

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN FENOLIK BEBAS DAN TERIKAT DARI DARI TEPUNG CANGKANG PALA (*Myristica fragrans* Houtt)

Imelda Suling Allo¹, Edi Suryanto^{1*}, Harry S.J. Koleangan¹

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Sam Ratulangi
*edi7suryanto@gmail.com

ABSTRAK

Tanaman pala merupakan salah satu produk pertanian yang banyak dihasilkan di berbagai daerah, seperti provinsi Sulawesi Utara. Tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt) merupakan salah satu tanaman tropis, yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi di Indonesia. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan fenolik bebas terikat, flavonoid, tanin, aktivitas antioksidan dan nitrit dari tepung cangkang pala yang diekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik dengan etanol (ET), aquades (AQ) dan tanpa perlakuan (TP). Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu, preparasi, ekstraksi tepung cangkang biji pala, ekstraksi fenolik bebas dan fenolik terikat. Setelah itu, dilanjutkan dengan penentuan kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin, aktivitas antioksidan ditentukan dengan metode DPPH, FRAP, ABTS, dan penangkal nitrit oksida. Analisis data menggunakan software SPSS. Hasil pengujian kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin, menunjukkan ekstrak fenolik bebas lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak fenolik terikat. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, FRAP dan ABTS menunjukkan ekstrak fenolik bebas dan ekstrak fenolik terikat tertinggi terdapat pada AQ dibandingkan TP dan ET. Hasil pengujian kapasitas penangkal nitrit menunjukkan ekstrak fenolik bebas dan ekstrak fenolik terikat tertinggi terdapat pada TP dibandingkan ET dan AQ.

Kata kunci: fenolik, antioksidan, tepung cangkang pala.

ABSTRACT

Nutmeg is one of the many agricultural products produced in various regions, such as North Sulawesi province. Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) is one of the tropical plants, which has high economic value in Indonesia. This study aims to determine the free bound phenolic content, flavonoids, tannins, antioxidant activity and nitrites from nutmeg shell flour extracted using ultrasonic waves with ethanol (ET), distilled water (AQ) and untreated (TP). This research consisted of several stages, namely, preparation, extraction of nutmeg shell flour, extraction of free phenolic and bound phenolic. After that, followed by the determination of the total phenolic content, flavonoids and tannins, antioxidant activity was determined by the DPPH, FRAP, ABTS, and nitric oxide antidote methods. Data analysis using SPSS software. The results of testing the total phenolic content, flavonoids and tannins, showed that the free phenolic extract was higher when compared to the bound phenolic extract. The results of antioxidant activity testing using the DPPH, FRAP and ABTS methods showed that the highest free phenolic extracts and bound phenolic extracts were found in AQ compared to TP and ET. The results of the nitrite blocking capacity test showed that the highest free phenolic extract and bound phenolic extract were found in TP compared to ET and AQ.

Keywords: phenolic, antioxidant, nutmeg shell flour.

PENDAHULUAN

Tanaman herbal dan rempah-rempah merupakan produk unggul Indonesia, salah satunya tanaman pala. Tanaman pala merupakan hasil produk petani yang banyak dihasilkan di negara Indonesia salah satunya, di Sulawesi Utara.

Tanaman pala di Indonesia telah digunakan secara tradisional untuk rempah-rempah dan obat-obatan untuk meningkatkan sistem imun dan radioprotektif, antidiabetes, antikonvulsan, antimoluska, hepatoprotektif, antikarsinogen, aprodisiak, antidepresan, antioksidan, dan

antimikroba (Hadad dkk., 2006; El Malti dkk., 2008).

Bagian dari buah pala yang banyak dimanfaatkan adalah biji, fuli dan daging buah pala sedangkan cangkang pala belum dimanfaatkan dengan baik. Cangkang Pala merupakan salah satu limbah hasil pengolahan minyak pala yang mempunyai potensi besar sebagai bahan baku serat pangan (Salindeho dkk., 2018).

Beberapa penelitian melaporkan bahwa selain mempunyai kandungan serat pangan cangkang pala juga mempunyai kandungan komponen bioaktif yang berpotensi sebagai antioksidan seperti senyawa fenolik, flavonoid dan tanin (Tempomona dkk., 2015). Senyawa fenolik ini banyak ditemukan di semua bagian tanaman, senyawa fenolik memiliki gugus hidroksil dan keragaman struktur yang luas, mulai dari fenolik sederhana hingga kompleks (Gulsunoglu dkk., 2019; Suryanto, 2018). Senyawa fenolik secara alami ada dalam bentuk bebas dan terikat. Senyawa fenolik bebas dapat diekstraksi dengan pelarut organik dengan mudah sedangkan fenolik terikat tidak mudah diekstrak dengan pelarut organik karena terikat secara kovalen pada komponen struktural dinding sel. Metode ekstraksi konvensional tidak cukup untuk melepaskan senyawa fenolik terikat. Karena senyawa fenolik terikat berada dalam keadaan terikat, senyawa fenolik terikat membutuhkan ekstraksi yang tepat untuk memutuskan senyawa fenolik tersebut (Su dkk., 2014; Gulsunoglu dkk., 2019).

Senyawa fenolik fungsinya sebagai antioksidan alami. Antioksidan adalah senyawa yang diperlukan oleh manusia untuk menangkal radikal bebas di dalam tubuh. Serat pangan dan antioksidan merupakan dua jenis komponen yang sangat bermanfaat dalam meningkatkan aktivitas kesehatan dan mampu mencegah berbagai penyakit (Suryanto, 2018).

