

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK ETANOL BIJI DAN DAGING BUAH PALA (*Myristica fragrans*) DENGAN METODE DPPH

Surya Sumantri Abdullah¹, Irma Antasionasti¹, Gerald Rundengan¹, Rezky Putri Indarwati Abdullah²

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi,

²Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Muslim Indonesia
Email: suryasumantri@unsrat.ac.id

ABSTRAK

Pala (*Myristica fragrans*) tergolong rempah-rempah sebagai sumber antioksidan yang dapat mencegah radikal bebas yang dapat merusak sel tubuh. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari bagian biji dan daging buah pala (*Myristica fragrans*) yang di peroleh dari desa Ratatotok, Sulawesi Utara. Penelitian ini di lakukan dengan metode maserasi dengan etanol dilanjutkan pengujian menggunakan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazi) pada konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 mg/L untuk menganalisa aktivitas antioksidan dengan spektrofotometer UV-Vis. Hasil dari penelitian ini memperlihatkan kadar antioksidan pada bagian biji dan daging buah pala aktivitas antioksidannya meningkat dan semakin tinggi konsentrasi senyawa maka semakin tinggi pula kadar antioksidan yang dihasilkan. Pada penelitian ini Nilai IC₅₀ ekstrak etanol biji pala adalah 0,48128 µg/ml dan daging buah pala berturut-turut adalah: 0,48128 µg/ml dan 1,016082 µg/ml. Nilai IC₅₀ yang lebih kecil mengindikasikan aktivitas antioksidan yang kuat dalam sampel ekstrak etanol biji lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol dari daging buah pala.

Kata kunci: aktivitas antioksidan, DPPH, buah Pala

ABSTRACT

Nutmeg (*Myristica fragrans*) is classified as a spice as a source of antioxidants that can prevent free radicals that can damage body cells. This study aimed to analyze the antioxidant activity of the seeds and flesh of the nutmeg (*Myristica fragrans*) obtained from the village of Ratatotok, North Sulawesi. This research was conducted by maceration method with ethanol and then by using the DPPH method (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) with concentrations of 2, 4, 6, 8, 10 mg/L to analyze antioxidant activity with UV-Vis spectrophotometer. The results of this study showed antioxidant levels in the seeds and flesh of nutmeg increased antioxidant activity and the higher the concentration of compounds will bring the higher levels of antioxidants produced. In this studied, the IC₅₀ value of nutmeg seed ethanol extract and the nutmeg flesh are 0.48128 µg/ml and 1.016082 µg/ml, respectively. The smaller IC₅₀ value indicates the strong antioxidant activity in the ethanol extract of the seeds is stronger than the ethanol extract of the nutmeg pulp.

Keywords: antioxidant activity, DPPH, Nutmeg

PENDAHULUAN

Indonesia dikenal dengan keanekaragaman berbagai rempah-rempahnya. Pala (*Myristica fragrans* Houtt) merupakan salah satu rempah-rempah yang diminati di Indonesia. Dunia saat ini memproduksi Pala rata-rata 10.000-12.000 ton/tahun. Indonesia mendominasi produksi sebesar 75% perdagangan dunia (Leela N.K., 2008). Salah satu daerah penghasil pala terbesar di Indonesia adalah Sulawesi Utara (ANTAP SULUT, 2009). Pala yang dihasilkan

berasal dari Siau dan Sangihe, yang telah lama dikenal dalam perdagangan Pala yang menghasilkan pala yang sangat aromatik (Krishnamoorthy dkk., 2003). Daging, pala, dan fuli adalah tiga bagian pala yang berbeda. Biji pala merupakan bagian dalam buah pala yang dikelilingi oleh lapisan cangkang keras dan berubah warna menjadi hitam jika sudah masak. Biji dan fuli merupakan produk utama *Myristica fragrans* yang dikenal sebagai rempah-rempah. Daging adalah lapisan terluar yang menutupi fuli dan biji pala.

