

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
PERNYATAAN BEBAS PLAGIASI	iii
DAFTAR PUBLIKASI.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN	xvii
ABSTRAK	xix
ABSTRACT.....	xx
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Identifikasi Masalah	5
1.3 Rumusan Masalah	6
1.4 Tujuan Penelitian.....	7
1.5 Manfaat Penelitian.....	7
1.6 Kebaruan Penelitian	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	11
2.1 γ -Orizanol.....	11
2.2 Minyak Bekatul	15
2.3 Oksigen Singlet	18
2.4 Fotooksidasi.....	22
2.5 Nanoemulsi.....	25
2.6 Metode pembuatan emulsi dengan energi rendah	30
2.7 Landasan Teori	44
2.8 Hipotesis.....	59
BAB III METODE PENELITIAN.....	60

3.1 Bahan Penelitian.....	60
3.2 Alat Penelitian	60
3.3 Tempat dan Waktu Penelitian	61
3.4 Prosedur Penelitian.....	61
3.5 Rancangan Percobaan dan Analisa Statistik	71
3.6. Matriks Hubungan Antara Tahapan, Tujuan, Hipotesis, Cara, Parameter dan Analisis Data serta Output Penelitian.....	72
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	74
4.1. Penentuan mekanisme dan konstanta laju quensing oksigen singlet oleh γ -orizanol.....	74
4.1.1 Pengaruh cahaya dan atau sensitizer terhadap fotooksidasi asam linoleat	74
4.1.2 Pengaruh cahaya dan atau sensitizer terhadap fotooksidasi γ -orizanol	78
4.1.3 Pengaruh adanya antioksidan (γ -orizanol) terhadap fotooksidasi asam linoleat	81
4.1.4 Pengukuran konstanta laju dan mekanisme quensing oksigen singlet oleh γ -orizanol.....	82
4.1.5. Kesimpulan Tahap 1	92
4.2. Formulasi dan Karakterisasi Nanoemulsi oil-in water (o/w) Minyak Bekatul Melalui Metode Inversi Fase Emulsi.....	93
4.2.1. Penentuan kadar antioksidan pada fase minyak	93
4.2.2. Formulasi dan Karakterisasi Nanoemulsi oil-in water (o/w) Minyak Bekatul Melalui Metode Inversi Fase Emulsi	94
4.2.3. Pengujian stabilitas formula nanoemulsi terpilih	102
4.2.4. Kesimpulan Tahap 2.....	107
4.3. Aplikasi nanoemulsi pada sistem model minuman dan minuman isotonik komersial yang mengandung asam askorbat	108
4.3.1. Aplikasi nanoemulsi pada sistem model minuman	108
4.3.1.1. Pembuktian fotooksidasi	108
4.3.1.2. Pengaruh γ -orizanol bebas dan nanoemulsi dengan penambahan standar γ -orizanol.....	110
4.3.1.3. Pengaruh konsentrasi asam askorbat, eritrosin dan pH pada laju perubahan konsentrasi asam askorbat pada fotooksidasi sistem model minuman	112
4.3.2. Aplikasi nanoemulsi pada minuman isotonik komersial yang mengandung asam askorbat 1000 mg/500 mL.	118

4.3.2.1. Pembuktian fotoooksidasi	118
4.3.2.2. Pengaruh nanoemulsi VCO-minyak bekatul dan minyak sawit-minyak bekatul	119
4.3.3.3. Mekanisme nanoemulsi dalam melindungi kerusakan asam askorbat dari fotoooksidasi	122
4.3.3. Kesimpulan Tahap 3	127
Diskusi Umum.....	128
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	131
5.1 Kesimpulan	131
5.2 Saran.....	133
DAFTAR PUSTAKA	135
LAMPIRAN.....	143
RINGKASAN	168
SUMMARY	180

