

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN MINUMAN INSTAN HERBAL PALA (MYRISTICA FRAGRANS HOUTT) SECARA IN VITRO

Irma Antasionasti^{1*}, Olie Syenni Datu¹, Utami Sasmita Lestari²

¹Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Sam Ratulangi, Manado 95115, Indonesia

²Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Sam Ratulangi, Manado 95115, Indonesia

e-mail: irmaantasionasti07@gmail.com

ABSTRACT

Nutmeg has strong antioxidant activity. Therefore, nutmeg flesh had potential to be developed into a functional drink. However, the content of tannin compounds in nutmeg can give an astringent and bitter taste. This can be minimized by adding protein to form a protein-tannin complex. The purpose of this study was to determine the antioxidant activity of a low-tannin herbal instant drink using DPPH and ABTS tests as well as total phenolic and total flavonoids. Nutmeg instan herbal drink is made based on method by adding 3% egg white. Furthermore, 15% maltodextrin and 1% egg white were added in the encapsulation process. After that, the antioxidant activity was tested in vitro. Nutmeg herbal instant drink showed antioxidant activity values of DPPH and ABTS of $354,191 \pm 1,324 \mu\text{g/mL}$ and $308,520 \pm 4,128 \mu\text{g/mL}$, respectively. The antioxidant activity provided by instant herbal nutmeg drink was influenced by the total phenolic content and total flavonoid content of $13,789 \pm 0.0401\%$ EAG and $11,892 \pm 0.120\%$ EK, respectively. Nutmeg herbal instant drink has weak antioxidant activity as the total phenolic content and total flavonoid decrease due to the precipitation process through the phenolic-protein bond of egg white.

Keywords: *antioxidant activity, dpph, abts, nutmeg fruit*

ABSTRAK

Buah pala memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. Oleh karena itu, daging buah pala berpotensi dikembangkan menjadi minuman fungsional. Namun, kandungan senyawa tanin dalam buah pala dapat memberikan rasa sepat dan getir. Hal ini dapat diminimalisir dengan menambahkan protein sehingga terbentuk kompleks protein-tanin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan minuman instan herbal pala rendah tanin menggunakan uji DPPH dan ABTS serta total fenolik dan total flavonoid. Minuman instan herbal pala dibuat dengan menambahkan putih telur 3%. Selanjutnya ditambahkan maltodekstrin 15% dan putih telur 1% dalam proses enkapsulasi. Setelah itu, dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara in vitro. Minuman instan herbal pala menunjukkan nilai aktivitas antioksidan DPPH dan ABTS secara berturut-turut sebesar $354.191 \pm 1.324 \mu\text{g/mL}$ dan $308.520 \pm 4.128 \mu\text{g/mL}$. Aktivitas antioksidan yang diberikan oleh minuman instan herbal pala dipengaruhi oleh kandungan total fenolik dan total flavonoid secara berturut-turut sebesar $13.789 \pm 0.0401\%$ EAG dan $11.892 \pm 0,120\%$ EK. Minuman instan herbal pala memiliki aktivitas antioksidan yang lemah seiring dengan kandungan total fenolik dan total flavonoid menurun akibat proses pengendapan melalui ikatan fenolik-protein putih telur.

Kata kunci : aktivitas antioksidan, dpph, abts, buah pala

PENDAHULUAN

Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) merupakan tumbuhan berupa pohon yang berasal dari kepulauan Banda, Maluku. Akan tetapi, tanaman pala sudah menyebar ke daerah sekitarnya seperti Sulawesi Utara. Sulawesi Utara memproduksi pala sebanyak 8.567 ton pada tahun 2020 dengan kontribusi terbesar di Indonesia sebesar 19,85% (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2020). Pala yang berasal dari Sulawesi Utara telah banyak di ekspor ke luar negeri baik dalam bentuk biji atau telah ditumbuk. Minat konsumen yang tinggi terhadap tanaman pala karena pala merupakan salah satu jenis rempah-rempah yang banyak digunakan dalam industri makanan, farmasi, dan kosmetik (Thangathurai *et al.*, 2018).

