

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN ANTIKOLESTEROL DARI OLEORESIN CANGKANG BIJI PALA

Marsel Refanli Karisoh¹, Edi Suryanto¹, Harry S.J. Koleangan¹

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

*Email: marselkarisoh20@gmail.com

ABSTRAK

Hiperkolesterolemia adalah keadaan ketika kadar kolesterol di dalam darah melebihi batas normal. Meningkatnya kadar kolesterol dalam tubuh jika dibiarkan, akan menjadi pemicu penimbunan lemak pada pembuluh darah. Kondisi ini akan menyebabkan meningkatnya resiko serangan jantung dan stroke. Tujuan penelitian ini yaitu mendapatkan oleoresin yang mengandung fitokimia antioksidan menggunakan metode Soxhletasi dan menganalisis kemampuan oleoresin dalam menurunkan kadar kolesterol. Metodologi penelitian meliputi preparasi sampel, ekstraksi oleoresin, penentuan fitokimia antioksidan (total fenolik, total flavonoid, dan total tanin terkondensasi), serta kemampuan penurunan kadar kolesterol. Rendemen oleoresin yang dihasilkan dengan nilai paling tinggi adalah oleoresin yang larut etil asetat (OEA) 100 mesh sebesar 2,21%. Sedangkan rendemen yang paling rendah adalah oleoresin yang larut n-heksana (OH) 50 mesh sebesar 0,33%. Oleoresin yang larut etanol (OE) 50 mesh memiliki kandungan fenolik (150,57 µg/mL), flavonoid (49,22 µg/mL), dan tanin terkondensasi (5,04 µg/mL) dengan nilai tertinggi. Kemampuan dalam menurunkan kadar kolesterol dengan persentase yang paling tinggi yaitu sampel OH jika dibandingkan dengan OEA dan OE. Hal ini diduga bahwa dalam OH terdapat senyawa yang bukan golongan fenolik yang bertindak sebagai antikolesterol.

Kata kunci: Cangkang Biji Pala, Oleoresin, Antikolesterol, Antioksidan

ABSTRACT

Hypercholesterolemia is a condition when cholesterol levels in the blood exceed normal limits. Increasing cholesterol levels in the body if left unchecked, will trigger the accumulation of fat in blood vessels. This condition will cause an increased risk of heart attack and stroke. The purpose of this study was to obtain oleoresins containing antioxidant phytochemicals using the Soxhletasi method and analyze the ability of oleoresins to lower cholesterol levels. The research methodology includes sample preparation, oleoresin extraction, determination of antioxidant phytochemicals (total phenolics, total flavonoids, and total condensed tannins), and the ability to reduce cholesterol levels. The yield of oleoresin produced with the highest value is oleoresin soluble ethyl acetate (OEA) 100 mesh of 2.21%. While the lowest yield is oleoresin soluble n-hexane (OH) 50 mesh by 0.33%. Ethanol-soluble oleoresin (OE) 50 mesh has the highest value of phenolic (150.57 µg/mL), flavonoids (49.22 µg/mL), and condensed tannins (5.04 µg/mL). The ability to reduce cholesterol levels with the highest percentage is OH samples when compared to OEA and OE. It is suspected that in OH there are compounds that are not phenolic groups that act as anticholesterol.

Key words: Nutmeg Shell, Oleoresin, Anticholesterol, Antioxidant

PENDAHULUAN

Kolesterol tinggi atau hiperkolesterolemia merupakan kondisi ketika kadar kolesterol di dalam darah melebihi batas normal. Kolesterol adalah lemak seperti lilin yang diproduksi oleh hati. Meningkatnya kadar kolesterol dalam tubuh jika dibiarkan, akan menjadi pemicu penimbunan lemak pada pembuluh darah. Pada akhirnya akan menyumbat pembuluh darah yang akan menyulitkan aliran darah ke jantung. Kondisi ini akan menyebabkan jantung kekurangan oksigen yang meningkatkan resiko serangan jantung dan stroke.

Saat ini, agen penurun kolesterol biasanya menggunakan obat golongan statin, seperti *atorvastatin* dan *simvastatin* atau obat pengikat asam empedu seperti *cholestyramine* atau *colesevelam*. Obat-obatan tersebut merupakan obat sintesis. Karena adanya efek samping yang toksik yang menyebabkan berkurangnya respon setelah penggunaan jangka panjang (Bhutkar & Bhise, 2011; Deng, 2012). Pada beberapa tahun terakhir, telah terjadi kebangkitan minat secara bertahap dalam penggunaan tanaman obat di negara berkembang karena obat-obatan herbal telah dilaporkan aman dan memiliki efek samping yang relatif kurang merugikan terutama bila

dibandingkan dengan obat sintetis (Bhinge dkk., 2017).

Kawasan hutan Indonesia memiliki potensi tumbuhan obat dikarenakan tingginya tingkat keanekaragaman hayati terutama pada hutan tropis yang belum teridentifikasi sepenuhnya. Menurut Herdiani (2012) terdapat sekitar 9600 spesies tumbuhan yang diketahui mempunyai khasiat sebagai obat, namun hanya sekitar 200 spesies yang dimanfaatkan sebagai bahan baku untuk industri obat tradisional. Salah satunya yaitu tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt).

Tanaman pala merupakan salah satu tanaman multifungsi yang dapat dimanfaatkan sebagai pangan maupun obat. Menurut Direktorat Jenderal Perkebunan (2019), produksi tanaman pala di Sulawesi Utara tahun 2019 mencapai 11.607 ton, dengan persentase buah pala yang dihasilkan yaitu daging buah 83,3%, fuli 3,22%, tempurung biji 3,94%, daging biji 9,54%. Persentase yang hampir 4% dari cangkang biji pala sehingga limbah yang dihasilkan setiap tahunnya sekitar 0,46 ton per tahun.

Buah pala mengandung sebagian besar senyawa kimia yang menunjukkan sifat antibakteri dan antioksidan (Calliste dkk., 2010). Hal ini dapat dikaitkan dengan adanya senyawa bioaktif seperti alkaloid, vitamin, terpenoid, karotenoid, asam fenolat, fenol sederhana, lignin, dan flavonoid (Chatterjee dkk., 2007).