Sampai saat ini, penelitian mengenai cangkang pala belum banyak yang meneliti tentang ekstrak fenolik bebas dan ekstrak fenolik terikat yang diperoleh dari limbah cangkang pala sehingga tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan kandungan fenolik, flavonoid, tanin, aktivitas antioksidan dan nitrit yang ada dalam ekstrak fenolik bebas dan terikat dari cangkang pala etanol, aquades dan tanpa perlakuan.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan adalah cangkang pala diperoleh Tahuna, Kecamatan Tahuna Timur, Kabupaten Sangihe, Sulawesi Utara. Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah etanol, reagen Folin-Ciocalteu, buffer fosfat, asam klorida, asam sulfat, natrium hidroksida dan natrium karbonat diperoleh dari E. Merck (Darmstadt, Germany). Asam galat, kuersetin, katekin, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2 azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-asam sulfonat (ABTS).

Preparasi sampel

Cangkang pala yang telah dikumpulkan, dicuci dengan air bersih kemudian direbus selama 2 jam setelah itu dikeringkan dengan menggunakan oven pada suhu 50-60 °C. Setelah itu, sampel dihancurkan dengan blender kemudian dihaluskan (mikronisasi) menggunakan alat *milling* (Fomac tipe FCT-Z200 tegangan 220 V daya 1 KW frekuensi 50-60 Hz kecepatan putar 28.000 rpm) selama 2 menit. Hasil *milling* dalam bentuk tepung kemudian diayak menggunakan ayakan 200 mesh (75 µm) untuk mendapatkan serbuk halus cangkang pala.

Pengolahan tepung cangkang pala

Tepung cangkang pala ukuran 200 mesh diekstraksi menggunakan teknik ekstraksi sonikasi dengan pelarut Etanol 100% dan Aquades. Masing-masing sebanyak 10 g serbuk cangkang pala dimasukkan ke dalam gelas piala dan ditambahkan pelarut kemudian disonikasi selama 3 jam, setelah disonikasi sampel disaring sehingga diperoleh filtrat dan residu. Residu kemudian dihidrolisis menggunakan aquades kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50-60 °C. Residu yang telah kering selanjutnya digiling menggunakan alat *milling* sehingga diperoleh tepung cangkang pala yang selanjutnya dianalisis.

Ekstraksi fenolik bebas dan fenolik terikat

Serbuk cangkang pala diekstraksi menggunakan teknik ekstraksi sonikasi dengan pelarut etanol 80%. Serbuk ditimbang sebanyak 5 g serbuk dan ditambahkan 100 mL pelarut, kemudian disonikasi selama 30 menit. Setelah disonikasi sampel disaring sehingga diperoleh filtrat dan residu. Kemudian filtrat dikeringkan sehingga

diperoleh ekstrak fenolik bebas. Selanjutnya residu dari ekstrak fenolik bebas sebanyak 3 g diperlakukan dengan NaOH 2 M selama 2 jam dan dinetralkan dengan HCl 6 M. Kemudian diekstraksi dengan etil asetat sampai tidak berwarna lalu filtratnya dievaporasi dan dikeringkan sehingga diperoleh ekstrak fenolik terikat.

Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan menggunakan metode Jeong dkk. (2004). Sebanyak 0,1 mL masing-masing larutan ekstrak fenolik bebas dan fenolik terikat dengan perlakuan ekstrak etanol (ET), ekstrak aquades (AQ), dan ekstrak tanpa perlakuan (TP) konsentrasi 1000 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu 50% dalam tabung reaksi dan kemudian campuran divortex selama 3 menit. Setelah interval waktu 3 menit, ditambahkan 2 mL larutan Na₂CO₃ 2%, kemudian campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Selanjutnya dibaca absorbansinya pada λ 750 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasilnya dinyatakan sebagai ekuivalen asam galat dalam µg/mL ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan dengan metode yang sama menggunakan asam galat sebagai standar.

Penentuan kandungan total flavonoid

Kandungan total flavonoid ditentukan menurut metode Meda (Rompas dkk., 2016). Sebanyak 2 mL masing-masing larutan ekstrak fenolik bebas dan fenolik terikat dengan perlakuan ekstrak etanol (ET), ekstrak aquades (AQ), dan ekstrak tanpa perlakuan (TP) dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan dengan 2 mL AlCl₃ 2% yang telah dilarutkan dengan etanol, kemudian divortex. Absorbansi ekstrak dibaca pada spektrofotometer UV-Vis dengan λ 415 nm. Kandungan total flavonoid dinyatakan sebagai ekuivalen kuersetin dalam µg/mL ekstrak.

Penentuan kandungan tanin terkondensasi

Kandungan tanin ditentukan dengan menggunakan metode Julkunen-Tiito (1985). Sebanyak 0,5 mL masing-masing larutan ekstrak fenolik bebas dan fenolik terikat dengan perlakuan ekstrak etanol (ET), ekstrak aquades (AQ), dan ekstrak tanpa perlakuan (TP) ditambahkan dengan 1,5 mL larutan vanilin-metanol 4% kemudian divortex selama 3 menit. Setelah divortex,

ditambahkan lagi dengan 0,75 mL asam klorida pekat (37%). Absorbansi dibaca pada λ 500 nm setelah campuran diinkubasi selama 20 menit pada suhu kamar. Kandungan tanin terkondensasi dinyatakan sebagai ekuivalen katekin dalam µg/mL ekstrak. Kurva kalibrasi dipersiapkan pada cara yang sama menggunakan katekin sebagai standar.

