

SECONDARY METABOLITES AND POTENTIAL ANTIOXIDANTS OF NUTMEG (*Myristica fragrans* Houtt) MACE FROM WEST JAVA

Rahmatul Kartini Erza¹⁾, Karmanah^{2)*}, Nurlela¹⁾

¹⁾ Program Studi Kimia, FMIPA, Universitas Nusa Bangsa

Jl. K.H. Sholeh Iskandar Km. 4 Cimanggu Tanah Sareal, Bogor 16166;

²⁾ Program Studi Agroteknologi, FAPERTA, Universitas Nusa Bangsa

Jl. K.H. Sholeh Iskandar Km. 4 Cimanggu Tanah Sareal, Bogor 16166

ARTICLE INFO

Article history:

Received 26 Jan 2022,

Revised 22 Apr 2022,

Accepted 26 Apr 2022

Available online 30 Apr 2022

Keywords:

- ✓ *Myristica fragrans* Houtt
- ✓ Mace
- ✓ Phenolic
- ✓ Flavonoid
- ✓ Antioxidant Activity

*corresponding author:

karmanahub@gmail.com

Phone: +6281282841650

[https://doi.org/10.31938/jsn.v](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.380)

[12i2.380](https://doi.org/10.31938/jsn.v12i2.380)

ABSTRACT

Nutmeg mace is a mesh-shaped seed coat that is bright red when the fruit is ripe and yellowish-white when immature, which generally contains secondary metabolites such as flavonoids and phenolics. This study aimed to examine the content of flavonoids and phenolics, the antioxidant activity of ethanol extract of the nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) mace based on three regions in West Java i.e. Sukabumi, Cianjur, and Bogor District with age differences. Total phenolic content was measured spectrophotometrically using the Folin Ciocalteu reagent. The total flavonoid content was quantitatively measured using the $AlCl_3$ colorimetric method. Antioxidant activity was tested by measuring the IC_{50} using the 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) method. The highest phenolic content was found in young nutmeg from Sukabumi Regency (76.40 mgTAE/g). The highest flavonoid content was found in old age mace nutmeg from Bogor Regency (20.33 mgQE/g). Nutmeg mace has the potential as a natural antioxidant because it can reduce free radicals in DPPH with the lowest IC_{50} of 153.5 mg/L in old mace from Cianjur District.

ABSTRAK

Kandungan Metabolit Sekunder Dan Potensi Antioksidan Fuli Buah Pala (*Myristica Fragrans* Houtt) Dari Jawa Barat

Fuli pala adalah selubung biji berbentuk jala berwarna merah terang ketika buah sudah matang dan berwarna putih kekuningan ketika belum matang, yang umumnya mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya flavonoid dan fenolik. Tujuan penelitian ini untuk menguji kandungan senyawa flavonoid, fenolik dan aktivitas antioksidan ekstrak etanol fuli pala (*Myristica fragrans* Houtt) berdasarkan tiga wilayah yaitu Kabupaten Sukabumi, Kabupaten Cianjur dan Kabupaten Bogor dengan perbedaan usia. Kadar total fenolik diukur spektrofotometri menggunakan reagen Folin Ciocalteu, Kadar total flavonoid secara kuantitatif dengan metode kolorimetri $AlCl_3$. Aktivitas antioksidan diuji dengan mengukur nilai IC_{50} dengan metode 2,2- difenil-1-pikril hidrazil (DPPH). Kadar fenolik tertinggi didapatkan pada pala usia muda dari Kabupaten Sukabumi dengan kadar sebesar 76,40 mgTAE/g. Kadar flavonoid tertinggi didapat pada fuli pala usia tua di Kabupaten Bogor dengan kadar sebesar 20,33 mgQE/g. Fuli buah pala berpotensi sebagai antioksidan alami karena mampu meredam radikal bebas pada DPPH dengan IC_{50} terendah sebesar 153,5 mg/L yang diperoleh dari fuli usia tua dari Kabupaten Cianjur.