Beberapa sumber melaporkan berbagai macam aktivitas biologis dari tanaman pala diantaranya hipoglikemik, hepatoprotektif, sitotoksik, antiinflamasi, antioksidan, antitrombotik, antiaterosklerotik, dan antidiabetik (Moteki dkk., 2002; Morita dkk., 2003; Dorman dkk. 2000).

Oleoresin merupakan salah satu produk olahan yang dihasilkan dari tanaman pala. Oleoresin adalah hasil olahan tanaman rempah yang berbentuk cairan kental dan didapatkan melalui ekstraksi dari biji pala atau fuli pala dengan pelarut organik seperti etanol, metanol, aseton, atau heksan (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2007). Oleoresin terdiri atas campuran minyak atsiri yang berkontribusi atas aroma yang mudah menguap dan resin serta senyawa lain yang bersifat tidak volatil (Rodianawati dkk, 2015). Keunggulan dari penggunaan oleoresin dalam industri makanan dan minuman antara lain memiliki flavor dan aroma yang dapat distandarisasi, lebih higienis, steril dari bakteri dan jamur, bervolume kecil, serta bebas

dari enzim (Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, 2007).

Metode ekstraksi sokletasi merupakan suatu metode pemisahan zat dari campurannya dengan pemanasan, pelarut yang digunakan akan mengalami sirkulasi, dibandingkan dengan cara maserasi, ekstraksi sokletasi memberikan hasil ekstrak yang lebih tinggi (Sri & Yenti, 2014). Adanya berbagai aktivitas biologis dari tanaman pala membuat tanaman pala dapat dimanfaatkan sebagai terapi untuk menurunkan kadar kolesterol dalam darah. Berdasarkan latar belakang inilah, maka tujuan penelitian ini adalah untuk mengevaluasi potensi oleoresin cangkang biji pala sebagai agen untuk penurunan kadar kolesterol yang disokletasi dengan pelarut n-heksana, etil asetat dan etanol.

BAHAN DAN METODE

Bahan yang digunakan yaitu cangkang biji pala (*Myristica fragrans* Houtt.) yang diperoleh dari Tahuna, Kabupaten Kepulauan Sangihe, Sulawesi Utara. Bahan-bahan kimia yang digunakan yaitu aluminium klorida, etanol, etil asetat, natrium karbonat, n-heksana, reagen Folin Ciocalteu, vanillin, asam klorida, asam asetat dan asam sulfat yang diperoleh dari Merck (Darmstadt, Germany) sedangkan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), 2,2-azinobis 3-ethyl benzothiazoline 6-sulfonic acid (ABTS) dan kolesterol diperoleh dari Sigma Aldrich.

Preparasi sampel

Cangkang biji pala yang telah diperoleh, dicuci bersih, dikeringkan dalam oven dan dihancurkan kecil-kecil. Selanjutnya diblender untuk mendapatkan ukuran yang lebih kecil. Hasil yang didapatkan digiling menggunakan alat *milling* Formac tipe FCT-Z200 selama 2 menit. Serbuk yang telah diperoleh, lalu diayak menggunakan ayakan dengan ukuran 50 mesh dan 100 mesh.

Ekstraksi oleoresin cangkang biji pala

Proses ekstraksi oleoresin dilakukan dengan cara sokletasi. Sebanyak 50 g serbuk (50 mesh dan 100 mesh) cangkang biji pala yang dibungkus dengan kertas saring dan dimasukkan ke dalam labu Soxhlet untuk disokletasi. Ditambahkan sebanyak 250 mL pelarut n-heksan. Filtrat yang diperoleh selanjutnya dievaporasi menggunakan *rotary vacuum evaporator* untuk memisahkan oleoresin dengan pelarut sehingga

diperoleh oleoresin yang larut n-heksan (OH). Cara yang sama dilakukan menggunakan pelarut etil asetat, dan etanol sehingga diperoleh oleoresin yang larut dalam etil asetat (OEA) dan etanol (OE).

Penentuan kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik oleoresin dari cangkang biji pala ditentukan menggunakan metode Folin-Ciocalteu (Sineke dkk., 2016). Sebanyak 0,1 mL ekstrak oleoresin dengan konsentrasi 200 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,1 mL reagen Folin Ciocalteu. Campuran tersebut divortex, lalu ditambahkan 2 mL larutan natrium karbonat. Selanjutnya campuran diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Absorbansinya dibaca menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 750 nm.

Penentuan kandungan total flavonoid

Kandungan total flavonoid ekstrak daging buah pala ditentukan menurut metode Engka dkk. (2017). Sebanyak 1 mL larutan oleoresin cangkang biji pala dengan konsentrasi 200 µg/mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Selanjutnya ditambahkan 2 mL AlCl₃. Campuran divortex selama 1 menit dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruang gelap. Setelah 30 menit absorbansinya dibaca pada panjang gelombang 415 nm.

Penentuan kandungan total tanin terkondensasi

Kandungan tanin terkondensasi ditentukan menurut metode Suoth dkk. (2013), dengan sedikit modifikasi. Dipipet sebanyak 0,1 mL sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah dibungkus dengan aluminium foil, lalu ditambahkan 3 mL larutan vanilin 4% dan divortex. Setelah larutan tercampur, ditambahkan 1,5 mL HCl pekat dan divortex lagi. Selanjutnya diinkubasi selama 20 menit dalam ruang gelap. Absorbansi dibaca pada λ 500 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Penentuan aktivitas penangkal radikal bebas DPPH ditentukan dengan metode Burda & Oleszeck (2001). Sebanyak 0,5 mL masing-masing oleoresin dari cangkang biji pala (200 µg/mL) ditambahkan dengan 2 mL larutan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dan divortex

selama 2 menit. Berubahnya warna larutan dari ungu kekuning 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 radikal bebas DPPH yang ditandai dengan perubahan warna dengan menggunakan persamaan:

$$APRB (\%) = 1 - \left(\frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100\% \dots\dots\dots (1)$$

Penentuan aktivitas penangkal radikal kation ABTS

Penentuan aktivitas penangkal radikal kation ABTS ditentukan dengan metode Re dkk. (1999). Sebanyak 0,1 mL (200 µg/mL) masing-masing oleoresin dari cangkang biji pala 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. Aktivitas penangkal radikal kation (APRK) dihitung sebagai persentase berkurangnya radikal kation ABTS yang ditandai dengan perubahan warna dengan menggunakan persamaan:

$$APRK (\%) = 1 - \left(\frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100\% \dots\dots\dots (2)$$