Daging buah pala setelah diambil biji dan fulinya, belum dimanfaatkan secara maksimal dan menjadi limbah buangan. Oleh karena itu, daging buah pala dapat dimanfaatkan menjadi minuman herbal instan sebagai sumber antioksidan. Minyak atsiri yang terkandung dalam daging buah pala memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dibandingkan dengan bagian biji, akar dan batang (Ginting *et al.*, 2018; Sipahelut *et al.*, 2020). Myristicin adalah salah satu komponen utama minyak atsiri tanaman pala yang berperan penting sebagai antioksidan (Al-Jumaily dan Al-Amiry, 2012). Selain senyawa miristin, aktivitas antioksidan daging buah pala dipengaruhi oleh senyawa tanin. Namun, senyawa tanin yang terdapat dalam daging buah pala dapat menyebabkan rasa sepat dan getir pada produk olahan daging buah pala sehingga dapat mengurangi tingkat penerimaan konsumen. Oleh karena itu, kadar tanin dalam produk minuman herbal instan daging buah pala harus dikurangi dengan penambahan zat flokulan dari albumin putih telur (Faliman, 2014).

Selanjutnya, dalam proses pembuatan minuman herbal instan daging buah pala dengan cara kristalisasi dapat mengakibatkan hilangnya senyawa aktif yang terkandung. Untuk mencegah hal ini, enkapsulasi merupakan metode yang menjanjikan untuk menjaga stabilitas senyawa bioaktif (Ezhilarasi *et al.*, 2013) dalam produk minuman herbal instan daging buah pala sebagai sumber antioksidan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari minuman instan herbal buah pala sehingga dapat menjamin sifat fungsional antioksidannya.

METODE PENELITIAN

2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan antara lain : neraca analitik dengan kepekaan 0,1 mg (Mettler Toledo), spektrofotometer UV-VIS (UV 1800-Shimadzu), dan alat-alat gelas (Pyrex) yang lazim digunakan di Laboratorium Kimia Analisis.

Bahan yang digunakan antara lain : buah pala yang berasal dari Pulau Sangihe, Provinsi Sulawesi Utara, Indonesia, Aqua (Danone), telur, maltodekstrin (food grade), gula pasir (Indomaret), 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma-Aldrich), 2,2'-azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (Sigma-Aldrich), potassium persulfate (Sigma-Aldrich), ethanol p.a. (Merck), natrium carbonate (Merck), asam galat (Sigma-Aldrich), folin-ciocalteu (Merck), kuersetin (Sigma-Aldrich), natrium nitrite (Merck), natrium hydroxide (Merck), aquadest (Bratachem).

2.3. Pembuatan Ekstrak Sari Buah Pala

Buah pala yang telah dipotong kecil-kecil diekstraksi menggunakan air dengan perbandingan 1:3 b/v (Indriaty & Assah, 2015). Sari buah pala yang dihasilkan dipanaskan pada suhu 80°C dan ditambahkan putih telur dengan konsentrasi 3% dari filtrat buah pala sambil diaduk. Selanjutnya didiamkan dan disari kembali untuk memisahkan ampas putih telur dan sari buah pala.

2.4. Proses Enkapsulasi

Ekstrak sari pala yang telah diperoleh sesuai dengan perlakuan ditambahkan dengan maltodekstrin sebesar 15% (Harahap, 2019) dan putih telur 1%. Kemudian dihomogenisasi dengan menggunakan mixer selama 30 menit. Selanjutnya, dituang ke dalam Loyang dan hamparkan tipis-tipis, lalu keringkan dengan oven pada suhu 55-65°C hingga kering. Lempengan tipis sari buah yang telah kering ditambahkan gula pasir/gula halus sebanyak 20% b/b (Faliman, 2014). Setelah itu, dihancurkan dengan blender dan diayak agar ukuran seragam.

2.5. Uji Aktivitas Antioksidan DPPH

Aktivitas antioksidan radikal DPPH dilakukan berdasarkan Kikuzaki *et al.*, (2002) dengan modifikasi. Pada pengujian ini diambil 4 mL dari masing-masing larutan sampel (80, 160, 240, 320, 400 µg/mL) dan ditambahkan 1 mL DPPH 0,4 mM. Campuran divortex selama 1 menit dan didiamkan selama 15 menit pada suhu 25°C di ruang gelap. Absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada Panjang gelombang maksimum 517 nm menggunakan etanol sebagai blanko. Aktivitas antioksidan dihitung sebagai nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi linier hasil plotting persen inhibisi dengan konsentrasi (µg/mL). Persamaan berikut menghitung persen inhibisi:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