Kata kunci : *Myristica fragrans* Houtt, Fuli, Fenolik, Flavonoid, Aktivitas Antioksidan

PENDAHULUAN

Pala merupakan tanaman asli Indonesia. Terdapat beberapa jenis pala yang dikenal di Indonesia, salah satunya adalah jenis pala Banda (*Myristica fragrans* Houtt). Jenis ini

berasal dari kepulauan Banda dan merupakan salah satu pala terbaik yang ada di Indonesia, dilihat dari segi kualitas dan juga produktivitasnya. Jenis pala ini banyak dikembangkan di provinsi Jawa Barat, yang merupakan salah satu daerah pusat produksi



pala nasional di Indonesia. Terdapat beberapa wilayah di Jawa Barat yang menjadi daerah pengembangan utama tanaman pala meliputi Kabupaten Bogor, Kabupaten Sukabumi dan Kabupaten Cianjur dengan luas arealnya masing-masing 1670 ha, 1475 ha dan 321 ha (Direktorat Jenderal Perkebunan 2019). Ketiga wilayah di Jawa Barat ini tergolong sesuai untuk pengembangan tanaman pala berdasarkan agroekologinya (Karmanah *et al.*, 2019).

Buah pala memiliki beberapa bagian yaitu daging buah, fuli, dan biji yang banyak dijual, khususnya fuli dalam bentuk kering dan dalam bentuk minyak atsiri. Minyak atsiri fuli pala Banda mengandung 10 senyawa metabolit sekunder yang termasuk dalam kelompok monoterpenoid dan alifatik (Karmanah *et al.* 2020). Fuli pala juga mengandung senyawa metabolit sekunder seperti flavonoid dan fenolik yang memiliki potensi sebagai antioksidan (Gupta *et al.* 2013). Kandungan senyawa metabolit sekunder ini diduga dapat dipengaruhi oleh ketuaan atau usia pada fuli pala, meskipun belum ada penelitian yang membandingkan kandungan senyawa metabolit sekunder dengan usia fuli pala. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh usia fuli pala terhadap kadar total fenolik dan total flavonoid yang terkandung dalam fuli buah pala yang berasal dari tiga wilayah di Jawa Barat. Data kadar total fenolik dan total flavonoid yang diperoleh diharapkan dapat mendukung aktivitas antioksidannya.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan Alat

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah fuli buah pala (*Myristica fragrans* Houtt) yang diperoleh dari sentra pengembangan pala di Jawa Barat yaitu wilayah Sukabumi (SB), wilayah Cianjur (C) dan wilayah Bogor (BG), usia fuli dibedakan berdasarkan warna dengan warna putih kekuningan yang menunjukkan usia fuli muda (3-4 bulan) dan warna merah atau merah kekuningan yang menunjukkan usia fuli tua (7-9 bulan). Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah akuades, asam tanat, asam klorida, asam sulfat, asetat anhidrida, 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH), etanol p.a, FeCl₃, *folin ciocalteau*, kloroform, kuersetin, Na₂CO₃, reagen *dragendorff*, reagen

mayer, reagen *wagner*, pita Mg, AlCl₃ 10%, kalium asetat 1 M.

Alat yang digunakan adalah blender, cawan alumunium, desikator, kertas saring, neraca analitik digital (Sartorius), oven, *water bath*, spektrofotometer *Ultra Violet-visible* (UV-VIS) dan peralatan gelas laboratorium.

Metode

Pembuatan Serbuk Simplisia Fuli Buah Pala

Fuli buah pala jenis tua (kode 1) dan muda (kode 2) yang diperoleh dari 3 wilayah sentra pengembangan pala dikeringkan dalam oven pada suhu 50°C selama 3 hari. Simplisia dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk dan disimpan dalam plastik kedap udara yang bersih dan kering.

Pembuatan Ekstrak Etanol Fuli Buah Pala

Simplisia fuli sebanyak 5 gram diekstraksi dengan pelarut etanol 20 mL (1:4). Perendaman dilakukan selama 3 x 24 jam dengan penggantian pelarut penyaringan setiap 1 x 24 jam. Ekstrak dievaporasi di atas *water bath* pada suhu 60° C selama kurang lebih 3 jam sampai diperoleh ekstrak kental. Ekstrak kental selanjutnya ditimbang. Kadar air simplisia dihitung dengan cara 0,5 gram simplisia ditimbang, lalu dikeringkan dalam oven pada suhu 105° C selama 3 jam (AOAC, 1984). Simplisia yang telah dioven, didinginkan dalam desikator selama 15 menit dan ditimbang. Cawan beserta isinya dikeringkan kembali sampai diperoleh berat konstan.