Uji penurunan kadar kolesterol

Penurunan kadar kolesterol ditentukan menurut metode Hadiarti (2017) dengan sedikit modifikasi. Dipipet 1 mL (200 µg/mL) masing-masing sampel ke tabung reaksi. Ditambahkan 1 mL kolesterol murni (400 µg/mL). Divortex dan diinkubasi 10 menit. Diambil 0,5 mL campuran ditambahkan 1,5 mL FeCl₃ dan 1 mL H₂SO₄ pekat. Diinkubasi, ruang gelap, 45 menit dan dibaca absorbansi λ = 560 nm. Dengan cara yang sama dilakukan juga penentuan kadar kolesterol pada kuning telur (5000 µg/mL). Persen penurunan kolesterol (PK) dihitung dengan rumus:

$$PK (\%) = 1 - \left(\frac{A_{\text{sampel}}}{A_{\text{kontrol}}} \right) \times 100\% \dots\dots (3)$$

Analisis data

Semua eksperimen dilakukan dengan tiga kali ulangan dan hasilnya dinyatakan sebagai rata-rata ± SD. Analisis ragam dilanjutkan dengan uji *Duncan's Multiple Range Test* (DMRT) menggunakan software SPSS versi 26.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Rendemen

Cangkang biji pala dikeringkan dalam oven untuk mengurangi kadar air yang terkandung didalamnya. Metode ekstraksi yang digunakan adalah sokletasi karena metode ini mampu memberikan rendemen yang lebih besar dibandingkan metode maserasi (Puspitasari & Prayogo, 2017). Rendemen oleoresin yang dihasilkan masing-masing sampel disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen oleoresin cangkang biji pala

Sampel (Mesh)	Rendemen (%)		
	OH	OEA	OE
50	0,33±0,03 ^e	0,95±0,11 ^c	1,08±0,09 ^c
100	0,55±0,05 ^d	2,21±0,06 ^a	1,88±0,11 ^b

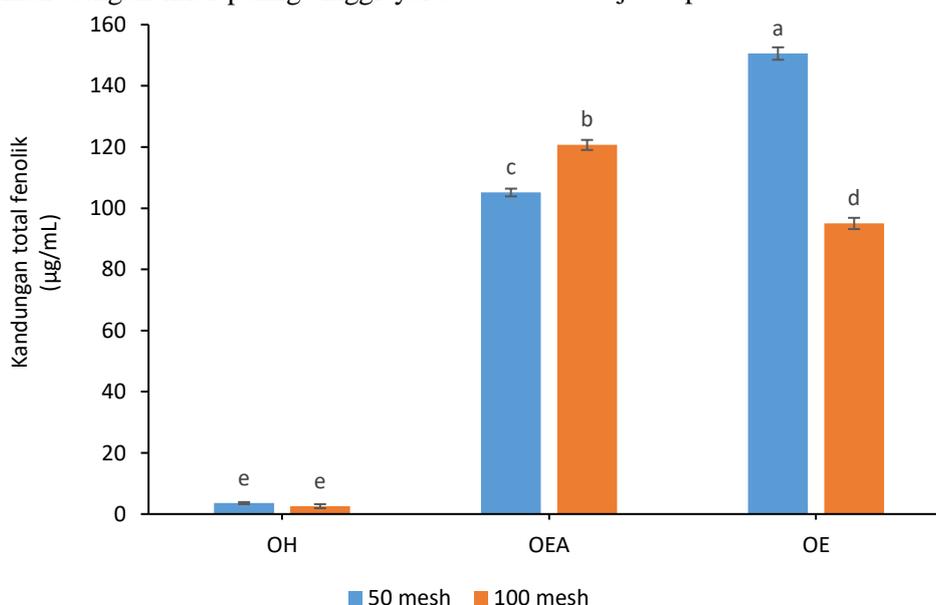
Keterangan: oleoresin yang larut n-heksana (OH), oleoresin yang larut etil asetat (OEA) dan oleoresin yang larut etanol (OE). Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Rendemen dihitung untuk mengetahui kadar metabolit sekunder yang terekstraksi dengan pelarut. Berdasarkan Tabel 1 rendemen oleoresin yang dihasilkan dengan nilai paling tinggi yaitu

sampel OEA 100 mesh sebesar 2,21%. Sementara itu, rendemen yang paling rendah adalah sampel OH 50 mesh sebesar 0,33%. Beberapa faktor yang mungkin mempengaruhi hal tersebut yaitu kelarutan dan ukuran partikel. Berdasarkan kelarutan, etil asetat mampu mengekstraksi oleoresin lebih banyak dapat dikaitkan dengan kandungan kimia dalam oleoresin. Berarti bahwa komponen utama dalam oleoresin cangkang biji pala memiliki polaritas yang sedang (semi polar). Selain itu, ukuran partikel juga mempengaruhi persentase rendemen yang dihasilkan. Hal ini menunjukkan bahwa semakin kecil ukuran partikel maka luas permukaan sampel yang berinteraksi dengan pelarut akan semakin besar. Sehingga, fitokimia yang terekstrak akan semakin banyak. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Oktavian dkk. (2020).

Kandungan total fenolik

Kandungan total fenolik ditentukan dengan prinsip metode Folin-Ciocalteu. Kandungan total fenolik ditentukan berdasarkan kemampuan senyawa fenolik dalam oleoresin cangkang biji pala untuk menghasilkan senyawa kompleks molibdenum-tungstat ketika bereaksi dengan fosfomolibdat-tungstat yang ada dalam reagen Folin-Ciocalteu. Semakin pekat warna yang dihasilkan mengindikasikan semakin besar kandungan total fenolik yang terdapat dalam sampel (Makanaung dkk., 2021). Kandungan total fenolik disajikan pada Gambar 1.