Pala memiliki aktivitas antioksidan sebagaimana yang telah dilaporkan (Murcia dkk., 2004; Misharina dkk., 2009; Kim dkk., 2010). Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan secara umum mengandung: vitamin, karotenoid, terpenoid, alkaloid, flavonoid, lignin, fenol sederhana, asam fenolik dan lain-lain (Liu dkk., 2000). Antioksidan dibutuhkan bagi tubuh, dan berfungsi untuk menghambat kerusakan yang disebabkan oleh *Reactive Oxygen Species* (ROS) pada membran lipid, DNA dan protein (Su L., dkk., 2007). ROS terdiri dari hidrogen peroksida (H_2O_2), anion superoksida ($^1O_2^-$) dan radikal bebas: hidroksil (-OH) dan peroksil (ROO-), oksigen singlet (1O_2) dan peroksinitrit (ONOO-) molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif. ROS merusak sel dengan reaksi berantai seperti peroksidasi lipid yang berkontribusi terhadap perkembangan penyakit kronis, seperti kanker, penyakit jantung dan serebrovaskular (Fang dkk., 2009; Huang, dkk., 2005; Kumar dkk., 2008).

Selain itu juga pala digunakan dalam pengobatan sebagai karminatif, astringent, narkotika, afrodisiak, perut kembung, mual dan muntah. Minyak pala digunakan untuk pengobatan peradangan saluran kemih dan kandung kemih, halitosis, dispepsia, perut kembung, impotensi, insomnia dan penyakit kulit. Biji pala mengandung senyawa aktif miristisin narkotika (Krishnamoorthy dkk., 2003).

Penggunaan pala yang begitu luar mendorong dilakukan penelitian terhadap aktivitas antioksidan biji dan daging buah *Myristica fragrans* yang dihasilkan di daerah Minahasa Tenggara sekaligus dilakukan screening fitokimia senyawa flavonoid secara kualitatif yang merupakan bagian dari senyawa metabolit yang mempunyai aktivitas antioksidan. Kemudian untuk mengetahui dan mengevaluasi kemampuan antioksidan dilakukan pengujian dengan menggunakan metode DPPH.

BAHAN DAN METODE

Bahan-bahan yang digunakan adalah buah pala yang diperoleh dari Desa Ratatotok, Kabupaten Minahasa Tenggara, Sulawesi Utara. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah 2,2-diphenyl-1-picrylhidrazil (DPPH) diperoleh dari Sigma-Aldrich, sedangkan asam askorbat, etanol, magnesium, asam klorida diperoleh dari E. Merck (Darmstadt, Germany).

Preparasi sampel

Biji dan daging buah Pala yang telah dikumpulkan, dicuci dengan air bersih, kemudian dilanjutkan diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%, disimpan pada wadah yang kedap udara. Proses maserasi dilakukan selama 3 hari dan dilakukan remaserasi sebanyak 2 kali ditandai dengan hilangnya warna maserat dan dengan pengadukan. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan menggunakan vacuum rotary evaporator pada suhu 60°C dan diperoleh ekstrak kental etanol biji dan daging buah Pala.

Screening fitokimia identifikasi flavanoid

Uji flavonoid dilakukan menurut Katja (2020). Sebanyak 2 mL larutan dari ekstrak biji dan daging buah pala dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan 5 tetes etanol kemudian dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambah dengan serbuk Mg 0,2 g dan 5 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan positif adanya flavonoid.

Pengujian aktivitas antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan didasarkan pada kemampuan penangkap radikal bebas DPPH ekstrak etanol daging buah dan biji Pala mengacu pada prosedur Bandoneine dkk, (2002) Sebanyak 0,1 ml larutan sampel uji dengan berbagai konsentrasi (Konsentrasi yang memberikan nilai IC_{50} yakni konsentrasi fraksi yang memberikan persen aktivitas penangkapan radikal sebesar 50% dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier) ditambahkan 3,9 ml larutan DPPH dimasukkan ke dalam kuvet dan dihomogenkan. Kemudian sebagai kontrol digunakan DPPH.

Pembuatan larutan stock DPPH

Larutan stock DPPH dibuat dengan melarutkan 5 mg padatan DPPH ke dalam 100 ml Ethanol pro analisis. Kemudian disiapkan larutan perbandingan, yaitu larutan kontrol yang berisi 2 ml Etanol pro analisis dan 1 ml larutan DPPH 50 ppm (Tristantini, dkk., 2016). Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

$$\% \text{ Inhibisi} = 100 \times (A_0 - A) / A_0$$

A_0 = absorbansi pada panjang gelombang 515 nm sampel blanko pada $t = 0$ menit.