2.6. Uji Aktivitas Antioksidan ABTS

Aktivitas antioksidan radikal ABTS dilakukan berdasarkan Aktumsek *et al.*, (2013) dengan sedikit modifikasi. Secara singkat, kation radikal ABTS dihasilkan dengan mereaksikan 28,406 mg abts dan 14 mg kalium persulfat dalam 20 mL akuades. Campuran didiamkan selama 16 jam pada suhu kamar kemudian ditambahkan aquadest hingga 100 mL. Sebanyak 4 mL dari masing-masing larutan sampel (150, 300, 450, 600, dan 750 µg/mL) diambil dan ditambahkan 1 mL ABTS. Campuran divortex selama 1 menit dan didiamkan selama 10 menit pada suhu 25°C dalam ruangan gelap. Absorbansi masing-masing larutan diukur menggunakan spektrofotometer pada bilangan gelombang 730 nm menggunakan aquadest sebagai blanko. Aktivitas antioksidan dihitung sebagai nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ diperoleh dari persamaan regresi linier hasil plotting persen inhibisi dengan konsentrasi (µg/mL). Persamaan berikut menghitung persen inhibisi:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sampel}}{\text{Abs Kontrol}} \times 100\%$$

2.7. Penentuan Kandungan Total Fenolik

Kandungan total fenolik sampel dilakukan berdasarkan Chun *et al.*, (2003). Sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan sampel diambil dan ditambahkan 0,4 mL pereaksi folin-ciocalteau. Campuran didiamkan selama 5 menit kemudian ditambahkan 4 mL Na₂CO₃ 7% dan akuades hingga 10 mL. Campuran didiamkan selama 2 jam. Absorbansi campuran dan blanko yang berisi semua reagen kecuali sampel ditentukan pada panjang gelombang 755 nm. Penyerapan larutan fenolik standar diukur di bawah kondisi yang sama untuk membuat kurva kalibrasi. Semua penentuan dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Jumlah total kandungan fenolik dalam sampel dinyatakan sebagai mg ekivalen asam galat (EAG)/ g sampel (%b/b EAG).

2.8. Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Kandungan flavonoid total sampel dilakukan berdasarkan Zou *et al.*, (2004). Sebanyak 1 mL dari masing-masing larutan sampel diambil dan ditambahkan 4 mL aquades dan 0,3 mL NaNO₂ 10%. Campuran didiamkan selama 6 menit kemudian ditambahkan 0,3 mL AlCl₃ 10%, 4 mL NaOH 10% dan aquadest hingga 10 mL. Campuran didiamkan selama 15 menit. Absorbansi campuran dan blanko yang berisi semua reagen kecuali sampel ditentukan pada panjang gelombang 495 nm. Penyerapan larutan standar flavonoid diukur pada kondisi yang sama untuk membuat kurva kalibrasi. Semua penentuan dilakukan dengan tiga kali pengulangan. Jumlah kandungan flavonoid total dalam sampel dinyatakan sebagai mg ekivalen kuersetin (EK)/ g sampel (%b/b EK).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sejumlah besar bukti telah menunjukkan peran kunci untuk radikal bebas dalam proses penuaan dan penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, katarak, dan sistem kekebalan tubuh serta disfungsi otak (Park *et al.*, 2017). Salah satu buah yang memiliki kandungan aktivitas antioksidan yang kuat adalah buah pala. Pembuatan minuman instan lemon kalamasi yang dikombinasikan dengan penambahan sari daging buah pala menunjukkan aktivitas antioksidan yang tidak berbeda nyata dengan formulasi menggunakan daun cengkeh (Edam *et al.*, 2016). Oleh karena

itu, daging buah pala dapat dikembangkan menjadi minuman herbal instan. Dalam pembuatan minuman herbal instan daging buah pala digunakan protein putih telur untuk mengikat kandungan senyawa tanin (Chandrasekara & Shahidi, 2018) yang dapat menimbulkan rasa sepat dan getir.

