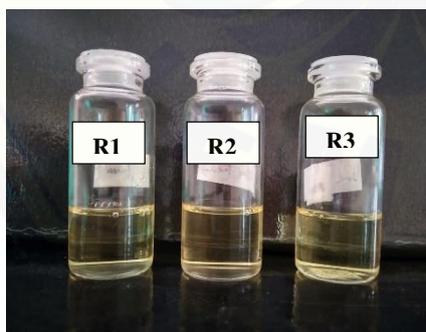
$$\text{Viskositas} = \frac{\eta_1}{0,89} = \frac{1,0195.27,65}{0,9971.0,40} = 62,9033$$

Perhitungan viskositas sediaan replikasi 3

$$\text{Viskositas} = \frac{\eta_1}{0,89} = \frac{1,0198.27,88}{0,9971.0,40} = 63,4452$$

H. 3 Hasil Pengujian Stabilitas

Uji centrifugation test



Sebelum disentrifugasi



Sesudah disentrifugasi

Uji freeze thaw cycle



Sebelum diuji



suhu -21°C siklus 1



Suhu 25°C siklus 1



suhu -21°C siklus 2



suhu 25°C siklus 2

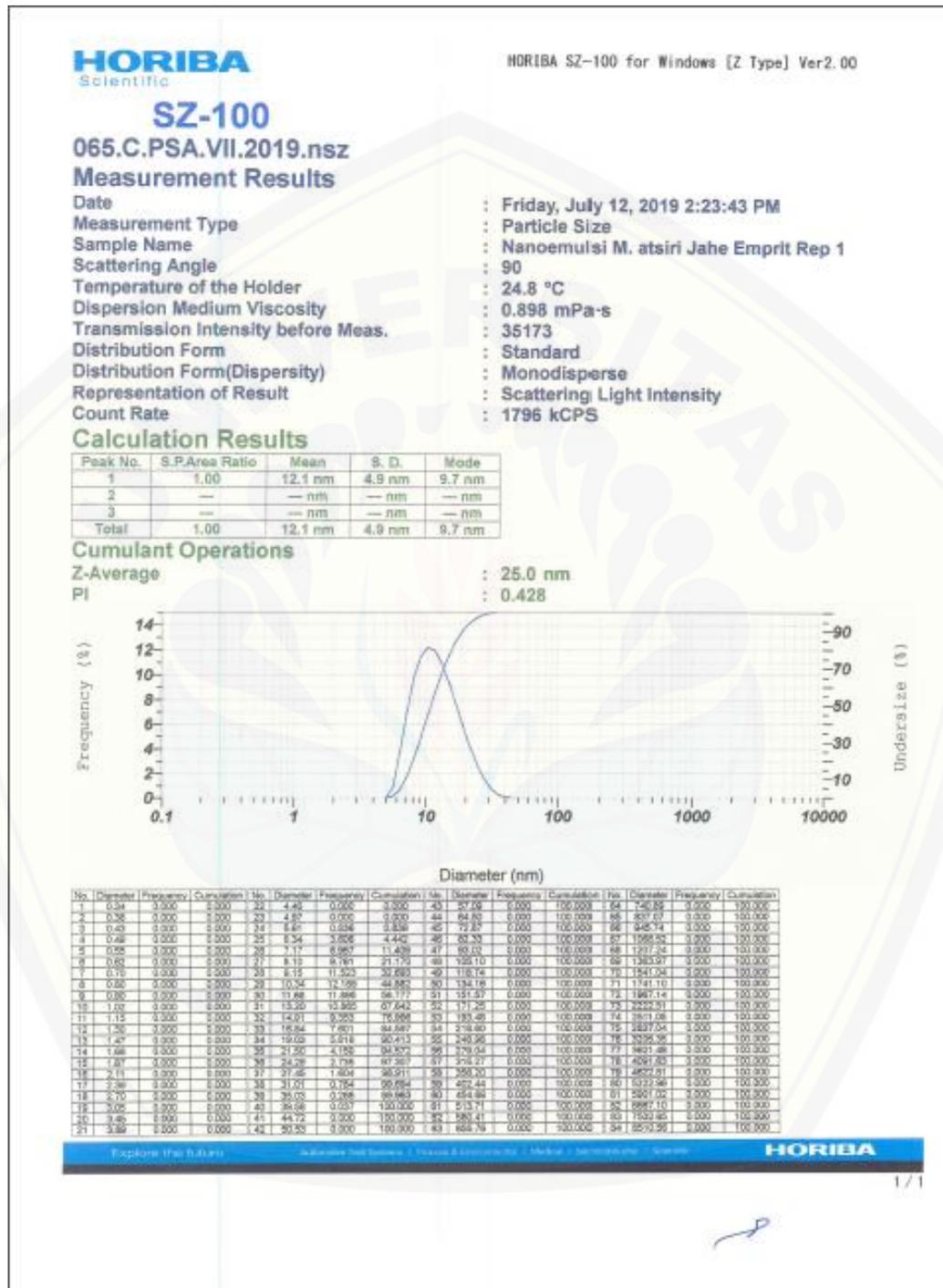


suhu -21°C siklus 3



suhu 25°C siklus 3

H. 4 Sertifikat Pengujian Ukuran Partikel





HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

SZ-100

065.C.PSA.VII.2019 R2.nsz

Measurement Results

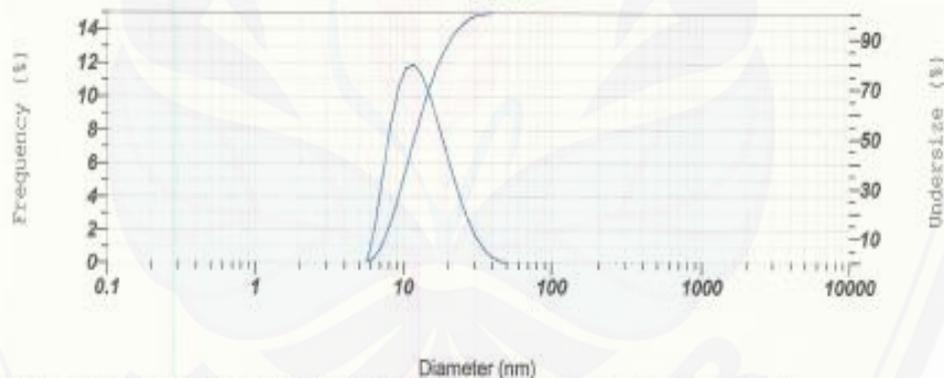
Date : Friday, July 12, 2019 2:19:22 PM
 Measurement Type : Particle Size
 Sample Name : Nanoemulsi M. atsiri Jahe Emprit Rep 1
 Scattering Angle : 90
 Temperature of the Holder : 24.9 °C
 Dispersion Medium Viscosity : 0.897 mPa·s
 Transmission Intensity before Meas. : 35400
 Distribution Form : Standard
 Distribution Form(Dispersity) : Monodisperse
 Representation of Result : Scattering Light Intensity
 Count Rate : 1753 kCPS

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	13.2 nm	5.6 nm	11.0 nm
2	—	— nm	— nm	— nm
3	—	— nm	— nm	— nm
Total	1.00	13.2 nm	5.6 nm	11.0 nm

Cumulant Operations

Z-Average : 23.0 nm
 PI : 0.459



No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	3.34	0.000	0.000	22	4.40	0.000	0.000	43	27.09	0.000	100.000	84	740.80	0.000	100.000
2	3.38	0.000	0.000	23	4.81	0.000	0.000	44	84.90	0.000	100.000	85	837.97	0.000	100.000