DAFTAR TABEL

Tabel 1.1	Perbandingan penelitian sebelumnya dengan kebaruan penelitian	9
Tabel 2.1	Kandungan beberapa komponen penyusun γ -orizanol pada minyak bekatul	14
Tabel 2.2	Beberapa penelitian terkait sistem pembawa γ -orizanol	16
Tabel 2.3	Komposisi asam lemak penyusun minyak bekatul	17
Tabel 2.4	Komposisi antioksidan pada minyak bekatul	18
Tabel 2.5	Klasifikasi jenis emulsi berdasarkan ukuran diameter dan stabilitas termodinamika	25
Tabel 2.6	Beberapa penelitian terkait penggunaan minyak bekatul dalam sistem pembawa	39
Tabel 2.7	Sistem pembawa antioksidan dalam nanoemulsi dengan metode emulsifikasi spontan	40
Tabel 2.8	Sistem pembawa γ -orizanol dalam nanoemulsi (metode emulsifikasi spontan)	42
Tabel 2.9	Aplikasi mikroemulsi dan nanoemulsi pada minuman ringan	44
Tabel 3.1	Formula nanoemulsi o/w	67
Tabel 3.2	Rasio perbandingan komposisi minyak (b/b)	68
Tabel 3.3	Matriks hubungan antara tahapan, tujuan, hipotesis, cara, parameter dan analisis data serta output penelitian	73
Tabel 4.1	Persamaan garis dari plot $[AO_2]-1$ ($1/[hidroperoksida]$) dengan $[A]-1$ ($1/[asam\ linoleat]$) pada setiap antioksidan	85
Tabel 4.2	Nilai konstanta laju quensing oksigen singlet β -karoten, TBHQ dan γ -orizanol dalam etanol	87
Tabel 4.3	Kadar antioksidan pada minyak bekatul, sawit dan VCO	93
Tabel 4.4	Komposisi dan nilai turbiditas sampel nanoemulsi pada berbagai formula	95
Tabel 4.5	Nilai viskositas sampel nanoemulsi dengan formula terbaik	102
Tabel 4.6	Nilai turbiditas nanoemulsi sebelum dan setelah perlakuan sentrifugasi 2300 rpm selama 15 menit	103
Tabel 4.7	Persamaan garis regresi dari fotooksidasi asam askorbat pada sistem model minuman dengan atau tanpa cahaya dan sensitizer	109
Tabel 4.8	Persamaan garis regresi dari pengaruh pH terhadap perubahan asam askorbat yang mengalami fotooksidasi pada sistem model minuman yang mengandung 0, 1 dan 5% nanoemulsi VCO-minyak bekatul	117

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Aktivitas antioksidan dari sterol ferulate dengan pembentukan lima radikal yang terstabilkan oleh resonansi	12
Gambar 2.2	(a) Struktur umum γ -orizanol; (b) Struktur phytosterol yang menjadi bagian dari penyusun γ -orizanol	14
Gambar 2.3	Orbital molekul oksigen triplet (a) dan oksigen singlet (b)	19
Gambar 2.4	Pembentukan oksigen singlet dengan berbagai metode	20
Gambar 2.5	Mekanisme kimiawi pembentukan oksigen singlet yang melibatkan sensitizer, cahaya dan oksigen triplet	21
Gambar 2.6	Pembentukan hidroperoksida dari reaksi antara asam linoleat dengan oksigen	22
Gambar 2.7	Pembentukan triplet sensitizer tereksitasi dan reaksinya dengan substrat melalui jalur reaksi Tipe I dan II	23
Gambar 2.8	Struktur kimia FD & C Red No.3 (eritrosin)	24
Gambar 2.9	Posisi surfaktan pada lapisan antar muka minyak dengan air	27
Gambar 2.10	Skema mekanisme protein dalam menstabilkan emulsi. (A) <i>Electrostatic repulsion</i> . (B) <i>Steric stabilization</i> . Warna merah menggambarkan sisi hidrofobik protein	30
Gambar 2.11	Skema pembentukan nanoemulsi dengan metode emulsifikasi spontan	32
Gambar 2.12	Reaksi oksigen singlet dengan oleofin atau alkena	45
Gambar 2.13	Reaksi antara β -karoten dengan oksigen singlet yang menghasilkan endoperoksida	46
Gambar 2.14	Reaksi α -tokoferol dengan oksigen singlet yang menghasilkan endoperoksida	47
Gambar 2.15	Kemungkinan reaksi antara komponen γ -orizanol dengan oksigen singlet yang membentuk hidroperoksida	47
Gambar 2.16	Pembentukan oksigen singlet dan reaksinya dengan substrat A menghasilkan produk oksidasi AO2	50
Gambar 2.17	Karakteristik plot pada mekanisme quensing oksigen singlet dan sensitizer triplet	53
Gambar 3.1	Diagram peta jalan penelitian dalam bentuk tulang ikan	61
Gambar 3.2	Alur pengerjaan tahap 1	62
Gambar 3.3	Alur pengerjaan tahap 2	65
Gambar 3.4	Alur pengerjaan tahap 3	69
Gambar 4.1	Tiga parameter oksidasi asam linoleat, (a) angka peroksida, (b) angka anisidine, dan (c) nilai TOTOX	75
Gambar 4.2	Perubahan konsentrasi asam linoleat 50 dan 100 mM dengan atau tanpa cahaya dan eritrosin selama pencahayaan ± 3400 lux pada suhu ruang (30 ± 1 °C)	77