A = absorbansi sampel akhir pada panjang gelombang 515 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstrak etanol biji dan daging buah pala

Rendemen yang diperoleh dari ekstraksi masing-masing 500 g biji dan 500 g daging buah pala menghasilkan rendemen sebanyak 0,2% dan 0,158%. Hasil ekstraksi dipengaruhi oleh luas permukaan partikel dimana sampel yang

digunakan cukup banyak namun ukuran partikel tidak diperkecil hanya dipotong potong kecil sehingga pelarut tidak bisa mengekstraksi secara maksimal mengakibatkan ekstrak yang diperoleh sedikit. Skrining fitokimia identifikasi flavanoid ekstrak etanol biji dan daging buah Pala Pembuatan larutan uji untuk skrining fitokimia dilakukan dengan melarutkan masing-masing sampel ekstrak etanol biji dan daging buah pala sebanyak 500 mg etanol dalam 50 mL ke dalam erlemeyer.

Tabel 1. Skrining ekstrak etanol biji dan daging buah pala

No	Parameter Uji	Sampel	Hasil Screening Fitokimia	Hasil Positif Uji
1	Flavanoid	Biji buah Pala	+	Endapan kuning
2	Flavanoid	Daging buah Pala	+	Endapan kuning

Berdasarkan Tabel 1, diperoleh bahwa ekstrak etanol biji dan daging buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) mengandung senyawa flavonoid. Identifikasi senyawa dengan reagent spesifik menghasilkan larutan/endapan kuning.

Pengujian aktivitas antioksidan

DPPH adalah metode yang umum digunakan dikarenakan metode ini sederhana, cepat dan sensitif terhadap aktivitas antioksidan

(Koleva, 2002). Uji DPPH didasarkan pada reduksi warna ungu larutan DPPH (Floegel dkk., 2011), yang mana terjadi reaksi transfer atom hidrogen antara antioksidan dan radikal peroksil (Wootton-Beard dkk., 2011) pada panjang gelombang 515 nm yang mengakibatkan penurunan absorbansi. Menurunnya nilai absorbansi dapat dilihat secara visual dengan terjadinya perubahan warna dari warna ungu hingga terbentuk warna kuning.

Tabel 2. Hasil analisis antioksidan ekstrak biji buah pala

No	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
1	Ekstrak etanol biji pala	2	0,417	51,40	0,48128
2	Ekstrak etanol biji pala	4	0,274	68,06	
3	Ekstrak etanol biji pala	6	0,257	70,05	
4	Ekstrak etanol biji pala	8	0,197	77,04	
5	Ekstrak etanol biji pala	10	0,146	82,98	
6	Kontrol DPPH		0,858	-	

Tabel 3. Hasil analisis antioksidan ekstrak daging buah pala

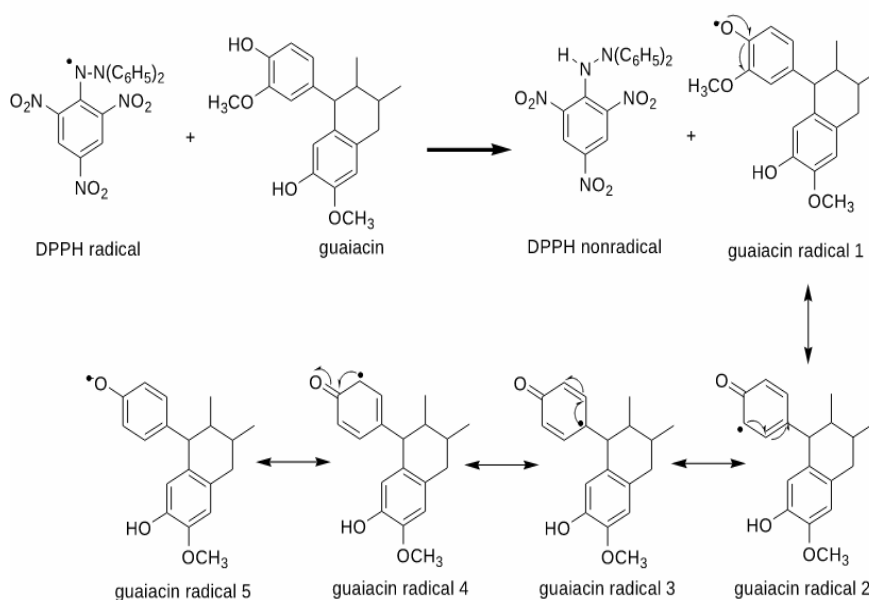
No	Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% inhibisi	IC ₅₀ (ppm)
1	Ekstrak etanol daging buah pala	2	0,421	50,93	1,016082
2	Ekstrak etanol daging buah pala	4	0,369	57,11	
3	Ekstrak etanol daging buah pala	6	0,300	65,03	
4	Ekstrak etanol daging buah pala	8	0,281	67,25	
5	Ekstrak etanol daging buah pala	10	0,265	70,11	
6	Kontrol DPPH		0,858	-	