3	3.43	0.000	0.000	24	5.01	0.000	0.000	45	72.87	0.000	100.000	86	665.74	0.000	100.000
4	3.49	0.000	0.000	25	5.34	0.000	0.000	46	82.35	0.000	100.000	87	1068.33	0.000	100.000
5	3.55	0.000	0.000	26	5.71	0.000	0.000	47	85.02	0.000	100.000	88	1207.24	0.000	100.000
6	3.62	0.000	0.000	27	6.10	0.000	0.000	48	108.10	0.000	100.000	89	1369.97	0.000	100.000
7	3.70	0.000	0.000	28	6.51	0.000	0.000	49	119.24	0.000	100.000	90	1541.34	0.000	100.000
8	3.79	0.000	0.000	29	6.94	0.000	0.000	50	124.18	0.000	100.000	91	1711.10	0.000	100.000
9	3.89	0.000	0.000	30	7.39	0.000	0.000	51	131.87	0.000	100.000	92	1887.14	0.000	100.000
10	3.99	0.000	0.000	31	7.87	0.000	0.000	52	141.35	0.000	100.000	93	2072.31	0.000	100.000
11	4.10	0.000	0.000	32	8.37	0.000	0.000	53	152.48	0.000	100.000	94	2411.98	0.000	100.000
12	4.23	0.000	0.000	33	8.89	0.000	0.000	54	164.80	0.000	100.000	95	2607.64	0.000	100.000
13	4.37	0.000	0.000	34	9.43	0.000	0.000	55	178.88	0.000	100.000	96	3205.35	0.000	100.000
14	4.52	0.000	0.000	35	10.00	0.000	0.000	56	219.24	0.000	100.000	97	3521.48	0.000	100.000
15	4.67	0.000	0.000	36	10.59	0.000	0.000	57	218.27	0.000	100.000	98	4091.80	0.000	100.000
16	4.83	0.000	0.000	37	11.20	0.000	0.000	58	268.20	0.000	100.000	99	4622.81	0.000	100.000
17	4.99	0.000	0.000	38	11.83	0.000	0.000	59	402.44	0.000	100.000	100	5222.98	0.000	100.000
18	5.17	0.000	0.000	39	12.48	0.000	0.000	60	484.89	0.000	100.000	41	5867.10	0.000	100.000
19	5.35	0.000	0.000	40	13.25	0.000	0.000	61	512.75	0.000	100.000	82	6667.10	0.000	100.000
20	5.55	0.000	0.000	41	14.14	0.000	0.000	62	582.41	0.000	100.000	83	7592.88	0.000	100.000
21	5.76	0.000	0.000	42	15.15	0.000	0.000	63	698.78	0.000	100.000	84	8510.38	0.000	100.000