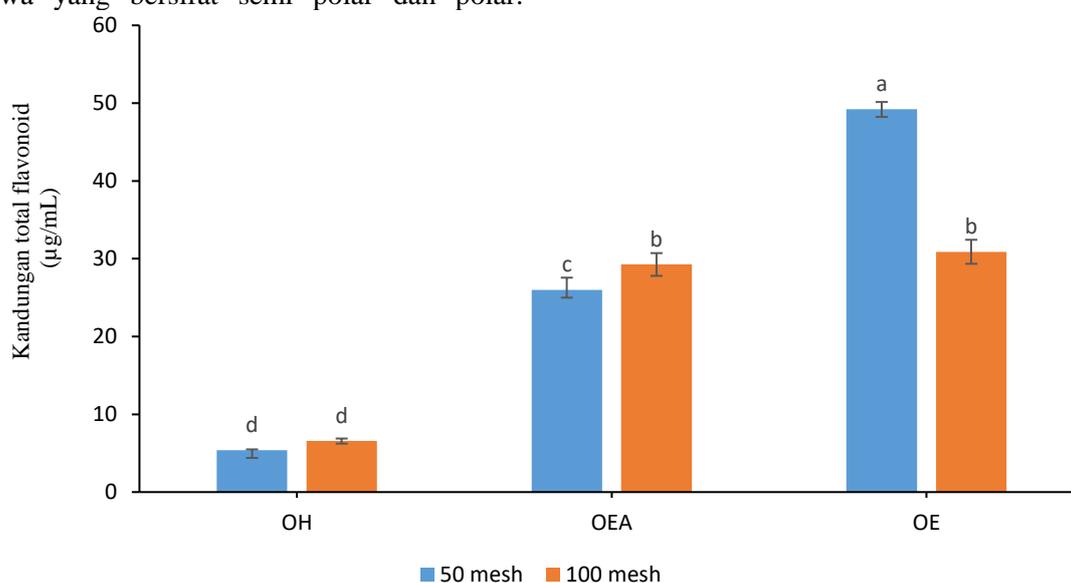
Gambar 1. Kandungan total fenolik dari ekstrak hesana dan ekstrak etil asetat. Singkatan sama seperti Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan Gambar 1, hasil oleoresin yang diekstraksi dengan tiga pelarut dengan variasi ukuran partikel mempunyai kandungan total fenolik yang paling tinggi yaitu pada OE 50 mesh sebesar 150,57 $\mu\text{g/mL}$. Kemudian diikuti OEA 100 mesh (120,68 $\mu\text{g/mL}$), OEA 50 mesh (105,12 $\mu\text{g/mL}$), dan OE 100 mesh (95,01 $\mu\text{g/mL}$). Sedangkan kandungan total fenolik terendah pada OH 50 mesh (3,57 $\mu\text{g/mL}$) dan OH 100 mesh (2,57 $\mu\text{g/mL}$), yang mana keduanya tidak memiliki perbedaan yang signifikan secara statistika. Kandungan total fenolik yang tinggi pada hasil ekstraksi pelarut etil asetat dan etanol menunjukkan bahwa senyawa fenolik merupakan senyawa yang bersifat semi polar dan polar.

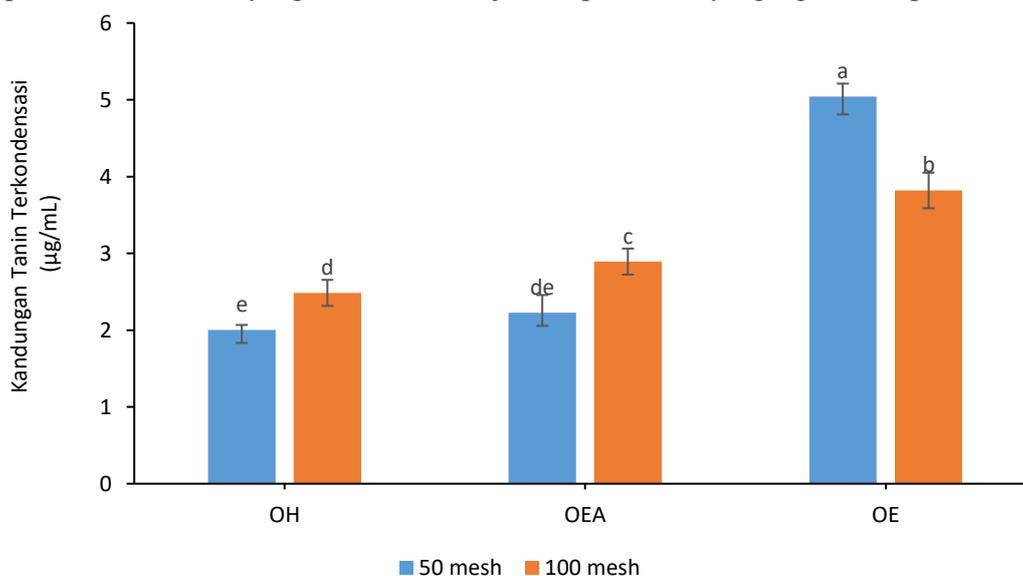
Namun, Lumbessy dkk. (2021) melaporkan bahwa ada juga senyawa fenol yang bersifat non polar seperti eugenol yang terdapat dalam oleoresin dari biji pala.

Kandungan total flavonoid

Kandungan total flavonoid ditentukan menggunakan prinsip metode AlCl_3 . Prinsip metode AlCl_3 didasarkan pada pembentukan pembentukan senyawa kompleks yang stabil dengan C-4 gugus keto, dan pada C-3 atau C-5 gugus hidroksil dari flavon dan flavonol (Chang dkk., 2002).



Gambar 2. Kandungan total flavonoid dari ekstrak hesana dan ekstrak etil asetat. Singkatan sama seperti Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).



Gambar 3. Kandungan total tanin terkondensasi dari ekstrak hesana dan ekstrak etil asetat. Singkatan sama seperti Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$).

Berdasarkan data yang disajikan pada Gambar 2, oleoresin yang diekstraksi dengan tiga pelarut yang digunakan memiliki kandungan total flavonoid yang paling tinggi yaitu pada OE 50 mesh (49,22 $\mu\text{g/mL}$). Kemudian diikuti OE 100 mesh (30,89 $\mu\text{g/mL}$) dan OEA 100 mesh (29,26 $\mu\text{g/mL}$) yang mana hasil keduanya tidak menunjukkan perbedaan secara statistika. Diikuti OEA 50 mesh (25,99 $\mu\text{g/mL}$). Sedangkan yang paling rendah adalah OH 100 mesh (6,56 $\mu\text{g/mL}$) dan OH 50 mesh (5,39 $\mu\text{g/mL}$) yang mana hasil keduanya tidak menunjukkan perbedaan secara statistika. Kandungan total flavonoid yang tinggi pada oleoresin hasil ekstraksi menggunakan pelarut etanol menunjukkan bahwa senyawa flavonoid merupakan senyawa yang bersifat polar. Kandungan total flavonoid pada oleoresin cangkang biji pala lebih besar jika dibandingkan dengan bagian lain, misalnya oleoresin dari fuli pala. Hal ini didukung dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Wijayanti dkk. (2018) melaporkan oleoresin fuli pala memiliki kandungan total flavonoid berkisar 0,06-0,13 $\mu\text{g/mL}$.