Pengukuran DPPH dinyatakan sebagai IC₅₀, yaitu jumlah konsentrasi ekstrak ($\mu\text{g/ml}$) yang menangkap radikal DPPH sebesar 50%. Nilai IC₅₀ ekstrak etanol biji pala adalah 0,48128 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 1) dan daging buah pala adalah: 1,016082 $\mu\text{g/ml}$ (Tabel 2). Nilai IC₅₀ yang lebih kecil mengindikasikan aktivitas antioksidan yang kuat dalam sampel ekstrak etanol biji lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol dari daging buah Pala.

Keberadaan senyawa flavanoid berkontribusi sebagai senyawa antioksidan yang diekstraksi untuk berfungsi sebagai donor elektron seperti yang dijelaskan oleh Buhler dan Miranda, 2000; Joshi dkk., 2008; dan Das dkk., 2011). Daging buah pala memiliki kapasitas antioksidan rendah, karena kandungan flavonoid

yang kecil. Struktur dasar flavonoid adalah dua gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena. Kedua gugus hidroksil tersebut berperan sebagai gugus donor elektron dan dapat meningkatkan aktivitas antioksidan (Zang, 1999).

Min dkk. (2011) mengisolasi beberapa senyawa murni pala yang aktif sebagai antiinflamasi, yaitu guaiacin. Guaiacin umumnya termasuk dalam golongan fenolik yang memiliki gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena dan aktif sebagai antioksidan. Peran antioksidannya mendonorkan elektron (dalam bentuk radikal hidrogen) ke radikal DPPH menjadi DPPH non radikal dan radikal tidak stabil guaiacin. Pada proses selanjutnya, guaiacin mendelokalisasi elektron untuk menstabilkan dirinya sendiri (Gambar 1).