HORIBA SZ-100 for Windows [Z Type] Ver2.00

SZ-100

065.C.PSA.VII.2019 R3.nsz

Measurement Results

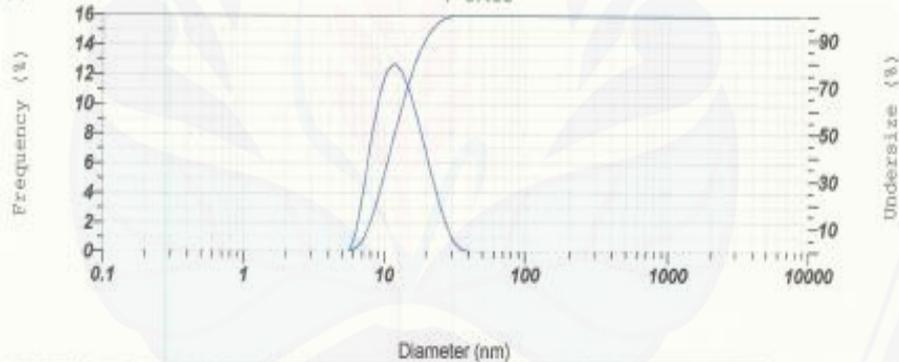
Date : Friday, July 12, 2019 2:15:33 PM
 Measurement Type : Particle Size
 Sample Name : Nanoemulsi M. atsiri Jahe Emprit Rep 1
 Scattering Angle : 90
 Temperature of the Holder : 25.0 °C
 Dispersion Medium Viscosity : 0.896 mPa·s
 Transmission Intensity before Meas. : 35400
 Distribution Form : Standard
 Distribution Form(Dispersity) : Monodisperse
 Representation of Result : Scattering Light Intensity
 Count Rate : 1885 kCPS

Calculation Results

Peak No.	S.P.Area Ratio	Mean	S. D.	Mode
1	1.00	12.8 nm	4.8 nm	11.0 nm
2	---	--- nm	--- nm	--- nm
3	---	--- nm	--- nm	--- nm
Total	1.00	12.8 nm	4.8 nm	11.0 nm

Cumulat Operations

Z-Average : 24.4 nm
 PI : 0.400



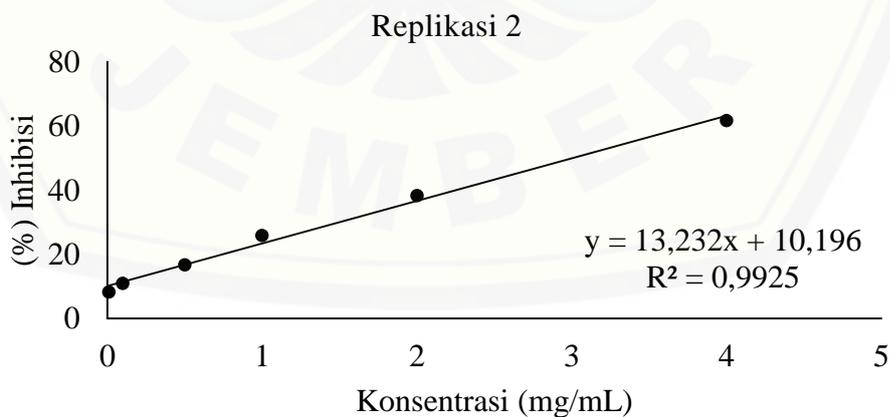
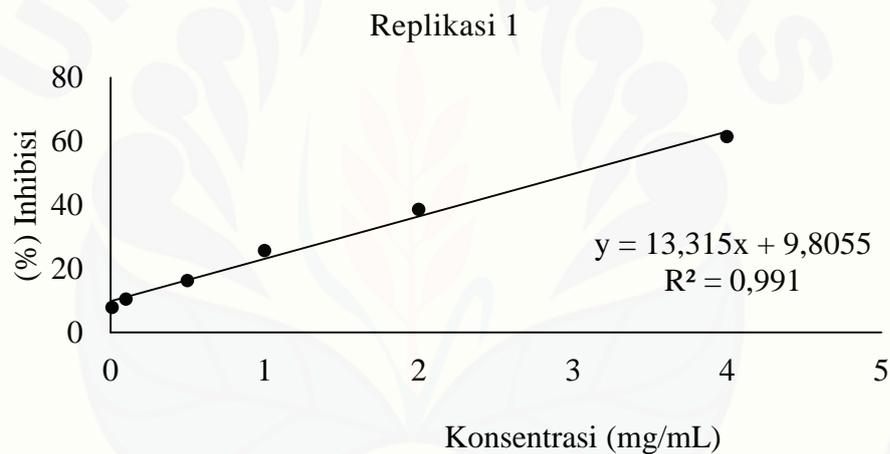
No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation	No.	Diameter	Frequency	Cumulation
1	0.34	0.000	0.000	22	4.40	0.000	0.000	43	57.29	0.000	100.000	54	740.85	0.000	100.000
2	0.35	0.000	0.000	23	4.97	0.000	0.000	44	64.50	0.000	100.000	55	837.07	0.000	100.000
3	0.45	0.000	0.000	24	5.61	0.000	0.000	45	72.57	0.000	100.000	56	945.74	0.000	100.000
4	0.64	0.000	0.000	25	6.34	1.389	1.389	46	82.35	0.000	100.000	57	1088.52	0.000	100.000
5	0.95	0.000	0.000	26	7.17	4.440	5.829	47	93.03	0.000	100.000	58	1267.24	0.000	100.000
6	1.42	0.000	0.000	27	8.10	7.957	13.786	48	105.70	0.000	100.000	59	1484.27	0.000	100.000
7	2.10	0.000	0.000	28	9.15	15.883	29.669	49	119.24	0.000	100.000	60	1751.24	0.000	100.000
8	3.00	0.000	0.000	29	10.34	17.220	46.889	50	134.78	0.000	100.000	61	1711.02	0.000	100.000
9	4.20	0.000	0.000	30	11.68	12.690	59.579	51	151.87	0.000	100.000	62	1367.54	0.000	100.000
10	5.70	0.000	0.000	31	13.20	12.181	71.760	52	171.28	0.000	100.000	63	1022.81	0.000	100.000
11	7.80	0.000	0.000	32	14.91	10.891	82.651	53	193.48	0.000	100.000	64	791.05	0.000	100.000
12	10.70	0.000	0.000	33	16.84	8.776	91.427	54	218.80	0.000	100.000	65	607.84	0.000	100.000
13	14.7	0.000	0.000	34	19.03	7.197	98.624	55	248.95	0.000	100.000	66	470.35	0.000	100.000
14	19.9	0.000	0.000	35	21.60	5.912	104.536	56	279.64	0.000	100.000	67	361.45	0.000	100.000
15	27.3	0.000	0.000	36	24.59	4.946	109.482	57	315.27	0.000	100.000	68	289.85	0.000	100.000
16	36.7	0.000	0.000	37	27.95	4.176	113.658	58	358.20	0.000	100.000	69	232.81	0.000	100.000
17	49.5	0.000	0.000	38	31.71	3.566	117.224	59	403.44	0.000	100.000	70	182.89	0.000	100.000
18	66.3	0.000	0.000	39	35.93	3.070	120.294	60	454.69	0.000	100.000	71	139.23	0.000	100.000
19	88.5	0.000	0.000	40	40.68	2.660	122.954	61	513.71	0.000	100.000	72	96.70	0.000	100.000
20	116.7	0.000	0.000	41	44.72	2.300	125.254	62	580.41	0.000	100.000	73	702.89	0.000	100.000
21	155.5	0.000	0.000	42	49.33	2.000	127.254	63	655.78	0.000	100.000	74	512.36	0.000	100.000