Gambar 4.3	Penurunan konsentrasi γ -orizanol yang mengandung eritrosin 25 ppm dan diberi pencahayaan ± 3400 lux hingga 4 jam pada suhu ruang	79
Gambar 4.4	Perubahan konsentrasi γ -orizanol dengan atau tanpa eritrosin 25 ppm dan diberi pencahayaan ± 3400 lux hingga 4 jam pada suhu ruang (30 ± 1 °C)	80
Gambar 4.5	Pengaruh penambahan β -karoten (0-12 ppm) (a) dan γ -orizanol (0-400 ppm) (b) pada fotooksidasi 30 mM asam linoleat yang mengandung 25 ppm eritrosin dalam etanol dikenai pencahayaan ± 3400 lux selama 4 jam pada suhu ruang (30 ± 1 °C)	82
Gambar 4.6	Skema mekanisme fotooksidasi asam linoleat dengan eritrosin sebagai sensitizer	83
Gambar 4.7	Grafik hubungan antara $1/[\text{hidroperoksida}]$ dengan $1/[\text{asam linoleat}]$	85
Gambar 4.8	Plot grafik rasio slope/intersep dengan variasi konsentrasi masing-masing antioksidan, (a) γ -orizanol, (b) β -karoten dan (c) TBHQ	86
Gambar 4.9	Reaksi quensing oksigen singlet secara kimia oleh β -karoten (Ramel <i>et al.</i> , 2012)	88
Gambar 4.10	Kemungkinan reaksi quensing oksigen singlet secara kimia oleh TBHQ	89
Gambar 4.11	Skema proses terbentuknya oksigen singlet dan kinetika reaksi quensing oksigen singlet oleh γ -orizanol	89
Gambar 4.12	Kemungkinan reaksi quensing oksigen singlet secara kimia oleh γ -orizanol	90
Gambar 4.13	Laju degradasi relatif dari γ -orizanol dan asam linoleat selama fotooksidasi hingga 4 jam	91
Gambar 4.14	Kenampakan visual nanoemulsi VCO dengan variasi SOR 1-3	95
Gambar 4.15	Grafik hubungan turbiditas dengan SOR	96
Gambar 4.16	Kenampakan visual kombinasi minyak VCO:minyak bekatul pada SOR 2,5 (a) dan 3 (b); kombinasi minyak sawit:minyak bekatul pada SOR 2,5 (c) dan 3 (d). Proporsi rasio yang lebih tinggi ditujukan untuk minyak bekatul	97
Gambar 4.17	Rerata ukuran partikel sampel nanoemulsi dengan kombinasi minyak VCO:minyak bekatul (a) maupun minyak sawit:minyak bekatul (b)	98
Gambar 4.18	Indeks polidispersitas sampel nanoemulsi dengan kombinasi minyak VCO:minyak bekatul (a) maupun minyak sawit:minyak bekatul (b)	100
Gambar 4.19	Zeta-potensial sampel nanoemulsi dengan kombinasi minyak VCO:minyak bekatul (a) maupun minyak sawit:minyak bekatul (b)	101