Kandungan total tanin terkondensasi

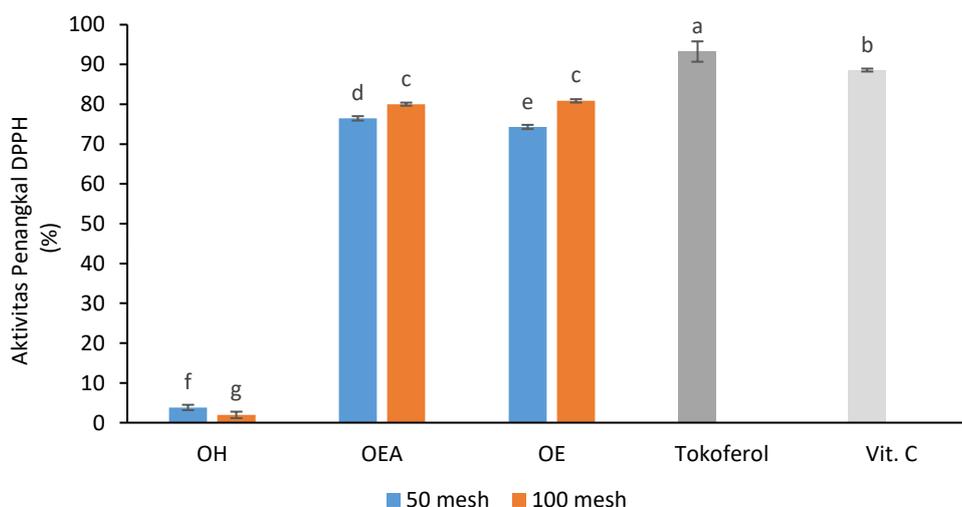
Hasil penentuan kandungan total tanin terkondensasi disajikan pada Gambar 3. Kandungan tanin terkondensasi ditentukan menggunakan metode uji vanillin HCl. Prinsip uji vanillin-HCl dalam penentuan kandungan tanin terkondensasi yaitu vanillin terprotonasi dalam asam, membentuk karbokation dan bereaksi dengan flavonoid. Senyawa antara yang dihasilkan

dari pengujian ini mengalami reaksi dehidrasi dan menghasilkan senyawa berwarna ungu atau merah (Salunkhe dkk., 1990).

Penentuan kandungan tanin terkondensasi diukur dengan menggunakan kurva standar katekin ($\mu\text{g/mL}$). Kandungan tanin terkondensasi tertinggi terdapat pada OE 50 mesh (5,04 $\mu\text{g/mL}$), diikuti oleh OE 100 mesh (3,82 $\mu\text{g/mL}$) dan OEA 100 mesh (2,89 $\mu\text{g/mL}$). Setelah itu diikuti oleh OH 100 mesh (2,49 $\mu\text{g/mL}$) dan OEA 50 mesh (2,23 $\mu\text{g/mL}$), yang secara statistika hasilnya tidak menunjukkan perbedaan. Sementara itu, untuk kandungan total tanin terkondensasi yang terendah yaitu pada sampel OH 50 mesh (2,00 $\mu\text{g/mL}$). Oleoresin yang diekstraksi dengan pelarut etanol memiliki kandungan total tanin terkondensasi yang tinggi jika dibandingkan dengan pelarut lainnya diduga karena tanin memiliki gugus nonpolar dan polar yang seperti dengan etanol. Hal ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan oleh Hibrah dkk. (2022) yang melaporkan bahwa pelarut etanol 65% menghasilkan tanin sebesar 3,75%.

Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH

Aktivitas penangkal radikal bebas ditentukan dengan menggunakan metode serapan radikal bebas 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Pengujian ini dilakukan dengan mereaksikan oleoresin cangkang biji pala dengan larutan DPPH. Hasil pengujian kemampuan penangkal radikal bebas DPPH dari oleoresin cangkang biji pala dengan konsentrasi 200 $\mu\text{g/mL}$ disajikan pada Gambar 4.



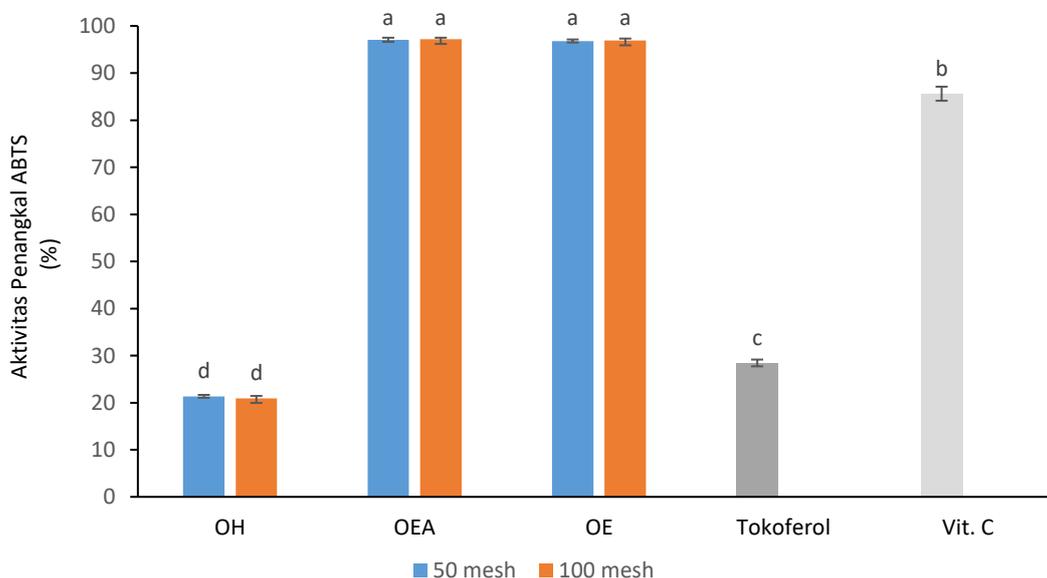
Gambar 4. Aktivitas penangkal radikal bebas DPPH dari ekstrak hesana dan ekstrak etil asetat. Singkatan sama seperti Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan hasil yang diperoleh, aktivitas penangkal radikal bebas tertinggi terdapat pada OE 100 mesh (80,86%) dan OEA 100 mesh (80,03%). Hal ini membuktikan bahwa fitokimia yang terlarut dengan etanol dan etil asetat merupakan senyawa aktif yang berfungsi sebagai antioksidan. Data aktivitas penangkal radikal bebas diduga adanya sinergitas antara kandungan total fenolik, kandungan total flavonoid dan kandungan total tanin dari oleoresin yang diekstrak dengan pelarut etanol dan etil asetat. Tokoferol dan vitamin C digunakan sebagai kontrol positif. Penggunaan tokoferol sebagai control positif dikarenakan semua senyawa tokoferol merupakan antioksidan alami yang kuat dengan aktivitas penangkal radikal lipoperoksil melalui donasi hidrogen dari gugus fenolik pada