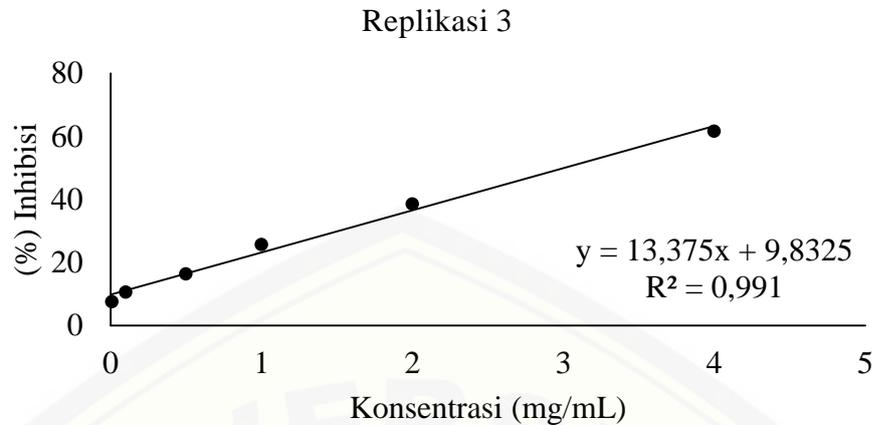
Lampiran I. Verifikasi Formula Optimum

I. 1 % Inhibisi Formula Optimum

Konsentrasi (mg/mL)	Formula (1) Optimum			Rata-rata + SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
0,01	7,8125	8,281	7,656	7,917 ± 0,325
0,1	10,469	10,938	10,625	10,677 ± 0,239
0,5	16,250	16,719	16,406	16,458 ± 0,239
1	25,625	25,938	25,781	25,781 ± 0,157
2	38,594	38,281	38,594	38,490 ± 0,181
4	61,406	61,719	61,719	61,615 ± 0,181

I. 2 Kurva % Inhibisi Formula Optimum





I. 3 Hasil IC₅₀ Formula Optimum (1)

Formula optimum	IC ₅₀ (mg/mL)			Rata-rata ± SD	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
1	3,019	3,008	3,003	3,010 ± 0,008	0,266

I. 4 Hasil Transmitan Formula Optimum (1)

Formula optimum	Transmitan (%)			Rata-rata ± SD	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
1	99,575	99,765	99,687	99,676 ± 0,096	0,096

I. 5 Hasil pH Formula Optimum (1)

Formula optimum	pH			Rata-rata ± SD	CV (%)
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3		
1	6,06	6,11	6,12	6,10 ± 0,03	0,49

Lampiran J. Hasil Analisis Data Menggunakan Design Expert 11

J. 1 Transmitan

ANOVA for Quadratic model

Response 1: Transmitan

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	30,01	2	15,00	178,74	< 0.0001	significant
⁽¹⁾ Linear Mixture	28,43	1	28,43	338,66	< 0.0001	
AB	1,58	1	1,58	18,83	0,0049	
Pure Error	0,5036	6	0,0839			
Cor Total	30,51	8				

⁽¹⁾ Inference for linear mixtures uses Type I sums of squares.