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Harbone (1996).

a. Identifikasi Alkaloid

Ekstrak fuli pala sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL amoniak, campuran disaring dan filtrat ditambahkan beberapa tetes reagen Mayer, Wagner dan Dragendorff. Sampel diamati hingga keruh atau ada endapan. Hasil uji positif dilihat dari adanya perubahan menjadi endapan merah hingga jingga dengan pereaksi Dragendorff, terbentuk endapan putih kekuningan dengan pereaksi Mayer, dan endapan coklat dengan pereaksi Wagner.

b. Identifikasi Flavonoid

Ekstrak fuli pala sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan pita Mg dan

5 tetes HCl pekat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna kuning, oranye atau merah.

c. Identifikasi Saponin

Ekstrak fuli sebanyak 1 mL ditambahkan dengan akuades sebanyak 5 mL dan dipanaskan selama 5 menit pada suhu 80°C. Larutan tersebut didinginkan dan dihomogenkan. Timbulnya busa sampai selang waktu 10 menit menunjukkan adanya saponin.

d. Identifikasi Steroid/Triterpenoid

Ekstrak fuli sebanyak 1 mL ditambahkan 1 mL anhidrat asetat dan 1 mL asam sulfat pekat. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya warna merah yang menandakan ada triterpenoid dan biru atau hijau menunjukkan adanya steroid.

e. Identifikasi Tanin

Ekstrak fuli sebanyak 1 mL dimasukan kedalam tabung reaksi, ditambahkan 5 mL akuades dan dipanaskan, selanjutnya ekstrak ditambahkan FeCl₃ sebanyak 3 tetes, hasil positif jika menghasilkan biru karakteristik, biru-hitam, hijau atau biru-hijau dan endapan (Farnsworth, 1966).

Pengujian Kadar Total Fenolik

Pengujian kadar total fenolik dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Tan *et al.* (2013). Ekstrak etanol fuli pala sebanyak 12,5 mg ditimbang dan dilarutkan ke dalam labu ukur 25 mL. Larutan dipipet sebanyak 3 mL, dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL dan ditera dengan akuades sehingga didapatkan faktor pengenceran sebesar 3,3. Sampel dipipet 1 mL ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 2 mL Folin Ciocalteau 10% dan didiamkan 5 menit pada suhu ruang. Larutan tersebut ditambahkan 2,5 mL Na₂CO₃ 7,5%, didiamkan kembali selama 45 menit pada suhu ruang, pembacaan serapannya dilakukan pada panjang gelombang maksimum. Konsentrasi dari sampel yang diukur diketahui dengan menghitung menggunakan kurva baku yang telah didapat dan total fenol ekstrak sampel dinyatakan dalam mg asam tanat/g sampel (mg TAE/g sampel) dengan rumus:

$$\text{Total fenol mgTAE/g} = c \frac{V}{m}$$

Keterangan :

c = kadar total fenol dari kurva standar (mg/L)

V = volume sampel (L)

m = bobot sampel (g)

Pengujian Kadar Total Flavonoid

Pengujian kadar total flavonoid dilakukan dengan metode yang dikembangkan oleh Ukheyanna (2012). Ekstrak etanol fuli pala 5 mg ditimbang, dimasukkan ke labu ukur 10 mL, dan ditera dengan etanol. Larutan dipipet 1 mL ke labu ukur 10 mL, ditambahkan 0,2 mL AlCl₃ 10%, 0,2 mL kalium asetat 1 M dan 3 mL etanol, ditera dengan akuades. Larutan dibiarkan selama 30 menit, lalu serapannya diukur pada panjang gelombang maksimal. Absorbansi yang dihasilkan dimasukkan ke dalam persamaan regresi dari kurva standar kuersetin. Pengerjaan diulang sebanyak 3 kali dan dihitung kadar flavonoid total dengan menggunakan rumus :

$$\text{Total flavonoid mgQE/g} = c \frac{V}{m}$$

Uji Antioksidan

Uji antioksidan menggunakan Metode 2,2-difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) secara kuantitatif dengan Spektrofotometer UV-VIS (Kusumah, 2019 dengan modifikasi). Tahapan pengujian sebagai berikut :

a. Pembuatan Larutan Uji Seri Konsentrasi 0, 3, 5, 6, 9, 12 mg/L

Larutan kontrol positif dibuat dari kuersetin 100 mg/L yang dipipet sebanyak 0; 1,5; 2,5; 3; 4,5; dan 6 mL sehingga didapat konsentrasi 3, 5, 6, 9, dan 12 mg/L. Kuersetin dilarutkan dengan etanol p,a dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas.