cincin kromanol (Jiang, 2014; Nicod & Parker, 2013; Szewczvk dkk., 2021). Sementara itu, vitamin C merupakan antioksidan non-enzimatis yang bekerja dengan cara memutus rantai reaksi radikal bebas (Nimse & Pal, 2015).

Aktivitas penangkal radikal kation ABTS

Metode ABTS didasarkan pada kemampuan suatu senyawa untuk menstabilkan senyawa radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton (Fitriana dkk., 2015). Hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode ABTS dari ekstrak dan fraksi pelarut cangkang biji pala dengan konsentrasi 200 µg/mL disajikan pada Gambar 5.



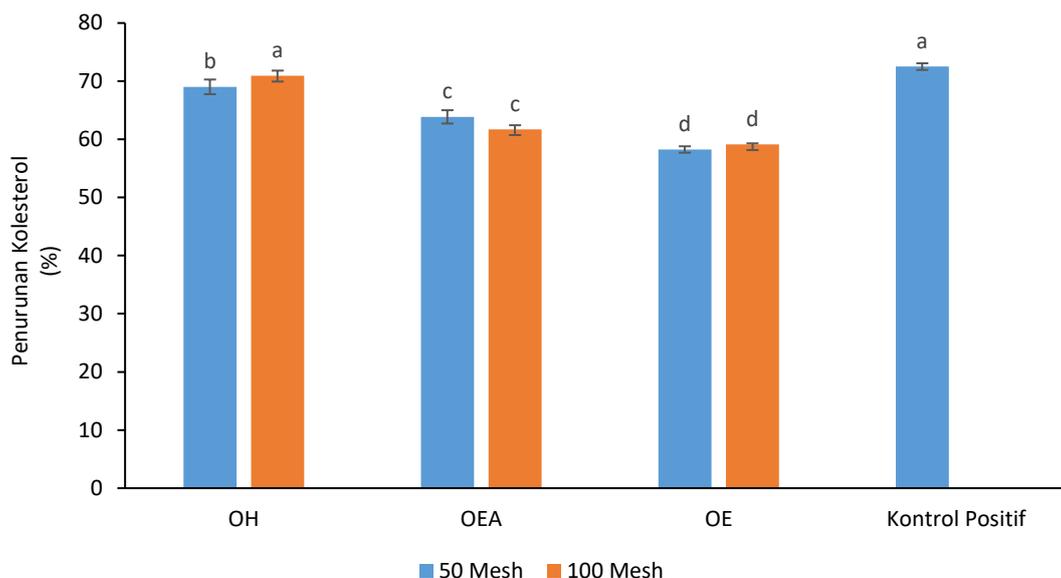
Gambar 5. Aktivitas penangkal radikal kation ABTS dari ekstrak hesana dan ekstrak etil asetat. Singkatan sama seperti pada Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Dari hasil pengujian pada Gambar 5 menunjukkan bahwa OEA (50 mesh 97,07% dan 100 mesh 97,19%) dan OE (50 mesh 96,82% dan 100 mesh 96,90%) memiliki aktivitas antioksidan paling tinggi, berdasarkan statistika keempat sampel tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Sedangkan OH (50 mesh 21,35% dan 100 mesh 20,95%) memiliki kemampuan antioksidan yang rendah. Hal ini menunjukkan bahwa fitokimia seperti senyawa fenolik dan flavonoid dalam sampel OEA dan OE memiliki kemampuan mendonorkan protonnya ke ABTS sangat baik. Hal ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Wairata dkk. (2022) melaporkan bahwa fitokimia seperti senyawa fenolik dan flavonoid memiliki aktivitas antioksidan terhadap

ABTS. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode ABTS berdasarkan kemampuan senyawa antioksidan untuk menstabilkan senyawa radikal bebas dengan mendonorkan radikal proton. Rendahnya persen aktivitas antioksidan ABTS dari tokoferol dikarenakan tokoferol merupakan senyawa non-polar sehingga interaksi antara tokoferol dengan ABTS kecil (Jiang, 2014).