Mixture Component coding is **L_Pseudo**.

Sum of squares is **Type III - Partial**

The **Model F-value** of 178,74 implies the model is significant. There is only a 0,01% chance that an F-value this large could occur due to noise.

P-values less than 0,0500 indicate model terms are significant. In this case A, B, AB are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Fit Statistics

Std. Dev.	0,2897		R²	0,9835
Mean	97,88		Adjusted R²	0,9780
C.V. %	0,2960		Predicted R²	0,9629
			Adeq Precision	26,0252

The **Predicted R²** of 0,9629 is in reasonable agreement with the **Adjusted R²** of 0,9780; i.e. the difference is less than 0.2.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 26,025 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Model Comparison Statistics

PRESS	1,13
-2 Log Likelihood	-0,4070
BIC	3,99
AICc	5,59

Coefficients in Terms of Coded Factors

Component	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI Low	95% CI High	VIF
A-tween 80	99,76	1	0,1673	99,35	100,17	1,25
B-ethanol	95,41	1	0,1673	95,00	95,81	1,25
AB	3,56	1	0,8195	1,55	5,56	1,50

The coefficient estimate represents the expected change in response per unit change in factor value when all remaining factors are held constant. The intercept in an orthogonal design is the overall average response of all the runs. The coefficients are adjustments around that average based on the factor settings. When the factors are orthogonal the VIFs are 1; VIFs greater than 1 indicate multi-collinearity, the higher the VIF the more severe the correlation of factors. As a rough rule, VIFs less than 10 are tolerable.

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components

Transmitan	=
+99,76	A
+95,41	B
+3,56	AB

The equation in terms of coded factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. By default, the high levels of the mixture components are coded as +1 and the low levels are coded as 0. The coded equation is useful for identifying the relative impact of the factors by comparing the factor coefficients.

Final Equation in Terms of Real Components

Transmitan	=
+99,26833	tween 80
+90,56167	etanol
+14,22400	tween 80 * etanol

Final Equation in Terms of Actual Components

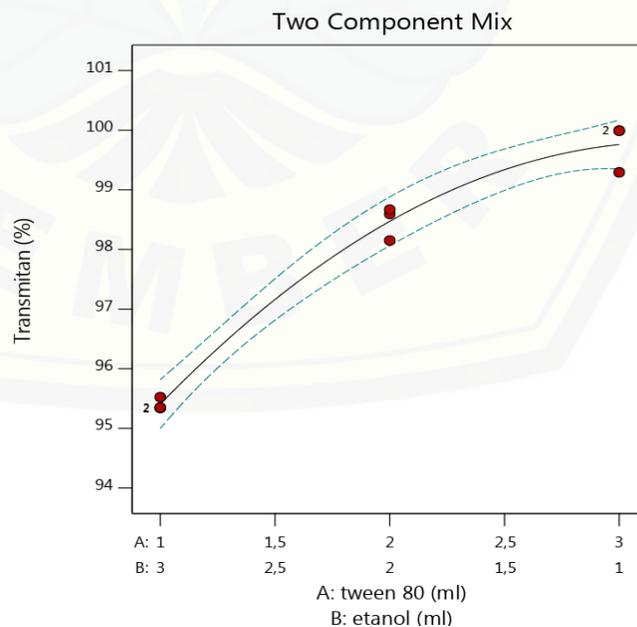
Transmitan	=
+24,81708	tween 80
+22,64042	etanol
+0,889000	tween 80 * etanol

The equation in terms of actual factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. Here, the levels should be specified in the original units for each factor. This equation should not be used to determine the relative impact of each factor because the coefficients are scaled to accommodate the units of each factor and the intercept is not at the center of the design space.

Design-Expert® Software
Component Coding: Actual

Transmitan (%)
● Design Points
--- 95% CI Bands

X1 = A: tween 80
X2 = B: etanol



J. 2 pH

ANOVA for Quadratic model

Response 2: pH

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,2089	2	0,1044	177,34	< 0.0001	significant
⁽¹⁾ Linear Mixture	0,2017	1	0,2017	342,45	< 0.0001	
AB	0,0072	1	0,0072	12,23	0,0129	
Pure Error	0,0035	6	0,0006			
Cor Total	0,2124	8				

⁽¹⁾ Inference for linear mixtures uses Type I sums of squares.

Mixture Component coding is **L_Pseudo**.

Sum of squares is **Type III - Partial**

The **Model F-value** of 177,34 implies the model is significant. There is only a 0,01% chance that an F-value this large could occur due to noise.