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ditentukan dengan metode Burda & Oleszeck (2001). Sebanyak 0,5 mL masing-masing larutan ekstrak fenolik bebas dan fenolik terikat dengan perlakuan ekstrak etanol (ET), ekstrak aquades (AQ), dan ekstrak tanpa perlakuan (TP) ditambahkan dengan 1,5 mL larutan DPPH dan divortex selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu ke kuning menunjukkan efisiensi penangkal radikal bebas. Selanjutnya pada 5 menit terakhir menjelang 30 menit inkubasi, absorbansinya diukur pada panjang gelombang 517 nm dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Aktivitas penangkal radikal bebas (APRB) dihitung sebagai persentase berkurangnya warna DPPH dengan menggunakan persamaan:

$$\text{APRB (\%)} = \left(1 - \frac{A}{A_0}\right) \times 100\%$$

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP

Penentuan aktivitas antioksidan FRAP ditentukan dengan metode Safitri dkk. (2020). Pembuatan larutan FRAP sebanyak 0,03 gr TPTZ dan 0,054 gr FeCl₃.6H₂O, kemudian masing-masing dilarutkan dalam 10 mL HCl 40 mM dan 10 mL aquades. Sebanyak 50 mL buffer asetat pH 3,6 dicampurkan dengan larutan TPTZ 5 mL, dan larutan FeCl₃.6H₂O sebanyak 5 mL. Lalu ditambahkan aquades hingga tepat 100 mL dalam labu ukur. Penentuan Aktivitas Antioksidan Sebanyak 0,1 mL masing-masing larutan ekstrak fenolik bebas dan fenolik terikat dengan perlakuan ekstrak etanol (ET), ekstrak aquades (AQ), dan ekstrak tanpa perlakuan (TP) ditambahkan 3 mL reagen FRAP. Kemudian divortex, lalu diamati absorbansinya pada panjang gelombang 596 nm.

Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode ABTS

Sebanyak 0,1 mL ekstrak ditambahkan 2 mL larutan stok ABTS, lalu divortex. Selanjutnya larutan diinkubasi selama 6 menit dan diukur serapan dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 734 nm. Uji peredaman ABTS dinyatakan sebagai persen (%) penghambatan terhadap radikal ABTS. Persen aktivitas antioksidan dihitung sebagai persentase berkurangnya warna ABTS dengan menggunakan persamaan:

$$\text{Penangkal ABTS (\%)} = \left(\frac{A_0 - A}{A_0} \right) \times 100\%$$

Penentuan penangkal Nitrit Oksida (NO[•])

Kapasitas penangkal nitrit ditentukan menggunakan metode Zhang dkk. (2009). Sebanyak 2 mL natrium nitroprusida 10 mM dicampur dengan 3 mL ekstrak dalam labu 25 mL dan diinkubasi pada suhu kamar selama 30 menit. Larutan campuran dicampur dengan 1 mL asam sulfanilat 0,4% distirer selama 5 menit diikuti penambahan 0,5 mL *N*-(1-Naphthyl)ethylenediamine 0,1% dan volume disesuaikan menjadi 25 mL dengan aquades. Larutan didiamkan selama 15 menit dan diukur absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 540 nm. Persen kapasitas penangkal ion nitrit (KPNI) dihitung menggunakan rumus:

$$\text{KPNI (\%)} = \left(\frac{A_0 - (A_1 - A_2)}{A_0} \right) \times 100\%$$

Keterangan: A_0 = Absorbansi $C_5FeN_6Na_2O$, A_1 = Absorbansi $C_5FeN_6Na_2O$ dan ekstrak, A_2 = Absorbansi ekstrak

Analisis statistik

Semua data eksperimen dilakukan tiga kali ulangan dan hasilnya dinyatakan sebagai rata-rata \pm

SD. Analisis ragam dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) menggunakan *software* SPSS versi 25.

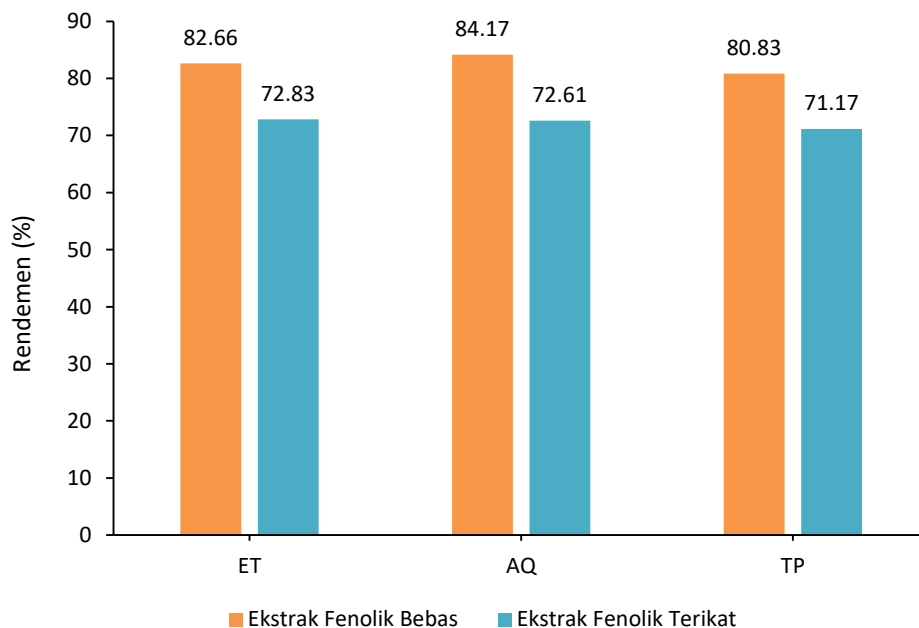
HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen ekstraksi cangkang pala