Penurunan kadar kolesterol

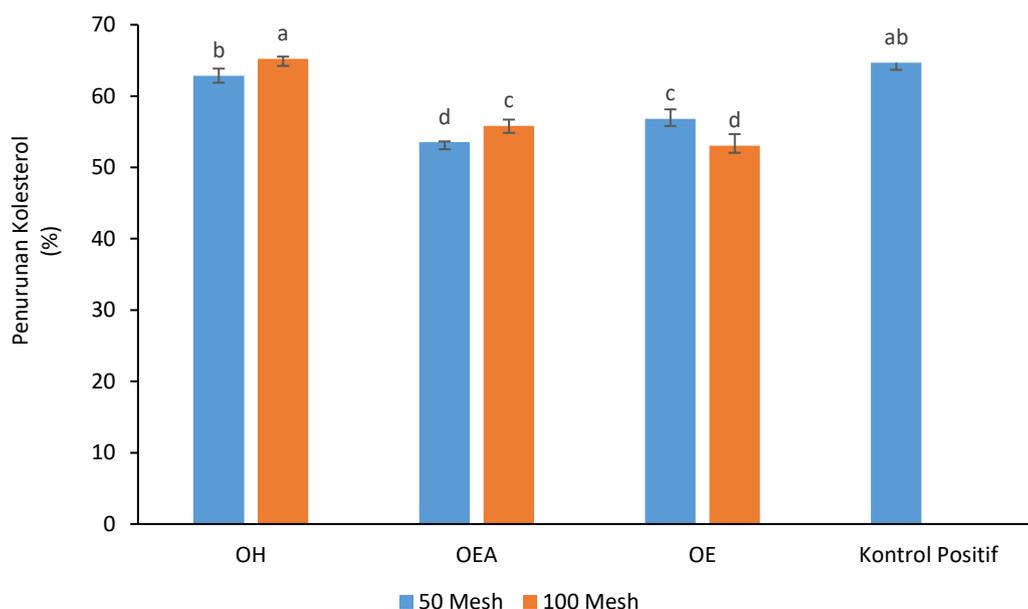
Persentase penurunan kadar kolesterol ditentukan dengan prinsip metode pembentukan kompleks kolesterol dengan $FeCl_3$. Hasil pengujian kemampuan dalam menurunkan kadar kolesterol dari oleoresin cangkang biji pala dengan konsentrasi 200 µg/mL disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Persentase penurunan kadar kolesterol murni. Singkata sama seperti Tabel 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Berdasarkan Gambar 6, kemampuan dalam menurunkan kadar kolesterol dengan persentase yang paling tinggi adalah sampel OH 100 mesh (70,93%) yang tidak memiliki perbedaan secara statistika dengan kontrol positif (72,50%). Diikuti oleh OH 50 mesh (69,02%) dan OEA (50 mesh 63,86% dan 100 mesh 61,73%). Sedangkan persentase yang paling rendah dalam menurunkan kadar kolesterol adalah OE 100 mesh (59,15%) dan OE 50 mesh (58,25%). Hal ini tidak sejalan dengan penentuan kandungan total fenolik,

flavonoid, tanin terkonedensasi dan aktivitas antioksidan. Hal ini mungkin dikarenakan bedanya polaritas dengan kolesterol sehingga fitokimia pada sampel OE tidak bisa berinteraksi dengan kolesterol. Tingginya persentase penurunan kadar kolesterol oleh sampel OH diduga bahwa dalam OH terdapat senyawa yang bukan golongan fenolik yang bertindak sebagai antikolesterol. Simvastatin digunakan sebagai kontrol positif. Simvastatin merupakan obat penurun kolesterol yang tersedia secara komersial.



Gambar 7. Persentase Penurunan Kadar Kolesterol Kuning Telur. Singkatan sama seperti Gambar 1. Huruf yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$)

Kuning telur digunakan sebagai model untuk simulasi karena mengkonsumsi kuning telur dapat menyebabkan naiknya kadar kolesterol dalam darah. Hal ini dikarenakan konsumsi asam lemak jenuh dari kuning telur. Menurut Guyton dan Hall (1996), asam lemak jenuh dapat meningkatkan konsentrasi kolesterol darah 15-25%. Hal ini disebabkan karena asam lemak dapat diubah menjadi asetil KoA melalui oksidasi β -Asetil KoA merupakan prekursor kolesterol, sehingga peningkatan jumlah prekursor ini dapat menyebabkan peningkatan kadar kolesterol dalam darah. Hal ini tentu akan berdampak pada terganggunya proses metabolisme dan ekskresi kolesterol di dalam tubuh sehingga kadar kolesterol total serum akan meningkat. Kolesterol total serum terdiri dari *Very Low Density Lipoprotein* (VLDL), *Low Density Lipoprotein* (LDL), *High Density Lipoprotein* (HDL) dan kolesterol bebas. Peningkatan kolesterol total serum terkait dengan peningkatan VLDL, LDL dan kolesterol bebas (Murray dkk., 2003).

Berdasarkan Gambar 7, OH 100 mesh (65,23%) memiliki persentase yang paling tinggi dalam menurunkan kadar kolesterol. Diikuti oleh OH 50 mesh (62,86%). Setelah itu diikuti oleh OE 50 mesh (56,81%) dan OEA 100 mesh (55,84%) yang mana berdasarkan statistika keduanya tidak menunjukkan perbedaan. Sedangkan persentase paling rendah dalam menurunkan kadar kolesterol adalah OEA 50 mesh (53,55%) dan OE 100 mesh (53,05%) keduanya juga tidak memiliki perbedaan secara statistika.

KESIMPULAN

Oleoresin yang larut etanol (OE) 50 mesh memiliki kandungan fenolik (150,57 $\mu\text{g/mL}$), flavonoid (49,22 $\mu\text{g/mL}$), dan tanin terkondensasi (5,04 $\mu\text{g/mL}$) dengan nilai tertinggi. Oleoresin yang larut etanol (OE) 100 mesh dan oleoresin yang larut etil asetat (OEA) 100 mesh memiliki kemampuan penangkal radikal bebas DPPH dengan persentase tertinggi dengan nilai masing-masing (80,86%) dan (80,03%). Sejalan dengan itu, oleoresin yang larut etanol (OE) dan oleoresin yang larut etil asetat (OEA) juga memiliki aktivitas penangkal radikal kation ABTS dengan kemampuan paling baik. Kemampuan dalam menurunkan kadar kolesterol dengan persentase yang paling tinggi adalah sampel OH jika dibandingkan dengan OEA dan OE.