P-values less than 0,0500 indicate model terms are significant. In this case A, B, AB are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Fit Statistics

Std. Dev.	0,0243		R²	0,9834
Mean	6,00		Adjusted R²	0,9778
C.V. %	0,4045		Predicted R²	0,9626
			Adeq Precision	26,1707

The **Predicted R²** of 0,9626 is in reasonable agreement with the **Adjusted R²** of 0,9778; i.e. the difference is less than 0.2.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 26,171 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Model Comparison Statistics

PRESS	0,0079
-2 Log Likelihood	-45,04
BIC	-40,65
AICc	-39,04

Coefficients in Terms of Coded Factors

Component	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI		VIF
				Low	High	
A-tween 80	6,16	1	0,0140	6,13	6,20	1,25
B-ethanol	5,80	1	0,0140	5,76	5,83	1,25
AB	0,2400	1	0,0686	0,0721	0,4079	1,50

The coefficient estimate represents the expected change in response per unit change in factor value when all remaining factors are held constant. The intercept in an orthogonal design is the overall average response of all the runs. The coefficients are adjustments around that average based on the factor settings. When the factors are orthogonal the VIFs are 1; VIFs greater than 1 indicate multi-collinearity, the higher the VIF the more severe the correlation of factors. As a rough rule, VIFs less than 10 are tolerable.

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components

pH	=
+6,16	A
+5,80	B
+0,2400	AB

The equation in terms of coded factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. By default, the high levels of the mixture

components are coded as +1 and the low levels are coded as 0. The coded equation is useful for identifying the relative impact of the factors by comparing the factor coefficients.

Final Equation in Terms of Real Components

pH	=
+6,16667	tween 80
+5,43333	etanol
+0,960000	tween 80 * etanol

Final Equation in Terms of Actual Components

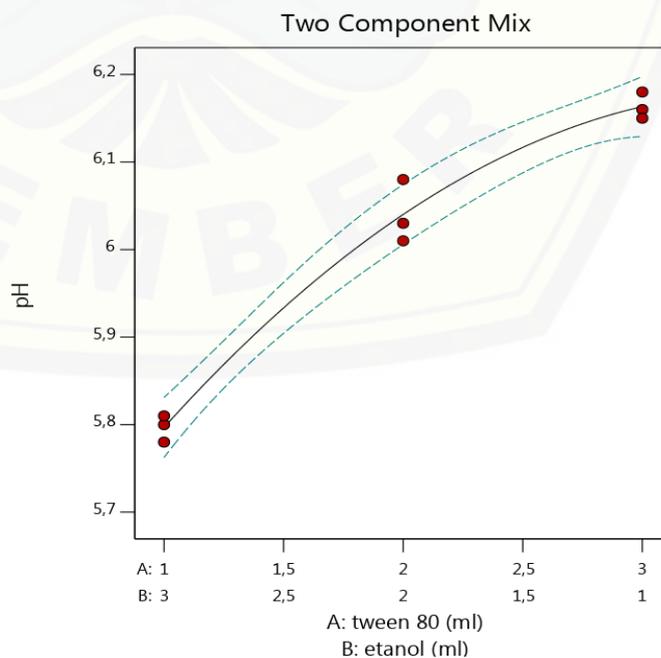
pH	=
+1,54167	tween 80
+1,35833	etanol
+0,060000	tween 80 * etanol

The equation in terms of actual factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. Here, the levels should be specified in the original units for each factor. This equation should not be used to determine the relative impact of each factor because the coefficients are scaled to accommodate the units of each factor and the intercept is not at the center of the design space.

Design-Expert® Software
Component Coding: Actual

pH
● Design Points
-- 95% CI Bands

X1 = A: tween 80
X2 = B: etanol



J. 3 IC₅₀

ANOVA for Quadratic model

Response 3: IC₅₀

Source	Sum of Squares	df	Mean Square	F-value	p-value	
Model	0,3217	2	0,1608	3678,76	< 0.0001	significant
⁽¹⁾ Linear Mixture	0,3148	1	0,3148	7199,99	< 0.0001	
AB	0,0069	1	0,0069	157,54	< 0.0001	
Pure Error	0,0003	6	0,0000			
Cor Total	0,3219	8				

⁽¹⁾ Inference for linear mixtures uses Type I sums of squares.

Mixture Component coding is **L_Pseudo**.

Sum of squares is **Type III - Partial**

The **Model F-value** of 3678,76 implies the model is significant. There is only a 0,01% chance that an F-value this large could occur due to noise.

P-values less than 0,0500 indicate model terms are significant. In this case A, B, AB are significant model terms. Values greater than 0.1000 indicate the model terms are not significant. If there are many insignificant model terms (not counting those required to support hierarchy), model reduction may improve your model.

Fit Statistics

Std. Dev.	0,0066	R²	0,9992
Mean	2,70	Adjusted R²	0,9989
C.V. %	0,2453	Predicted R²	0,9982
		Adeq Precision	119,9999

The **Predicted R²** of 0,9982 is in reasonable agreement with the **Adjusted R²** of 0,9989; i.e. the difference is less than 0.2.

Adeq Precision measures the signal to noise ratio. A ratio greater than 4 is desirable. Your ratio of 120,000 indicates an adequate signal. This model can be used to navigate the design space.

Model Comparison Statistics

PRESS	0,0006
-2 Log Likelihood	-68,45
BIC	-64,05
AICc	-62,45

Coefficients in Terms of Coded Factors

Component	Coefficient Estimate	df	Standard Error	95% CI		VIF
				Low	High	
A-tween 80	2,49	1	0,0038	2,48	2,49	1,25
B-etanol	2,94	1	0,0038	2,93	2,95	1,25
AB	-0,2347	1	0,0187	-0,2805	-0,1890	1,50

The coefficient estimate represents the expected change in response per unit change in factor value when all remaining factors are held constant. The intercept in an orthogonal design is the overall average response of all the runs. The coefficients are adjustments around that average based on the factor settings. When the factors are orthogonal the VIFs are 1; VIFs greater than 1 indicate multi-collinearity, the higher the VIF the more severe the correlation of factors. As a rough rule, VIFs less than 10 are tolerable.