Proses pengeringan bertujuan untuk mengurangi kandungan air dalam sampel, sehingga tidak dapat ditumbuhi jamur. Setelah itu, cangkang pala dihancurkan menggunakan blender kemudian dimiling dengan alat miling hingga menjadi serbuk cangkang pala dan di mikronisasi, selanjutnya diekstraksi menggunakan sonikasi. Tujuan metode ekstraksi Sonikasi yang memanfaatkan gelombang ultrasonik menyebabkan proses pemindahan senyawa bioaktif dari dalam sel tanaman ke pelarut menjadi lebih cepat. Berdasarkan penelitian ini nilai rendemen serbuk cangkang pala yang diekstraksi menggunakan pelarut etanol dan aquades adalah 93.61% dan 77.35%. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut etanol mampu mengekstrak atau menarik lebih banyak komponen dari serbuk cangkang pala yang diekstraksi dibandingkan aquades.

Rendemen pengolahan tepung cangkang pala

Proses ekstraksi tepung cangkang pala yang diekstraksi dengan etanol 100% (ET), tepung cangkang pala yang diekstraksi dengan aquades (AQ), tepung cangkang pala tanpa perlakuan (TP) dengan pelarut etanol digunakan untuk mendapatkan ekstrak fenolik bebas sedangkan residu hasil ekstraksi fenolik bebas dihidrolisis dengan asam dan basa untuk mendapatkan ekstrak fenolik terikat. Hasil rendemen dari kedua metode ekstraksi tersebut dari ET, AQ dan TP ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Rendemen ekstraksi masing-masing ekstrak ET (tepung cangkang pala yang diekstraksi dengan etanol 100%); AQ (tepung cangkang pala yang diekstraksi dengan aquades); TP (tepung cangkang pala tanpa perlakuan)

Berdasarkan Gambar 1, dapat diketahui bahwa AQ memiliki persentase rendemen tertinggi di bandingkan ET dan TP pada ekstrak fenolik bebas dibandingkan dengan ekstrak fenolik terikat. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh perbedaan penggunaan pelarut dan metode ekstraksi pada sampel, sehingga waktu diekstraksi dengan masing-masing pelarut dan metode sonikasi dengan bantuan gelombang ultrasonik menyebabkan proses pemindahan senyawa bioaktif dari dalam sel tanaman ke pelarut menjadi lebih cepat. Semakin rendah nilai rendemen yang didapatkan dari hasil ekstraksi semakin rendah pula kandungan total fenolik dan semakin besar rendemen semakin banyak senyawa bioaktif yang terekstrak. Metode ekstraksi sonikasi memiliki efek sangat kuat yang menyebabkan pecahnya molekul larutan, karena metode ini menggunakan bantuan gelombang ultrasonik. Zhang dkk. (2009) menyatakan bahwa ekstraksi dengan metode sonikasi menghasilkan rendemen yang lebih besar dengan waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan metode

ekstraksi konvensional.

Kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi

Uji kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin pada penelitian ini untuk mengetahui adanya kandungan senyawa fenolik, flavonoid dan tanin dalam ekstrak cangkang pala pada sampel ET, AQ dan TP. Senyawa fenolik berpotensi sebagai antioksidan karena keberadaan gugus hidroksil dalam senyawa fenol. Gugus hidroksil berfungsi sebagai penyumbang atom hidrogen ketika bereaksi dengan senyawa radikal melalui mekanisme transfer elektron sehingga proses oksidasi dapat dihambat. Oleh karena itu, kandungan total fenolik untuk mengetahui jumlah senyawa fenolik dalam ekstrak cangkang pala yang memiliki aktivitas antioksidan. Hasil analisis kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin dari ekstrak ET, AQ dan TP ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin ekstrak fenolik bebas dan terikat dari ekstrak cangkang pala. Singkatan seperti pada Gambar 1.

Sampel	Ekstrak	Kandungan Total fenolik ($\mu\text{g/mL}$)	Kandungan Total flavonoid ($\mu\text{g/mL}$)	Kandungan Total tanin ($\mu\text{g/mL}$)
ET	Fenolik bebas	$290,82 \pm 0,46^b$	$9,83 \pm 0,20^b$	$46,69 \pm 0,39^b$
	Fenolik terikat	$85,16 \pm 1,51^a$	$0,64 \pm 0,18^a$	$11,02 \pm 0,39^a$
AQ	Fenolik bebas	$289,43 \pm 0,35^f$	$7,11 \pm 0,28^f$	$36,47 \pm 0,55^f$
	Fenolik terikat	$34,67 \pm 0,58^c$	$0,51 \pm 0,05^e$	$7,30 \pm 0,31^e$
TP	Fenolik bebas	$191,23 \pm 0,35^d$	$9,20 \pm 0,08^d$	$41,19 \pm 0,47^d$
	Fenolik terikat	$46,23 \pm 1,39^c$	$0,76 \pm 0,05^c$	$7,47 \pm 0,39^c$

Berdasarkan Tabel 1, dari ketiga sampel pada ekstrak fenolik bebas dan ekstrak fenolik terikat, semuanya memiliki kandungan fenolik, flavonoid dan tanin. Dari hasil serbuk cangkang pala ini memiliki kandungan komponen bioaktif. Dari data diatas yang menunjukkan bahwa kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin pada sampel ET, AQ dan TP dari ekstrak fenolik bebas dan ekstrak fenolik terikat terlihat sangat berbeda.