DAFTAR PUSTAKA

- Anies. 2015. *Kolesterol dan Penyakit Jantung Koroner*. Surabaya: Ar-ruzz Media.
- Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian. 2007. *Teknologi Pengolahan Pala*. Jakarta: Nurdjannah, Nannan. http://pascapanen.litbang.pertanian.go.id/perpustakaan/repository/juknis_pala.pdf [13 April 2022].
- Bhutkar, M.A. & Bhise, S.B. 2011. Spices and condiments in the management of diabetes mellitus. *Research Journal of Pharmacy and Technology*. 4(1), 1-6.
- Calliste, C.A., Kozlowski, D., Duroux, J.L., Champavier, Y., Chulia, A.J. & Trouillas, P. 2010. A new antioxidant from wild nutmeg. *Food Chemistry*. 118(3), 489-496.
- Chang, C.C., Yang, M.H., Wen, H.M., & Chern, J.C. 2022. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 10(3), 178-182.
- Chatterjee, S., Niaz, Z., Gautam, S., Adhikari, S., Variyar, P.S. & Sharma, A. 2007. Antioxidant activity of some phenolic constituents from green pepper (*Piper nigrum* L.) and fresh nutmeg mace (*Myristica fragrans*). *Food Chemistry*. 101(2), 515-523.
- Deng, R. 2012. A review of the hypoglycemic effects of five commonly used herbal food supplements. *Recent Patents on Food, Nutrition and Agriculture*. 4(1), 50-60.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2019. *Statistik Perkebunan Indonesia 2018-2020*. Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Dorman, H.J.D., Surai, P. & Deans, S.G. 2000. In vitro antioxidant activity of a number of plant essential oils and phytoconstituents. *Journal of Essential Oil Research*. 12(2), 241-248.
- Engka, T., Runtuwene, M.R.J., & Abidjulu, J. 2017. Penentuan kandungan total fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan dari kuso mafola (*Drynaria quercifolia* L.). *PHARMACON Jurnal Ilmiah Farmasi*. 6(1), 47-52.
- Guyton dan Hall. 1996. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*. Edisi 9. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Hadiarti, D. 2017. Uji aktivitas ekstrak buah-buas (*Premna serratifolia* Linn) sebagai anti

- kolesterol secara *in-vitro*. *Ar-Razi Jurnal Ilmiah*, 5(1), 22-29.
- Hibrah, Ikhsandy, F., Yahya, A.K., & Rosalina. 2022. Maserasi kinetik pada ekstraksi tanin biji pinang wangi dengan variasi waktu dan konsentrasi pelarut etanol. *Jurnal Ilmiah Teknik Kimia*. 6(1), 9-17.
- Izzati, W., & Salsabila, R.M.V. 2018. Pengaruh jus apel hijau terhadap penurunan kolesterol pada penderita hipertensi di Nagari Kapalo Koto wilayah kerja puskesmas Tigo Baleh Bukittinggi tahun 2017. *AFIYAH*. 5(1), 66-70.
- Jannah, N., Yustina, Latifah, Mahedra, D.N., Sumantri, T.S., & Husna, R.A. 2018. Pengaruh pemberian ekstrak umbi bawang dayak (*Eleutherin americana* Merr.) terhadap penurunan kolesterol pada tikus jantan putih galur wistar. *AL-KAUNIYAH; Journal of Biology*. 11(10), 33-40.
- Jiang, Q. 2014. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant, and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. *Free Radical Biology Medicine*. 72, 76–90.
- Lumbessy, A.S., Hastuti, P., & Soeparmo. Perlakuan pendahuluan menggunakan gelombang mikro pada hancuran biji pala (*Myristica fragrats* Houtt) untuk meningkatkan rendeman dan mutu minyak atsiri dan oleoresin pala. *Cannarium (Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian)*. 19(1), 38-50.
- Morita, T., Jinno, K., Kawagishi, H., Arimoto, Y. & Sukanuma, H. 2003. Hepatoprotective effect of myristicin from nutmeg (*Myristica fragrans*) on lipopolysaccharide/D-galactosamine-induced liver injury. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(1), 1560-1565.
- Moteki, H., Usami, M., Katsuzaki, H., Imai, K. & Hibasami, H. 2002. Inhibitory affects of spice extracts on the growth of human lymphoid leukaemia, Molt 4B cells. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*. 49(2), 688-691.
- Murray, R.K., Granner, D.K., Mayes, P.A., & Rodwell, V.W. 2003. *Biokimia Harper*. Edisi 25. Penerbit Buku Kedokteran, Jakarta.
- Nicod, N. & Parker, R.S. 2013. Vitamin E secretion by caco-2 monolayers to APOA1, but not to HDL, is vitamer selective. *The Journal of Nutrition*. 143, 1565-1572.
- Nimse, S.B. & Pal, D. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*. 5, 27986–28006.
- Oktavian, A., Suhendra, L., & Wartini, N.M. 2020. Pengaruh ukuran partikel dan waktu maserasi terhadap ekstrak *Virgin Coconut Oil* (VCO) kunyit (*Curcuma longa* L.) sebagai pewarna alami. *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. 8(4), 524-534.
- Puspitasari, A.D., & Prayogo, L.S. 2017. Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan sokletasi terhadap kadar fenolik total ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*). *Jurnal Ilmiah Cendekia Eksakta*. 2(1), 1-8.
- Rodianawati, I.P., Hastuti, and Cahyanto, M.N. 2015. Nutmeg's (*Myristica fragrans* Houtt.) oleoresin: effect of heating to chemical compositions and antifungal properties. *Procedia Food Science*. 3, 244-254.
- Salindeho, N., Mamuja, C.F., dan Pandey, E.F. 2017. *Asap Cair Hasil Pirolisis Cangkang Pala Dan Cangkang Kemiri*. Unsrat Press: Manado, Indonesia.
- Simanjuntak, J. 2016. Penentuan Kadar Lemak dalam Margarin dengan Metode Ekstraksi Sokletasi. Universitas Sumatera Utara.
- Sineke, F.U., Suryanto, E., & Sudewi, S. 2016. Penentuan kandungan fenolik dan *Sun Protection Factor* (SPF) dari ekstrak etanol dari beberapa tongkol jagung (*Zea mays* L.). *PHARMACON*. 5(1), 275-283.
- Suoth, E., Kaempe, H. & Tampi, A. 2013. Evaluasi kandungan total polifenol dan isolasi senyawa flavonoid pada daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Chemistry Progress*. 6(2), 86-91.
- Szewczyk, K., Chojnacka, A., & Górnicka, M. 2021. Tocopherols and tocotrienols-bioactive dietary compounds; what is certain, what is doubt?. *International Journal of Molecular Science*. 22(12), 6222.
- Wairata, J., Fadlan, A., Purnomo, A.S., & Ersam, M.T. 2022. Total phenolic and flavonoid contents, antioxidant, antidiabetic and antiplasmodial activities of *Garcinia forbesii* King: a correlation study. *Arabian Journal of Chemistry*. 15, 103541.

Wijayanti, P.A., Kunarto, B., Pratiwi, E., & Rohadi. 2018. Total fenolik, flavonoid, antosianin dan aktivitas antioksidan oleoresin fuli pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang diekstrak menggunakan metode *Solid Liquid Microwave Assisted Extraction*. *Jurnal Teknologi Pangan dan Hasil Pertanian*. 13(1), 1-9.