Final Equation in Terms of L_Pseudo Components

IC_{50}	=
+2,49	A
+2,94	B
-0,2347	AB

The equation in terms of coded factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. By default, the high levels of the mixture components are coded as +1 and the low levels are coded as 0. The coded equation

is useful for identifying the relative impact of the factors by comparing the factor coefficients.

Final Equation in Terms of Real Components

IC ₅₀	=
+2,43257	tween 80
+3,34877	etanol
-0,938933	tween 80 * etanol

Final Equation in Terms of Actual Components

IC ₅₀	=
+0,608142	tween 80
+0,837192	etanol
-0,058683	tween 80 * etanol

The equation in terms of actual factors can be used to make predictions about the response for given levels of each factor. Here, the levels should be specified in the original units for each factor. This equation should not be used to determine the relative impact of each factor because the coefficients are scaled to accommodate the units of each factor and the intercept is not at the center of the design space.

Design-Expert® Software
Component Coding: Actual

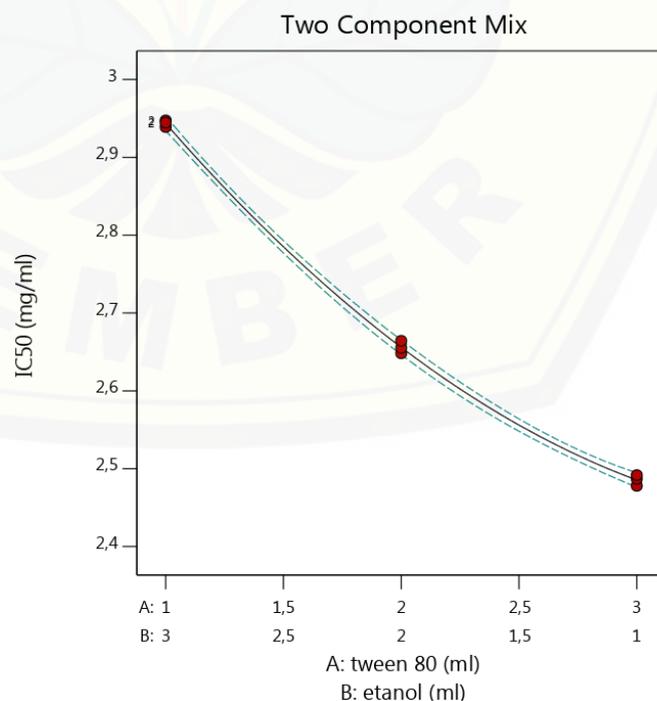
IC₅₀ (mg/ml)

● Design Points

-- 95% CI Bands

X1 = A: tween 80

X2 = B: etanol



Constraints

Name	Goal	Lower Limit	Upper Limit	Lower Weight	Upper Weight	Importance
A:tween 80	is in range	1	3	1	1	3
B:etanol	is in range	1	3	1	1	3
Transmitan	maximize	90	99,999	1	1	5
pH	is in range	4,5	6,5	1	1	3
IC50	minimize	2,478	2,9474	1	1	5

Solutions

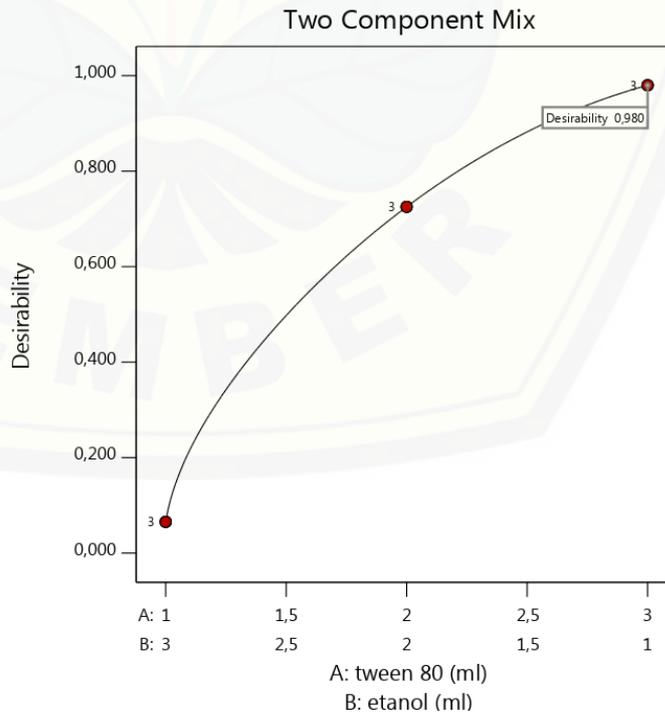
1 Solutions found

Num ber	tween 80	etanol	Trans mitan	pH	IC50	Desirability	
1	3,000	1,000	99,759	6,163	2,486	0,980	Selected

Design-Expert® Software
Component Coding: Actual

Desirability
● Design Points

X1 = A: tween 80
X2 = B: etanol



Lampiran K. Uji Normalitas dan Homogenitas**K. 1 Transmitan***a. Kruskal Wallis***Ranks**

	TRANSMITAN	N	Mean Rank
VAR00001	F1	3	8.00
	F2	3	5.00
	F3	3	2.00
	Total	9	

Test Statistics^{a,b}

	VAR00001
Chi-Square	7.200
df	2
Asymp. Sig.	.027

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: TRANSMITAN

Pada uji Kruskal Wallis menghasilkan nilai $p = 0,027 < 0,05$ yang berarti data memiliki sebaran yang normal dan variasi homogen. Selanjutnya data diuji Man Whitney untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan.