Dari data diatas yang menunjukkan bahwa kandungan total fenolik tertinggi pada ekstrak fenolik bebas terdapat pada sampel ET sebesar $290,82 \mu\text{g/mL}$, diikuti dengan AQ sebesar $289,43 \mu\text{g/mL}$, serta yang terendah terdapat pada TP sebesar $191,23 \mu\text{g/mL}$, dan kandungan total fenolik tertinggi pada ekstrak fenolik terikat terdapat pada sampel ET sebesar $85,16 \mu\text{g/mL}$ diikuti dengan TP sebesar $46,23 \mu\text{g/mL}$, serta yang terendah terdapat pada AQ sebesar $34,67 \mu\text{g/mL}$. Tinggi rendahnya kandungan total fenolik dari ekstrak serbuk cangkang pala semakin tinggi kandungan total fenolik semakin tinggi juga aktivitas antioksidannya. Beberapa penelitian lain juga melaporkan bahwa ekstrak fenolik bebas di dalam kulit jeruk, daging buah pala, dan ampas sagu baruk lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak fenolik terikat (Dareda dkk., 2020; Nova dkk., 2020; Tao dkk., 2014).

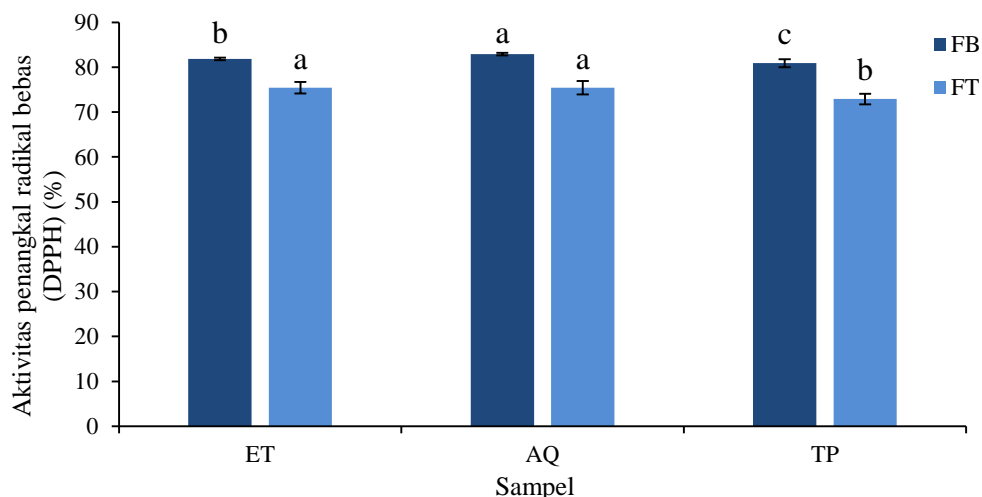
Tabel 1. kandungan total flavonoid tertinggi terdapat pada sampel ET sebesar $9,83 \mu\text{g/mL}$, diikuti dengan TP sebesar $9,20 \mu\text{g/mL}$, serta yang terendah terdapat pada AQ sebesar $7,11 \mu\text{g/mL}$, dan kandungan total fenolik tertinggi pada

ekstrak fenolik terikat terdapat pada sampel ET sebesar $0,64 \mu\text{g/mL}$ diikuti dengan TP sebesar $0,76 \mu\text{g/mL}$, serta yang terendah terdapat pada AQ sebesar $0,51 \mu\text{g/mL}$. Flavonoid termasuk senyawa dalam golongan fenolik, dimana pada flavonoid bersifat polar sehingga serbuk cangkang pala yang terlarut pada etanol lebih banyak.

Selain itu, kandungan total tanin tertinggi terdapat pada sampel ET sebesar $46,69 \mu\text{g/mL}$, diikuti dengan TP sebesar $41,19 \mu\text{g/mL}$, serta yang terendah terdapat pada AQ sebesar $36,47 \mu\text{g/mL}$, dan kandungan total fenolik tertinggi pada ekstrak fenolik terikat terdapat pada sampel ET sebesar $11,02 \mu\text{g/mL}$ diikuti dengan TP sebesar $7,47 \mu\text{g/mL}$, serta yang terendah terdapat pada AQ sebesar $7,30 \mu\text{g/mL}$. Tanin termasuk antioksidan alami dalam tumbuhan. Kandungan tanin di dalam serbuk cangkang pala berpengaruh terhadap aktivitas antioksidan. Pada Tabel 1 menunjukkan kandungan total tanin tertinggi terdapat pada sampel ET semakin kandungan tanin yang terdapat pada serbuk cangkang pala maka semakin besar juga aktivitas antioksidan.

Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Uji aktivitas antioksidan ekstrak cangkang pala dilakukan dengan metode penangkal radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Hasil pengujian kemampuan penangkal radikal bebas DPPH dari ekstrak ET, AQ dan TP konsentrasi $1000 \mu\text{g/mL}$ dapat ditunjukkan pada Gambar 2.