b. Pembuatan Larutan Uji Seri Konsentrasi 100, 150, 200, 250, 300 mg/L

Larutan uji seri konsentrasi dipipet dari larutan induk sampel sebanyak 1; 1,5; 2; 2,5; dan 3 mL sehingga didapat konsentrasi 100, 150, 200, 250, 300 mg/L. Larutan tersebut ditambahkan etanol p,a dalam labu ukur 10 mL sampai tanda batas.

c. Pengukuran Serapan dengan Spektrofotometer UV-VIS

Masing-masing larutan ekstrak fuli buah pala dan kontrol positif sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Larutan ekstrak ditambahkan larutan DPPH 0,1 mg/L sebanyak 2 mL, lalu dikocok dengan vortex hingga homogen, diinkubasi dalam ruangan gelap 30 menit. Selanjutnya, serapannya diukur pada panjang gelombang 515 nm.

d. Penentuan Persen Inhibisi

Aktivitas penangkal radikal diekspresikan sebagai persen inhibisi yang dapat dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Peredaman radikal bebas} = \frac{(\text{abs standar} - \text{abs sampel})}{\text{abs standar}} \times 100\%$$

e. Penentuan Nilai Inhibitory Concentration (IC₅₀)

Konsentrasi sampel dan persen inhibisinya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear. Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan IC₅₀ dari masing-masing sampel yang dinyatakan dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai IC₅₀. Nilai IC₅₀ menyatakan besarnya konsentrasi larutan sampel yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas DPPH sebesar 50% yang ditandai dengan terjadinya perubahan warna ungu pada larutan menjadi warna kuning pucat. Menurut Jun *et al.* (2006), suatu senyawa dikatakan sebagai antiradikal bebas sangat kuat apabila nilai IC₅₀ < 50 mg/L, kuat apabila nilai IC₅₀ antara 50-100 mg/L, sedang apabila nilai IC₅₀ berkisar antara 100-250 mg/L, lemah apabila nilai IC₅₀ berkisar 250-500 mg/L dan tidak aktif apabila IC₅₀ diatas 500 mg/L. Semakin kecil nilai IC₅₀, berarti semakin besar daya antioksidannya.

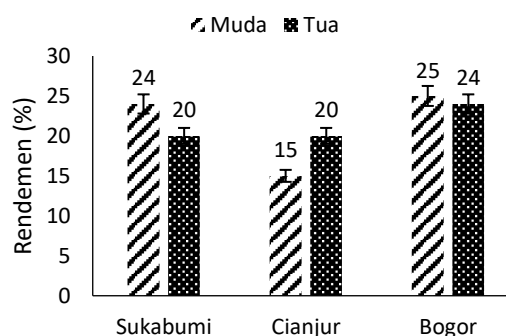
Analisis Data

Kadar total fenolik dan total flavonoid dilakukan analisis data dengan Uji Beda Nyata (ANOVA) dan dilanjutkan dengan uji Duncan's Multiple Range Test (DMRT) apabila lokasi dan usia berpengaruh signifikan (P<0,05) terhadap variabel yang diamati.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Fuli Buah Pala

Persentase rendemen fuli pala yang berasal dari Bogor dengan usia muda dan tua menghasilkan rendemen yang lebih besar yaitu 25% dan 24% (Gambar 1). Perbedaan persentase rendemen menunjukkan adanya perbedaan dalam jumlah senyawa metabolit sekunder yang terekstrak pada sampel, sesuai dengan pernyataan Harbone (1996), bahwa tingginya senyawa aktif yang terdapat pada suatu ekstrak ditunjukkan dengan tingginya jumlah rendemen. Persentase rendemen kemungkinan dipengaruhi oleh proses pengadukan saat maserasi sehingga zat-zat aktif dalam simplisia banyak tersari dalam larutan penyari. Selain itu, persentase rendemen fuli pala dipengaruhi oleh umur fuli pala dan daerah asal tanaman pala (Polii, 2016).