Gambar 4.20	Perubahan nilai turbiditas nanoemulsi selama penyimpanan dalam oven 105 °C selama 45 menit	104
Gambar 4.21	Perubahan nilai turbiditas nanoemulsi selama penyimpanan pada suhu ruang dan inkubator 37 °C hingga 28 hari. Fase minyak berupa VCO dan minyak bekatul (3:7, b/b); rasio surfaktan : minyak (b/b) 2,5 : 1 (A) atau 3 : 1 (B)	105
Gambar 4.22	Perubahan ukuran diameter partikel dan indeks polidispersitas (<i>polydispersity index</i> -PDI) nanoemulsi selama penyimpanan pada suhu ruang dan inkubator 37 °C hingga 28 hari. Fase minyak berupa VCO dan minyak bekatul (3:7, b/b); rasio surfaktan : minyak (b/b) 2,5 : 1 (A) atau 3 : 1 (B)	106
Gambar 4.23	Perubahan nilai zeta-potensial nanoemulsi selama penyimpanan pada suhu ruang dan inkubator 37 °C hingga 28 hari. Fase minyak berupa VCO dan minyak bekatul (3:7, b/b); rasio surfaktan : minyak (b/b) 2,5 : 1 (A) atau 3 : 1 (B)	107
Gambar 4.24	Pengaruh cahaya, sensitizer eritrosin, nanoemulsi dan γ -orizanol terhadap retensi asam askorbat pada fotooksidasi sistem model minuman	111
Gambar 4.25	Pengaruh konsentrasi asam askorbat (450 dan 1800 ppm) pada perubahan konsentrasi asam askorbat dalam sistem model minuman dengan konsentrasi eritrosin 120 ppm dan diberi pencahayaan dengan intensitas cahaya ± 3200 lux hingga 120 menit pada suhu ruang	113
Gambar 4.26	Pengaruh konsentrasi eritrosin (40, 80 dan 120 ppm) pada perubahan konsentrasi asam askorbat dalam sistem model minuman dengan intensitas cahaya ± 3200 lux hingga 120 menit pada suhu ruang (30 ± 1 °C)	114
Gambar 4.27	Pengaruh 5% nanoemulsi VCO-minyak bekatul pada perubahan konsentrasi asam askorbat dalam sistem model minuman yang mengandung konsentrasi eritrosin 40-120 ppm, dengan intensitas cahaya ± 3200 lux hingga 120 menit pada suhu ruang (30 ± 1 °C).	115
Gambar 4.28	Pengaruh 1 dan 5% nanoemulsi minyak sawit-minyak bekatul pada perubahan konsentrasi asam askorbat dalam sistem model minuman yang mengandung konsentrasi eritrosin 40-120 ppm, dengan intensitas cahaya ± 3200 lux hingga 120 menit pada suhu ruang (30 ± 1 °C).	118
Gambar 4.29	Pengaruh eritrosin dan cahaya pada fotooksidasi minuman isotonik komersial yang mengandung asam askorbat dengan intensitas cahaya ± 3200 lux hingga 120 menit pada suhu ruang (30 ± 1 °C).	119
Gambar 4.30	Pengaruh 1 dan 5% nanoemulsi minyak sawit (<i>Palm Oil/PO</i>)-minyak bekatul (<i>Rice Bran Oil/RBO</i>) pada	120