Dalam menjamin sifat fungsional antioksidan dari minuman herbal instan daging buah pala, maka dilakukan pengujian aktivitas antioksidan secara *in vitro* melalui metode pengujian radikal DPPH dan ABTS. Aktivitas antioksidan berdasarkan kedua metode uji tersebut ditentukan berdasarkan perubahan absorbansi, kestabilan, dan warna DPPH[•] atau ABTS^{•+} (Floegel *et al.*, 2011; Olszowy & Dawidowicz, 2018). Dalam studi ini, reduksi warna dari radikal DPPH[•] dan ABTS^{•+} diukur pada Panjang gelombang 517 nm dan 730 nm secara berturut-turut yang mana terjadi reduksi warna ungu menjadi kuning pada pengujian DPPH dan intensitas warna hijau-biru semakin berkurang pada pengujian ABTS (Faisal & Handayani, 2019). Parameter IC₅₀ paling sering diterapkan untuk mengekspresikan aktivitas antioksidan senyawa ketika menggunakan metode DPPH dan ABTS (Dawidowicz *et al.*, 2012; Olszowy & Dawidowicz, 2018). Hal ini dapat dilihat pada Tabel 1.

Mekanisme reaksi radikal pada metode DPPH dan ABTS diklasifikasikan sebagai reaksi transfer elektron tunggal (Martysiak-Zurowska & Wenta, 2012) yang mana terjadi transfer satu atau lebih elektron untuk mereduksi senyawa target. Radikal ABTS bersifat larut dalam air sedangkan radikal DPPH bersifat hidrofobik sehingga harus dilarutkan dalam pelarut organik (Schaich *et al.*, 2015). Berdasarkan Tabel 1, aktivitas antioksidan minuman instan herbal pala yang diberikan oleh metode ABTS (308.520 ± 4.128 µg/mL) lebih kuat dibandingkan dengan metode DPPH (354.191 ± 1.324 µg/mL). Hal ini berbeda dengan hasil yang dilaporkan oleh Martysiak-Zurowska & Wenta (2012) yaitu kapasitas total antioksidan susu manusia yang ditentukan menggunakan metode ABTS memiliki aktivitas antioksidan lebih rendah dibandingkan dengan pengujian DPPH. Hal ini dapat dipengaruhi oleh perbedaan pelarut yang digunakan yang mana kinetika reaksi radikal DPPH dan ABTS dapat dipengaruhi oleh pelarut dan pH (Schaich *et al.*, 2015). Martysiak-Zurowska & Wenta (2012) menggunakan pelarut methanol pa untuk melarutkan DPPH sedangkan penelitian ini menggunakan pelarut etanol pa. pelarut etanol pa merupakan pelarut yang kurang polar (semipolar) dibandingkan dengan pelarut methanol. Hal ini dapat menyebabkan terjadinya reaksi tranfer atom hidrogen pada radikal target yang menggunakan pelarut etanol pa. methanol merupakan pelarut yang memiliki reaksi yang kuat terhadap ikatan hidrogen sehingga dapat mengganggu pelepasan atom hidrogen. Kondisi ini mengindikasikan hasil yang dilaporkan oleh Martysiak-Zurowska & Wenta (2012) pada pengujian DPPH melalui mekanisme transfer elektron sedangkan penelitian ini terjadi melalui mekanisme transfer atom hidrogen. Mekanisme reaksi radikal yang terjadi melalui transfer electron sangat cepat dibandingkan dengan transfer atom hidrogen (Xie & Schaich, 2014). Hasil yang sama dilaporkan oleh Antasionasti *et al.* (2021) dengan menggunakan pelarut etanol bahwa aktivitas antioksidan ekstrak daging buah pala dengan metode ABTS memiliki nilai IC₅₀ lebih kecil dibandingkan dengan metode DPPH.

Tabel 1. Aktivitas antioksidan, kandungan total fenolik dan total flavonoid minuman herbal pala instan

Sampel	DPPH (IC ₅₀ -µg/mL ± SD)	ABTS (IC ₅₀ -µg/mL ± SD)	Kandungan total fenolik (%b/b EAG ± SD)	Kandungan total flavonoid (%b/b EK ± SD)
Herbal Pala	354.191 ± 1.324	308.520 ± 4.128	13.789 ± 0.041	8.255 ± 0.064
Vitamin C*	0.539 ± 0.001	0.699 ± 0.004	-	-

*Antasionasti *et al.* (2021)

Tabel 1 menunjukkan bahwa minuman instan herbal pala memiliki aktivitas antioksidan yang lemah dengan nilai IC₅₀ diatas 200 µg/mL (Ervina *et al.*, 2016). Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan minuman instan herbal pala lebih rendah dibandingkan dengan vitamin c. Namun, penggunaan senyawa antioksidan sintesis seperti vitamin c dapat menyebabkan potensi karsinogenik (Chandrasekara & Shahidi, 2018). Selain itu, nilai IC₅₀ yang diberikan minuman instan herbal pala lebih lemah dibandingkan dengan ekstrak buah pala yang dilaporkan oleh Ginting *et al.*, (2018) dan