Gambar 1. Persentase Rendemen Fuli Pala

Tabel 1. Hasil Pengujian Fitokimia Ekstrak Etanol Fuli Pala

Sampel	Alkaloid			Flavonoid	Tanin	Saponin	Triterpenoid
	Dragendorff	Wagner	Mayer				
SB 1	+	-	-	+	+	-	++
SB 2	+	-	-	++	+	-	++
C 1	+	++	-	+	++	-	++
C 2	+	++	-	++	++	-	++
BG 1	+	-	-	+	++	-	++
BG 2	+	-	-	++	++	-	++

Keterangan: 1) ++ = Sangat Kuat ; + = Kuat

2) SB= Kabupaten Sukabumi; C=Kabupaten Cianjur; BG= Kabupaten Bogor

3) 1= Fuli Usia Muda ; 2 = Fuli Usia Tua

Pada proses ekstraksi dipilih pelarut etanol 96%, karena dapat melarutkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang bersifat cukup polar dan tidak toksik dibandingkan dengan pelarut lain. Etanol juga dapat menarik senyawa-senyawa polar seperti flavonoid, tanin dengan menembus dinding sel bersifat non-polar dan polar secara efisien, sehingga senyawa-senyawa tersebut dapat tersari lebih banyak (Tiwari *et al.*, 2011). Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang tersebar pada tumbuhan dan cenderung mudah larut dalam pelarut polar (Nabavi *et al.*, 2011).

Hasil Uji Penapisan Fitokimia

Hasil uji penapisan fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak etanol fuli pala mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tanin dan triterpenoid (Tabel 1). Berdasarkan Tabel 1, uji alkaloid ekstrak etanol fuli pala menunjukkan hasil yang positif pada uji Dragendorff pada semua jenis sampel dengan membentuk endapan berwarna coklat muda (tanda +). Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Perekasi Dragendorff mengandung Bismut-KI akan bereaksi dengan nitrogen yang digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K^+ yang merupakan ion logam. Pada uji Wagner hanya sampel dari wilayah Cianjur saja yang memberikan hasil positif dengan membentuk endapan berwarna coklat muda (tanda ++). Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodin akan bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodida menghasilkan ion I_3^- yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.

Uji flavonoid pada ekstrak etanol fuli pala menunjukkan hasil yang positif yang ditandai terbentuknya warna jingga pada lapisan etanol (tanda + dan ++). Prinsip uji flavonoid berdasarkan reaksi oksidasi reduksi. Senyawa flavonoid akan direduksi oleh hidrogen yang dihasilkan dari reaksi antara pita Mg dengan HCl, lalu membentuk senyawa kompleks dengan Mg^{2+} yang berwarna merah atau jingga (Ergina *et al.*, 2014).

Uji tanin pada ekstrak etanol fuli pala memberikan hasil positif dengan terbentuknya warna biru kehitaman yang sangat kuat pada ekstrak etanol fuli pala (tanda + dan ++). Warna yang terbentuk menunjukkan bahwa kandungan senyawa tanin pada fuli pala tinggi (tanda ++). Hal ini dipertegas dengan literatur yang menjelaskan bahwa fuli pala mengandung senyawa tanin yang tinggi (Assa *et al.*, 2014).

Pada pengujian kandungan saponin tidak menunjukkan perubahan (tanda -) artinya fuli pala tidak mengandung saponin. Hasil ini sejalan dengan hasil penelitian Ismiyanto (2009), senyawa golongan saponin tidak terdapat dalam sampel fuli pala kering. Hasil pengujian triterpenoid menunjukkan hasil positif yang ditandai dengan terbentuknya warna merah kecoklatan (tanda ++).

Tabel 2. Hasil Uji DMRT Pada Total Fenolik

Sampel	Total Fenolik (mgTAE/g)
SB 1	76,40 ^c
SB 2	67,86 ^b
C 1	66,60 ^b
C 2	65,85 ^b
BG 1	63,87 ^b
BG 2	51,99 ^a

Keterangan: Huruf yang sama dibelakang nilai total fenolik menunjukkan tidak berbeda nyata