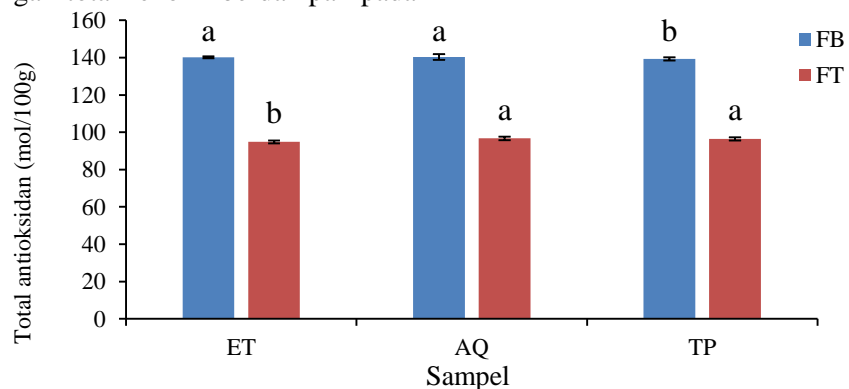
Gambar 2. Aktivitas penangkal radikal bebas ekstrak fenolik bebas dan terikat dari ekstrak cangkang pala. FB: ekstrak fenolik bebas, FT: ekstrak fenolik terikat. Singkatan seperti pada Gambar 1.

Hasil analisis penangkal radikal bebas metode DPPH dari Gambar 1 menunjukkan persentase penangkal radikal bebas pada ekstrak fenolik bebas pada sampel ET, AQ dan TP tinggi dibandingkan ekstrak fenolik terikat. Ekstrak fenolik bebas mempunyai aktivitas tinggi, mungkin disebabkan pada proses ekstraksi menggunakan metode sonikasi. Pada sampel ET dan AQ lebih banyak kandungan senyawa fenol di bandingkan TP. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa fenol pada ekstrak cangkang pala memiliki aktivitas sebagai senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Selain itu, Widyawati dkk., (2010) menyatakan bahwa perbedaan aktivitas antioksidan dapat disebabkan oleh beberapa faktor seperti perbedaan kemampuan dalam menstansfer atom hidrogen ke radikal bebas, struktur kimia senyawa antioksidan, dan pH campuran reaksi. Diduga tingginya kandungan total fenolik berdampak pada

aktivitas penangkal radikal bebas yang tinggi pula. Hal ini sesuai dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa adanya hubungan antara kandungan total fenolik dengan kapasitas antioksidan (Momuat dkk., 2015; Momuat & Suryanto, 2017; Padmawati, 2020).

Total antioksidan

Metode ini menentukan aktivitas antioksidan dari suatu sampel berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi ion Fe^{2+} dalam suasana asam ditandai dengan terbentuknya kompleks berwarna hijau (Mangkasa dkk., 2018). Hasil pengujian kemampuan penangkal radikal bebas FRAP dari ekstrak ET, AQ dan TP dapat ditunjukkan pada Gambar 3.



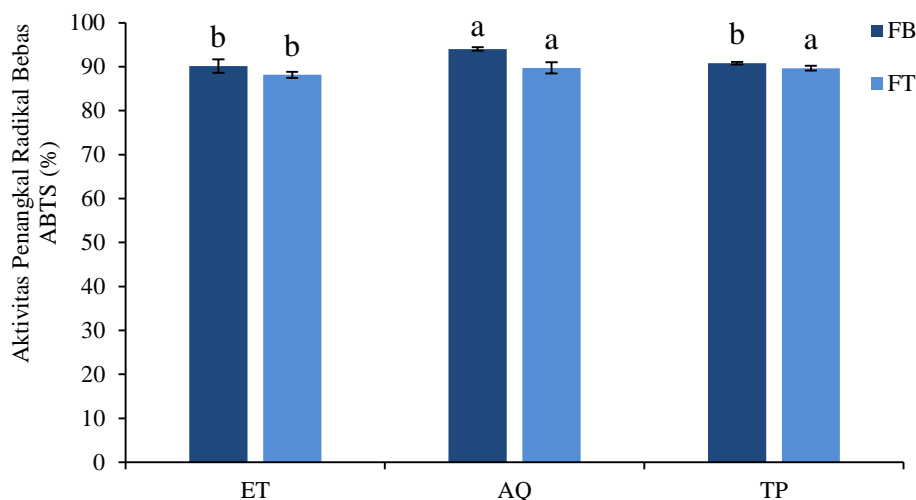
Gambar 3. Aktivitas penangkal radikal bebas ekstrak fenolik bebas dan terikat dari ekstrak cangkang pala. Singkatan seperti pada Gambar 1.

Berdasarkan gambar 3, menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan dari ekstrak cangkang pala memiliki nilai tertinggi terdapat pada ekstrak fenolik bebas pada sampel AQ di ikuti ET dan TP sedangkan nilai tertinggi pada ekstrak fenolik terikat terdapat pada sampel AQ diikuti TP dan ET. Dari hasil penelitian menunjukkan bahwa cangkang pala memiliki kemampuan untuk mereduksi dan kemampuan untuk mendonorkan elektronnya. Hasil dari metode ini sejalan dengan metode DPPH dan ABTS. Semakin besar aktivitas antioksidan

semakin besar pula senyawa fenolik yang terkandung didalamnya. Senyawa fenolik memiliki gugus hidroksi yang dapat dijadikan donor elektron.