Selonni (2021). Hal ini dapat disebabkan oleh berkurangnya kadar tanin akibat berikatan dengan protein putih telur. Ikatan yang terbentuk antara protein dengan tanin sangat mempengaruhi aktivitas biologis senyawa tanin (Kosińska *et al.*, 2011) salah satunya aktivitas antioksidan (Dieng *et al.*, 2020; Gourlay & Constabel, 2019; Miranti *et al.*, 2018). Senyawa tanin yang merupakan ligand multidentat (Kosińska *et al.*, 2011) dan putih telur dapat berikatan melalui ikatan ionik, interaksi hidrofobik, dan ikatan ikatan hidrogen (McRae & Kennedy, 2011). Adanya ikatan-ikatan dan interaksi antara senyawa tanin dan protein putih telur menyebabkan terjadinya pembentukan agregat-agregat dari protein dan tanin yang saling berikatan. Agregat-agregat protein-tanin yang telah terbentuk memicu terjadinya cross-link antara agregat-agregat tersebut dan membentuk kompleks protein-tanin. Kompleks protein – tanin yang terbentuk akan menyebabkan terjadinya pengendapan (McRae & Kennedy, 2011). Selain itu, protein juga dapat bereaksi dengan partikel-partikel dalam koloid sari buah yang bermuatan negatif. Sisi kation dari protein putih telur akan berikatan dengan partikel - partikel di dalam koloid tersebut. Adanya ikatan tersebut menyebabkan terjadinya pengendapan (Granato, 2010).

Berkurangnya kadar tanin dapat ditinjau dari kandungan total fenolik dan total flavonoid. Tanin merupakan senyawa flavonoid karena strukturnya yang memiliki 2 cincin aromatik yang diikat oleh tiga atom karbon (Hidjrawan, 2018) dan flavonoid merupakan golongan senyawa metabolit sekunder fenolik, yang dicirikan oleh struktur benzo-piron (Irma Antasionasti *et al.*, 2020). Wijayanti *et al* (2018) melaporkan bahwa fuli pala memiliki kadar fenolik dan flavonoid sebesar 37 – 52 % b/b EAG dan 6 – 13 % b/b EK. Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa kandungan total fenolik dan total flavonoid minuman instan herbal pala lebih rendah dibandingkan hasil yang dilaporkan oleh Wijayanti *et al* (2018). Hal yang sama dilaporkan oleh Dareda *et al.*, (2020) bahwa kandungan fenolik ekstrak buah pala sebesar $29,71 \pm 0,67 - 50,09 \pm 0,67 \mu\text{g/mL}$. Hal ini menunjukkan ekstrak buah pala memiliki kandungan fenolik lebih tinggi dibandingkan dengan minuman instan herbal pala sebagaimana nilai tersebut dikonversi ke satuan % mg/g EAG. Kandungan total fenolik dihitung berdasarkan ekivalen asam galat berdasarkan persamaan yang dilaporkan oleh Abdelhady *et al.*, (2011). Dalam bentuk olahan sirup buah pala (Faridah *et al.*, 2013) kandungan fenolik berkurang dibandingkan dengan ekstrak buah pala. Namun, kandungan fenolik sirup buah pala sebesar $140,68 \pm 0,389 \text{ mg EAG/L}$ lebih tinggi dibandingkan minuman instan herbal pala. Ketika kandungan fenolik sirup buah pala dikonversi ke satuan % mg/g EAG, diperoleh nilai 20,99 % b/b EAG.

KESIMPULAN

Minuman instan herbal pala rendah tanin memiliki aktivitas antioksidan yang lemah sehingga dalam proses pengembangannya menjadi minuman fungsional antioksidan harus dikombinasikan dengan sumber alam lain yang kaya antioksidan. Hal ini akan meningkatkan kandungan fenolik dan flavonoid minuman instan herbal pala yang mana sebelumnya terjadi pengendapan akibat ikatan fenolik-protein putih telur.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Universitas Sam Ratulangi atas dukungan finansial melalui pendanaan PNBPN Unsrat dengan skema Riset Dasar Terapan Pemula Unsrat (RDTPU) tahun anggaran 2021.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdelhady, M. I. S., Motaal, A. A., & Beerhues, L. 2011. Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Standardized Extracts from Leaves and Cell Cultures of Three Callistemon Species. *American Journal of Plant Sciences*. 2(06): 847–850.
- Aktumsek, A., Zengin, G., Guler, G. O., Cakmak, Y. S., & Duran, A. 2013. Antioxidant potentials and anticholinesterase activities of methanolic and aqueous extracts of three endemic *Centaurea L.* species. *Food and Chemical Toxicology*. 55: 290–296.
- Antasionasti, I, Datu, O. ., Lestari, U. ., Abdullah, S. ., & Jayanto, I. 2021. Correlation Analysis of