	fotooksidasi minuman isotonik komersial yang mengandung asam askorbat dengan intensitas cahaya ± 3200 lux hingga 120 menit pada suhu ruang (30 ± 1 °C)	
Gambar 4.31	Pengaruh 1 dan 5% nanoemulsi VCO-minyak bekatul (<i>Rice Bran Oil/RBO</i>) pada fotooksidasi minuman isotonik komersial yang mengandung asam askorbat dengan intensitas cahaya ± 3200 lux hingga 120 menit pada suhu ruang (30 ± 1 °C).	121
Gambar 4.32	Perkiraan mekanisme yang terjadi pada sistem model minuman yang mengandung nanoemulsi (o/w). Skema tersebut merupakan adaptasi dari Suhendra <i>et al.</i> (2013)	123
Gambar 4.33	Perubahan nilai a^* pada sistem model minuman yang mengandung 450 dan 1800 ppm asam askorbat	124
Gambar 4.34	Perubahan nilai a^* pada sistem model minuman yang mengandung asam askorbat 450 dan 1800 ppm serta 5% nanoemulsi VCO-minyak bekatul	125
Gambar 4.35	Perubahan konsentrasi eritrosin pada sistem model minuman yang mengandung asam askorbat 1800 ppm serta 5% nanoemulsi VCO-minyak bekatul	126

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Daftar Nilai Konstanta Laju Quensing Oksigen Singlet oleh Berbagai Antioksidan	143
Lampiran 2.	Prosedur perhitungan laju quensing oksigen singlet	147
Lampiran 3.	Metode analisa	148
Lampiran 4.	Tabel rekapitulasi persamaan regresi	153
Lampiran 5.	Kromatogram	157
Lampiran 6.	Analisa Statistik	161

DAFTAR SINGKATAN

o/w	: <i>oil-in-water</i>
w/o	: <i>water-in-oil</i>
VCO	: <i>Virgin Coconut Oil</i>
PO	: <i>Palm Oil</i> (minyak sawit)
RBO	: <i>Rice Bran Oil</i> (minyak bekatul)
b/b	: berat/berat
v/v	: volume/volume
TBHQ	: <i>tert-butylhydroquinone</i>
BHA	: <i>tert-butylhydroxylanisol</i>
BHT	: <i>Tert-butylhydroxytoluene</i>
SOR	: <i>Surfactant to Oil Ratio</i>
PDI	: <i>Polydispersity Index</i>
SLN	: <i>Solid Lipid Nanoparticle</i>
NLC	: <i>Nanostructured Lipid Carrier</i>
NE	: <i>Nanoemulsion</i>
SFA	: <i>Saturated Fatty Acid</i>
MUFA	: <i>Monounsaturated Fatty Acid</i>
PUFA	: <i>Polyunsaturated Fatty Acid</i>
¹ Sen*	: Sensitizer singlet tereksitasi
³ Sen*	: Sensitizer triplet tereksitasi
¹ Sen	: Sensitizer singlet
³ O ₂	: Oksigen triplet
¹ O ₂	: Oksigen singlet
EPI	: <i>Emulsion phase inversion</i>
MCT	: <i>Medium chain triglyceride</i>
LCT	: <i>Long chain triglyceride</i>
HLB	: <i>Hydrophilic-Lipophilic Balance</i>
EPA	: <i>Eicosapentaenoic acid</i>
DHA	: <i>Docosahexanoic acid</i>
Q	: quenser
A	: Senyawa target oksidasi
AO ₂	: Produk senyawa teroksidasi
QO ₂	: Produk hasil reaksi oksidasi antioksidan atau quenser dengan oksigen singlet
k _o	: Konstanta laju reaksi annihilasi triplet-triplet
k _Q	: Konstanta laju reaksi quensing sensitizer triplet
K _{isc}	: Konstanta laju persilangan antar sistem
k _r	: Konstanta laju reaksi oksigen singlet dengan senyawa
K _{ox-Q}	: Konstanta laju reaksi quensing secara kimia
k _q	: Konstanta laju reaksi quensing secara fisik
k _d	: Konstanta kerusakan oksigen singlet
TOTOX	: Total oksidasi
ER	: Eritrosin

HLD : *Hydrophilic lipophilic deviation*