Aktivitas penangkal radikal bebas (ABTS)

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode 2,2-azinobis-3-ethyl-benzothiazoline-6-sulphonic Acid (ABTS). Gambar 4 uji aktivitas antioksidan penangkal radikal bebas ABTS ekstrak ET, AQ dan TP konsentrasi 1000 µg/mL.



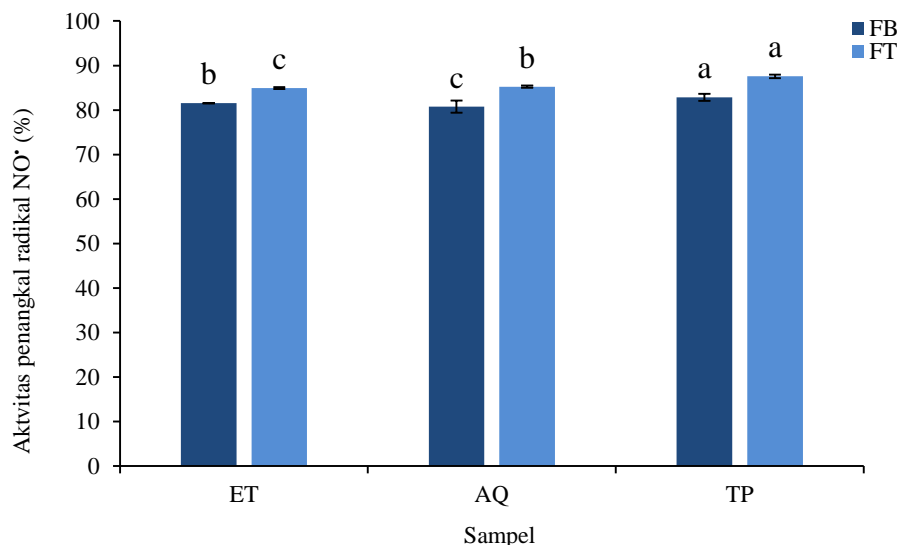
Gambar 4. Aktivitas penangkal radikal ABTS ekstrak fenolik bebas dan terikat dari cangkang pala. Singkatan seperti pada Gambar 1.

Hasil uji aktivitas antioksidan pada Gambar 4 menunjukkan bahwa AQ memiliki kemampuan dalam menghambat pembentukan radikal bebas ABTS yang ditandai dengan penurunan nilai absorbansi. Berdasarkan gambar 3 ekstrak sampel ET, AQ dan TP menunjukkan aktivitas penangkal radikal bebas yang terdiri dari ekstrak fenolik bebas dan ekstrak fenolik terikat. Tingginya nilai aktivitas penangkal radikal bebas ditunjukkan pada ekstrak fenolik bebas pada sampel AQ sebesar 94,04%, ekstrak fenolik terikat sebesar 89,75%, ekstrak fenolik bebas pada sampel TP sebesar 90,82%, ekstrak fenolik terikat sebesar 89,65%, ekstrak fenolik bebas pada sampel ET sebesar 90,14% dan ekstrak fenolik terikat sebesar 88,18%. Prinsip pengujian metode ABTS untuk

mengukur peredaman antioksidan terhadap radikal bebas. Hasil analisis metode ABTS berdasarkan hilangnya warna biru atau hijau akibat tereduksinya ABTS oleh antioksidan yang terdapat pada sampel yang ditandai dengan perubahan intensitas warna biru menjadi redup.

Kapasitas penangkal nitrit

Nitrit berikatan dengan amina sekunder dan membentuk senyawa nitrosamin di dalam usus manusia. Zat nitrosamin di dalam usus besar dapat memicu terjadinya penyakit degeneratif. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang dapat menghambat terbentuknya Senyawa nitrosamin. Gambar 4 menunjukkan kapasitas penangkal nitrit ekstrak ET, AQ dan TP.



Gambar 5. Aktivitas penangkal radikal NO[•] ekstrak fenolik bebas (FB) dan terikat (ET) dari cangkang pala. Singkatan seperti pada Gambar 1.

Berdasarkan hasil pada Gambar 5 menunjukkan bahwa ekstrak dari masing-masing sampel ET, AQ dan TP menunjukkan penangkal nitrit tertinggi terdapat pada ekstrak fenolik terikat di bandingkan fenolik bebas. Hal ini kemungkinan yang menyebabkan ekstrak fenolik bebas rendah di bandingkan ekstrak fenolik terikat karena adanya senyawa fenolik yang terdapat pada ekstrak dari masing-masing sampel yang bersifat prooksidan, prooksidan berinteraksi dengan radikal nitrit yang dapat mempercepat proses oksidasi (Karepu dkk., 2020). Beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa dari berbagai ekstrak tanaman kapasitas penangkal nitrit dengan kandungan senyawa fenolik mempunyai hubungan yang kuat (Nova dkk., 2020; Dareda dkk., 2020; Karepu dkk., 2020).

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa cangkang pala yang telah diekstraksi memiliki kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin terkondensasi. Hasil pengujian kandungan total fenolik, flavonoid dan tanin, menunjukkan ekstrak fenolik bebas lebih tinggi jika dibandingkan dengan ekstrak fenolik terikat. Hasil pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH, FRAP dan ABTS menunjukkan ekstrak fenolik bebas dan ekstrak fenolik terikat tertinggi terdapat pada tepung

cangkang pala yang diekstraksi dengan aquades (AQ) dibandingkan tepung cangkang pala tanpa perlakuan (TP) dan tepung cangkang pala yang diekstraksi dengan etanol 100% (ET). Hasil pengujian kapasitas penangkal nitrit menunjukkan ekstrak fenolik bebas dan ekstrak fenolik terikat tertinggi terdapat pada tepung cangkang pala tanpa perlakuan (TP) dibandingkan tepung cangkang pala yang diekstraksi dengan etanol 100% (ET) dan tepung cangkang pala yang diekstraksi dengan aquades (AQ).