*b. Man Whitney***Ranks**

	TRANSMITAN	N	Mean Rank	Sum of Ranks
VAR00001	F1	3	5.00	15.00
	F2	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	VAR00001
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: TRANSMITAN

Ranks

TRANSMITAN		N	Mean Rank	Sum of Ranks
VAR00001	F1	3	5.00	15.00
	F3	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	VAR00001
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: TRANSMITAN

Ranks

TRANSMITAN		N	Mean Rank	Sum of Ranks
VAR00001	F2	3	5.00	15.00
	F3	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	VAR00001
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-1.964
Asymp. Sig. (2-tailed)	.050
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: TRANSMITAN

Pada pengujian respon transmitan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,05, sehingga dapat diketahui bahwa antara F1, F2, dan F3 terdapat perbedaan signifikan.

K. 2 pH

a. Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
pH	.211	8	.200*	.863	8	.128

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

b. Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

pH

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.202	2	6	.192

Pada uji normalitas dan homogenitas respon pH diperoleh nilai p sebesar 0,128 dan 0,192. Hal tersebut menunjukkan bahwa data memiliki sebaran normal dan variasi homogen karena memiliki nilai $p > 0,05$. Selanjutnya, dilakukan uji *Oneway* ANOVA.

c. Analisis *Oneway* ANOVA

ANOVA					
pH					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.209	2	.104	177.340	.000
Within Groups	.004	6	.001		
Total	.212	8			

d. Analisis LSD

Multiple Comparisons

pH
LSD

(I) pH	(J) pH	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	.12333*	.01981	.001	.0749	.1718
	F3	.36667*	.01981	.000	.3182	.4151
F2	F1	-.12333*	.01981	.001	-.1718	-.0749
	F3	.24333*	.01981	.000	.1949	.2918
F3	F1	-.36667*	.01981	.000	-.4151	-.3182
	F2	-.24333*	.01981	.000	-.2918	-.1949

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Pada pengujian *Oneway* ANOVA diperoleh nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok F1, F2, dan F3. Uji LSD menunjukkan bahwa semua data kelompok F1, F2 dan F3 memiliki nilai respon pH yang berbeda signifikan.

K. 3 IC₅₀

a. Normalitas

Tests of Normality

	perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC50	F1	,248	3	.	,968	3	,658
	F2	,203	3	.	,994	3	,849
	F3	,253	3	.	,964	3	,637

a. Lilliefors Significance Correction

b. Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

IC50

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,477	2	6	,643

Hasil uji normalitas dan homogenitas respon IC₅₀ diperoleh nilai $p > 0,05$. Hal tersebut menunjukkan bahwa data memiliki sebaran normal dan variasi homogen karena memiliki nilai $p > 0,05$. Selanjutnya, dilakukan uji *Oneway* ANOVA.

c. Analisis *Oneway* ANOVA

ANOVA

IC₅₀

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	,322	2	,161	3678,761	,000
Within Groups	,000	6	,000		
Total	,322	8			

d. Analisis LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: IC50

LSD

(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
F1	F2	-,1703667*	,0053988	,000	-,183577	-,157156
	F3	-,4581000*	,0053988	,000	-,471310	-,444890
F2	F1	,1703667*	,0053988	,000	,157156	,183577
	F3	-,2877333*	,0053988	,000	-,300944	-,274523
F3	F1	,4581000*	,0053988	,000	,444890	,471310
	F2	,2877333*	,0053988	,000	,274523	,300944

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Hasil pengujian *Oneway ANOVA* diperoleh nilai p sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan signifikan antara kelompok F1, F2, dan F3. Uji LSD menunjukkan bahwa semua data kelompok F1, F2, dan F3 memiliki nilai respon pH yang berbeda signifikan.

Lampiran L. Hasil Uji Normalitas Formula Optimum

L. 1 Transmitan

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
transmitan	,214	3	.	,989	3	,803

a. Lilliefors Significance Correction

L. 2 pH

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
pH	,328	3	.	,871	3	,298

a. Lilliefors Significance Correction

L. 3 IC₅₀

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
IC ₅₀	,263	3	.	,955	3	,593

a. Lilliefors Significance Correction

Lampiran M. Hasil *One Simple T-Test*

M. 1 Transmitan

One-Sample Test

	Test Value = 99.759					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
Transmitan	-1,511	2	,270	-,083333	-,32058	,15392

M. 2 pH**One-Sample Test**

Test Value = 6.163						
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
pH	-3,574	2	,070	-,06633	-,1462	,0135

M. 3 IC₅₀**One-Sample Test**

Test Value = 2.486						
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
IC ₅₀	110,880	2	,000	,524000	,50367	,54433