- Antioxidant Activities with Tannin, Total Flavonoid, and Total Phenolic Contents of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) Fruit Precipitated by Egg white. *Borneo Journal of Pharmacy*. 4(4): 301-310
- Antasionasti, Irma, Jayanto, I., Abdullah, S. S., & Siampa, J. P. 2020. Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*) DENGAN Kitosan Sodium Tripolifosfat Sebagai Kandidat Antioksidan. *Chemistry Progress*. 13(2): 77–85.
- Chandrasekara, A., & Shahidi, F. (2018). Herbal beverages: Bioactive compounds and their role in disease risk reduction - A review. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*. 8(4): 451–458.
- Chun, O. K., Kim, D. O., & Lee, C. Y. 2003. Superoxide Radical Scavenging Activity of the Major Polyphenols in Fresh Plums. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 51(27): 8067–8072.
- 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.
- Dawidowicz, A. L., Wianowska, D., & Olszowy, M. 2012. On practical problems in estimation of antioxidant activity of compounds by DPPH method (Problems in estimation of antioxidant activity). *Food Chemistry*. 131(3): 1037–1043.
- Dieng, S. I. M., Mathieu, C., Sarr, A., Diatta-Badji, K., & Fall, A. D. 2020. Condensed Tannins Content and their Influence on the Antioxidant Activity of Bark Hydroethanol Extract of *Piliostigma reticulatum* (Dc) Hochst and its Fractions. *Pharmacognosy Journal*. 12(2): 361–368
- Ervina, M., Nawu, Y. E., & Esar, S. Y. 2016. Comparison of in vitro antioxidant activity of infusion, extract and fractions of Indonesian Cinnamon (*Cinnamomum burmannii*) bark. *International Food Research Journal*. 23(3): 1346–1350.
- Essam F. Al-Jumaily and Maytham H. A. Al-Amiry. 2012. Extraction and Purification of Terpenes from Nutmeg (*myristica fragrans*). *Journal of Al-Nahrain University Science*. 15(3): 151–160.
- Ezhilarasi, P. N., Karthik, P., Chhanwal, N., & Anandharamakrishnan, C. 2013. Nanoencapsulation Techniques for Food Bioactive Components: A Review. *Food and Bioprocess Technology*. 6(3): 628–647.
- Faliman, S. V. 2014. Pengaruh Konsentrasi Putih Telur Terhadap Sifat Fisikokimia Dan Organoleptik Sari Sari Buah Pala (*Myristicafragrans* Houtt). [Skripsi], *Program St*(Fakultas teknologi Pertanian), Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
- Faridah, D. N., Yasni, S., Suswantinah, A., & Wuri, A. G. 2013. (Chemical and Microbiological Characterization of Instan Bandrek and Nutmeg Syrup (*Myrfstica fragrans*). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, Vol. 18 (1(ISSN 0853-4217), 43–48.
- Floegel, A., Kim, D. O., Chung, S. J., 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.
- Ginting, B., Maira, R., . M., Helwati, H., Desiyana, L. S., & Mujahid, R. 2018. Isolation Of Essensial Oil Of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) and Antioxidant Activity Test With DPPH. *Jurnal Natural*. 18(1): 11–17.
- Gourlay, G., & Constabel, C. P. 2019. Condensed tannins are inducible antioxidants and protect hybrid poplar against oxidative stress. *Tree Physiology*. 39(3): 345–355.
- Granato, T. M. 2010. Interaction between proteins of plant origin and wine components : molecular-based choice of protein fining agents for organoleptic improvement. [Thesis].
- Harahap, D. 2019. Pembuatan Minuman Instan Jahe Merah (*Zingiber officinale* var *Rubrum*) dengan Metode Enkapsulasi.
- Hendri Faisal, & Handayani, S. 2019. Comparison of Antioxidant Activity of Ethanol Extract of Fruit and Okra Leaves (*Abelmoschus esculentus* L. Moench) with DPPH and ABTS Methods. *Indonesian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*. 2(2): 6–13.
- Hidjrawan, Y. 2018. Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.).