DAFTAR PUSTAKA

- Burda, S. & Oleszek, W. 2001. Antioxidant and Antiradical Activities of Flavonoids. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 49(3), 2774-2779.
- Chesson, A. 1978. The Maceration of Linen Flax under Anaerobic Conditions. *Journal of Applied Bacteriology*. 45(2), 219-230.
- Dareda, C.T., Suryanto, E. & Momuat, L.I. 2020. Karakterisasi dan Aktivitas Antioksidan Serat Pangan Dari Daging Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt). *Chemistry Progress*. 13(1), 48-55.
- Gulsunoglu, Z., Guler, F. G., Raes, K. & Akyilmaz, M. K. 2019. Soluble and Insoluble-Bound Phenolics and Antioxidant Activity of Various Industrial Plant Wastes.

- Internation Journal of Food Properties*. 22, 1501-1510.
- Jeong, S. M., Kim, S. Y., Kim, D. R., Jo, S. C., Nam, K. C., Ahn, D. U. & Lee, S. C. 2004. Effect of Heat Treatment on the Antioxidant Activity of Extracts From Citrus Peels. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(1), 3389-3393.
- Julkenen-Titto, R. 1985. Phenolic Constituents in Leaves of Northern Willows: Methods for the Analysis of Certain Phenolic. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 33(2), 213-217.
- Karepu, M.G., Suryanto, E. & Momuat, L.I. 2020. Komposisi Kimia dan Aktivitas Antioksidan Dari Paring Kelapa (*Cocos nucifera*). *Chemistry Progress*. 13(1), 39-47.
- Mangkasa, M.Y., Rorong, J.A., & Wuntu, A.D. 2018. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antioksidan dari Ekstrak Daun Bawang Kucai (*Allium tuberosum* Rottl. Ex Spreng) Menggunakan Spektrofotometer UV-VIS. *Chemistry Progress*. 7(4), 12-22.
- Momuat, L.I., Suryanto, E., Rantung, O., Korua, A. & Datu, H. 2015. Perbandingan Senyawa Fenolik dan Aktivitas Antioksidan Antara Sagu Baruk Segar dan Kering. *Chemistry Progress*. 8(1), 17-24.
- Nova, Suryanto, E. & Momuat, L.I. 2020. Karakterisasi Fisikokimia dan Aktivitas Antioksidan Serat Pangan Dari Ampas Empulur Sagu Baruk (*Arenga Microcarpha* B.). *Chemistry Progress*. 13(2), 22-30.
- Padmawati, I.A.G., Suter, I.K. & Arihantana, N.M.I.H. 2020. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Eceng Padi (*Monochoria vaginalis* Burm F.C.Presel.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan*. 9(1), 81-87.
- Salindeho, N., Mamujaja, C. & Pandey, E. 2018. Potential of Liquid Smoke Product of Pyrolysis of Nutmeg Shell as Smoking Raw Material. *International Journal of ChemTech Research*. 11(66), 239-245.
- Su, D., Zhang, R., Hou, F., Zhang, M., Guo, J., Huang, F., Deng, Y. & Wei, Z. 2014. Comparison of the Free and Bound Phenolic Profiles and Cellular Antioxidant Activities of Litchi Pulp Extracts from Different Solvents. *Biomedcentral Complementary & Alternative Medicine*. 14, 1-10.
- Suryanto, E. & Momuat, L.I. 2017. Isolasi dan Aktivitas Antioksidan Fraksi dari Ekstrak Tongkol Jagung (*Zea mays*). *AGRITECH*. 37(2), 139-147.
- Suryanto, E. 2018. *Kimia Antioksidan*. CV. Patra Media Gravindo, Bandung.
- Tao, B., Ye, F., Li, H., Hu, Q., Xue, S. & Zhao, G. 2014. Phenolic Profile and In Vitro Antioxidant Capacity of Insoluble Dietary Fiber Powders from Citrus (*Citrus junos* Sieb. ex Tanaka) Pomace as Affected by Ultrafine Grinding. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62(29), 7166-7173.
- Tempomona, Y., Rorong, J.A., & Wuntu, A.D. 2015. Fotoreduksi Besi Fe³⁺ Menggunakan Ekstrak Limbah Daun, Kulit, dan Cangkang Biji Pala (*Myristica fragrans*). *Jurnal MIPA UNSRAT*. 4(1), 46-50.
- Widyawati, P.S., Wijaya, C.H., Harjosworo, P.S. & Sajuthi, D. 2010. Pengaruh Ekstraksi dan Fraksinasi Terhadap Kemampuan Menangkap Radikal Bebas DPPH (1,1-difenil-2- Pikrilhidrazil) Ekstrak dan Fraksi Daun Beluntas (*Pluchea indica* Less). *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*. Universitas Diponegoro, Semarang.
- Zhang, L., Xu, H. & Li, S. 2009. Effects of Micronization on Properties of Chaenomeles Sinensis (Thouin) Koehne Fruit Powder. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10(4), 633-637.