Gambar 1. Mekanisme Guaiacin terhadap penangkapan radikal bebas DPPH

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol biji pala memiliki aktivitas penangkal radikal bebas metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) tertinggi dibandingkan ekstrak etanol daging buah pala.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, S.S., Putra, P.P., Antasionasti, I., Rundengan, G., Suoth, E.J., Abdullah, R.P.I., & Abdullah, F. 2021. Analisis sifat fisikokimia, farmakokinetik dan toksikologi pada pericarpium pala (*Myristica fragrans*) secara artificial intelligence. *Chemistry Progress*, 14(2), 81-92.
- Antasionasti, I., & Jayanto I. 2021. Aktivitas antioksidan ekstrak etanol kayu manis (*Cinnamomum Burmani*) secara *in vitro*. *Jurnal Farmasi Udayana*. 10(1), 38-47.
- Bandoniene, D., Murkovic, M., Pfannhauser, W., Venskutonis, P.R., & Gruzdienė, D. 2002. Detection and activity evaluation of radical scavenging compounds by using DPPH free radical and online HPLC-DPPH methods. *European Food Research and Technology*. 214(2), 43-147.
- Buhler, R., & Miranda, C. 2000. Antioxidant activities flavonoid, The Linus Pauling Institute, Oregon State University.
- Das, J., Mao, A.A., & Handique, P.J. 2011. Terpenoid compositions and antioxidant activities of two Indian valerian oils from the Khasi Hills of North-East India. *Natural Product Communications*. 6(1), 129-132
- Department of Plantation of North Sulawesi. 2009. *ANTAP SULUT*. 16-19
- Fang, Z., Zhang Y., LÜ, Y., Ma, G., Chen, J., Liu, D., & Ye, X. 2009. Phenolic compounds and antioxidant capacities of bayberry juices. *Food Chemistry*. 113(4), 884-888.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. I., Koo, S.I. & Chun, O. K. 2011. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. *Journal of Food Composition and Analysis*. 24(7), 1043-1048
- Huang, D., Ou, B., & Prior, R.L., 2005. Reviews: the chemistry behind antioxidant capacity assays, *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 53(6), 1841-1856.
- Joshis, S., Chanotiya, C.S., Agorwal, G., Prakash, O., Pont, A.K., & Mathela, C.S., 2008. Terpenoid compositions and antioxidant and antimicrobial properties of the rhizome essential oils of *Hedychium spicatum*. *Chemistry and biodiversity*. 5(2), 299-309.
- Katja, D.G. 2020. Fitokimia dan aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms (Meliaceae). *Chemistry Progress*. 13(2), 117-122.
- Kim H.J., Chen F., Wang X., Wang Y., Mc Gregor J., & Jiang Y.M. 2010. Characterization of antioxidants in nutmeg (*Myristica fragrans* Houttuyn) oil. In: Flavor and health benefits of small fruits. *ACS Symposium Series*, American Chemical Society. 239-252.
- Koleva, I.I., van Beek, T.A., Linssen, J.P.H., de Groot, A., & Evstatieva L.N. 2002. Screening of plant extracts for Antioxidant activity: a comparative study on three testing methods. *Phytochemical Analysis*. 13(1), 8-17.
- Krishnamoorthy B. and Rema J. 2003. Nutmeg and mace. In: Peter K.V. (Ed.), *Handbook of herbs and spices*, CRC Wordhead Publishing Limited, 238-248.
- Kumar, K.S., Ganesan, K., & Subba-Rao, P.B. 2008. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) an edible seaweed, *Food Chemistry*. 107(1), 289-295.
- Leela, N.K. 2008. *Nutmeg and Mace*. In: Parthasarathy V.P., Chempakan B., Zacharias T.J. (Eds.), *Chemistry of spices*, CABI International, Wellington, UK, 2008, 165-189.
- Liu, F., & Ng T.B. 2000. Antioxidative and free radical scavenging activities of selected medicinal herb. *Life Sciences*. 66(8), 725-735.
- Min, B.S., Cuong, T.D., Hung, T.M., Min, B.K., & Shin B.S., Wou M.H. 2011. Inhibitory effect of lignans from *Myristica fragrans* on LPS-induced NO production in RAW264,7 cells. *Bulletin of the Korean Chemical Society*. 32(11), 4059-4062.
- Misharina, T.A., Terenina, M.B., & Krikunova, N.I., 2009. Antioxidant properties of essential oils. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 45(6), 642-647.

- Murcia, M.A., Egea I., Romojaro, F., Parras, P., Jiménez, A.M., & Martínez-Tomé, M. 2004. Antioxidant evaluation in dessert spices compared with common food additives. *Journal of Agricultural Food and Chemistry*. 52(7), 1872-1881.
- Su, L., Jun, J.Y., Charles, D., Zhou, K., Moore, J., & Yu, L.L. 2007. Total phenolic content, chelating capacities and radical scavenging properties of black peppercorn, nutmeg, rosehip, cinnamon and oregano leaf. *Food Chemistry*. 100(3), 990-997.
- Tristantini, D., Ismawati, A., Pradana, B.T., & Jonathan, J.G. 2016. *Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH pada daun tanjung (Mimusops elengi L). Prosiding. Seminar Nasional Teknik Kimia*. Jogjakarta, 1-3.
- Wootton-Beard, P.C., Moran, A., & Ryan, L. 2011. Stability of the total antioxidant capacity and total polyphenol content of 23 commercially available vegetable juices before and after in vitro digestion measured by FRAP, DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu methods. *Food Research International*. 44(1), 217-224.
- Zhang, H.Y. 1999. Theoretical methods used in elucidating activity differences of phenolic antioxidants, *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 76(6), 745-748.