Jurnal Optimalisasi. 4(2): 78–82.

- Indriaty, F., & Assah, Y. F. 2015. Pengaruh Penambahan Gula Dan Sari Buah Terhadap Kualitas Minuman Serbuk Daging Buah Pala. *Jurnal Penelitian Teknologi Industri*. 7(1): 49.
- Kikuzaki, Hiroe; Hisamoto, Masahi; Hirose, Kanae; Akiyama, Kayo; Taniguchi, H. 2002. Antioxidant properties of ferulic acid and its related compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 50(7): 2161–2168.
- Kosińska, A., Karamać, M., Penkacik, K., Urbalewicz, A., & Amarowicz, R. 2011. Interactions between tannins and proteins isolated from broad bean seeds (*Vicia faba* Major) yield soluble and non-soluble complexes. *European Food Research and Technology*. 233(2): 213–222.
- Lawrence Thangathurai, D. P. A. P., Nithyanandam, R., Yong, P. K., & Ismail, N. 2018. Antioxidant potential of Malaysian fruit extract (*Myristica fragrans*). *Journal of Engineering Science and Technology*. 13(11): 3659–3676.
- Mariati Edam, Edi Suryanto, G. S. S. D. 2016. Chemical Characteristics and Antioxidant Activity of Instant Drink Lemon Kalamansi (*Citrus microcarpa*) with Addition of Clove Leaf (*Eugenia caryophyllus*) and Nutmeg Meat (*Myristica fragrans*) Extracts]. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Pangan*. 4(1): 1–8.
- Martysiak-Zurowska, D., & Went, W. 2012. A comparison of ABTS and DPPH methods for assessing the total antioxidant capacity of human milk. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*. 11(1): 83–89.
- McRae, J. M., & Kennedy, J. A. 2011. Wine and grape tannin interactions with salivary proteins and their impact on astringency: A review of current research. *Molecules*. 16(3): 2348–2364.
- Miranti, D. I., Ichiura, H., & Ohtani, Y. 2018. The Bioactive Compounds and Antioxidant Activity of Food Products of *Rhizophora stylosa* Fruit (Coffee and Tea Mangrove). *International Journal of Forestry Research*.
- Olszowy, M., & Dawidowicz, A. L. 2018. Is it possible to use the DPPH and ABTS methods for reliable estimation of antioxidant power of colored compounds? *Chemical Papers*. 72(2): 393–400.
- Park, S. J., Kim, M. O., Kim, J. H., Jeong, S., Kim, M. H., Yang, S. J., Lee, J., & Lee, H. J. 2017. Antioxidant activities of functional beverage concentrates containing herbal medicine extracts. *Preventive Nutrition and Food Science*. 22(1): 16–20.
- Perkebunan, D. J. 2020. *Statistik Perkebunan Indonesia 2018-2020: Pala*.
- Putri Arum Wijayanti, Bambang Kunarto, Ery Pratiwi, R. 2018. *Total Fenolik, Flavonoid, Antosianin, Dan Aktivitas Antioksidan Oleoresin Kulit Pala (Myristica Fragrans) Yang Diekstrak Menggunakan Metode Solid Liquid Microwave Assisted Extraction*. 13(1): 1–9.
- Schaich, K. M., Tian, X., & Xie, J. 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*. 14: 111–125.
- Selonni, F. 2021. *The Effect of Drying Method on The Antioxidant Activity of The Flesh of Nutmeg*. 1(1): 1–6.
- Sipahelut, S. G., Kastanja, A. Y., & Patty, Z. 2020. Antioxidant activity of nutmeg fruit flesh-derived essential oil obtained through multiple drying methods. *EurAsian Journal of BioSciences*. 14(1): 21–26.
- Xie, J. and, & Schaich, K. M. 2014. Re-evaluation of the 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl Free Radical (DPPH) Assay for Antioxidant Activity. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 62: 4251–64260.
- Zou, Yanping; Lu, Yanhua; Wei, D. 2004. Antioxidant activity of Flavonoid-rich extract of *Hypericum perforatum* L in vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 52(16): 5032–5039.