Uji Total Fenolik

Kadar total fenolik ekstrak etanol fuli pala pada wilayah Sukabumi dan Bogor usia tua dan muda berbeda nyata secara signifikan dengan masing-masing kadar untuk wilayah sukabumi sebesar 76,40 mgTAE/g dan 67,86 mgTAE/g untuk usia muda dan tua serta wilayah bogor sebesar 63,87 mgTAE/g dan 51,99 mgTAE/g pada usia muda dan tua (Tabel 2). Hanya wilayah Cianjur yang tidak berbeda nyata, yaitu 66,60 mgTAE/g usia muda dan 65,85 mgTAE/g usia tua yang berarti bahwa wilayah dan usia tidak mempengaruhi kadar total fenolik secara statistik. Namun, jika dilihat kadar total fenolik secara keseluruhan dapat terlihat bahwa kadar pada usia muda lebih tinggi dibandingkan usia tua (Tabel 2). Sudjatha dan Wisaniyasa (2017) menjelaskan bahwa besarnya kadar fenolik pada buah tergantung pada perkembangannya. Buah yang masih muda mengandung fenolik yang lebih tinggi daripada buah yang sudah masak. Turunnya kadar pada buah disebabkan kandungan senyawa

fenolik tersebut mengalami degradasi. Hal ini yang mengakibatkan kadar total fenolik fuli pala lebih tinggi pada usia muda dibandingkan dengan usia tua.

Uji Total Flavonoid

Kadar total flavonoid pada ekstrak etanol fuli pala ketiga wilayah dengan usia tua dan muda sangat berbeda secara signifikan, dengan kandungan tertinggi berada pada wilayah Bogor dengan kadar total flavonoid sebesar 20,33 mgQE/g pada fuli usia tua dan 9,67 mgQE/g untuk usia muda. Pada wilayah Cianjur kadar total flavonoid sebesar 17,8 mgQE/g pada usia tua dan 10,27 mgQE/g usia muda. Kadar terendah berada pada wilayah Sukabumi dengan kadar sebesar 14,33 mgQE/g pada usia tua dan 6,07 mgQE/g pada usia muda (Tabel 3). Dilihat dari keseluruhan data total flavonoid, kadar total flavonoid lebih tinggi pada usia tua daripada usia muda.

Tabel 3. Hasil Uji DMRT Pada Total Flavonoid

Sampel	Total Flavonoid (mgQE/g)
SB 1	6,07 ^a
SB 2	14,07 ^c
C 1	10,27 ^b
C 2	17,80 ^d
BG 1	9,67 ^b
BG 2	20,33 ^d

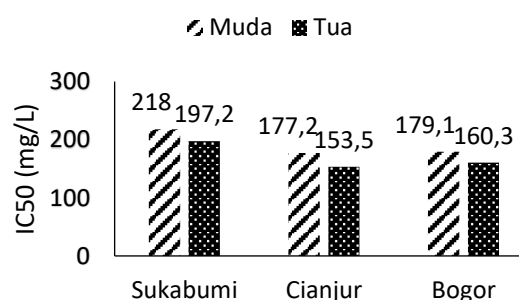
Keterangan: Huruf yang sama dibelakang nilai total flavonoid menunjukkan tidak berbeda nyata

Adanya perbedaan kandungan flavonoid dan juga kandungan fenolik menggambarkan adanya keragaman konstituen kimia tanaman pala sebagai akibat dari beberapa faktor yang mempengaruhi, diantaranya adalah kondisi lingkungan tumbuh tanaman pala. Perbedaan lingkungan tersebut dapat berupa suhu lingkungan tumbuh tanaman pala. Perbedaan lingkungan tersebut dapat berupa suhu lingkungan tumbuh tanaman pala. Karmanah *et al.* (2019) melaporkan perbedaan suhu pada persebaran tanaman pala di tiga lokasi penelitian yaitu di Kabupaten Bogor memiliki suhu sebesar 25-27°C, Kabupaten Sukabumi sebesar 19-21°C dan Wilayah Cianjur sebesar 20-22°C. Menurut Abdullah *et al.* (2006) dan Goh *et al.* (2016), suhu yang tinggi akan memberikan cekaman bagi tanaman dan mendorong tanaman untuk memproduksi metabolit sekunder guna melawan radikal bebas. Berdasarkan Tabel 3 menunjukkan suhu yang lebih tinggi di Kabupaten Bogor dan Kabupaten

Cianjur menghasilkan kadar total flavonoid lebih tinggi dibandingkan Kabupaten Sukabumi. Menurut Shamloo *et al.* (2017) senyawa flavonoid yang lebih tinggi sebagai ekstra sinergi pertahanan terhadap cekaman lingkungan.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan mengukur persentase inhibisi radikal bebas DPPH atau % inhibisi. Nilai % inhibisi digunakan dalam perhitungan nilai IC₅₀ (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC₅₀ merupakan nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi sampel (mg/L) yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50%. IC₅₀ diperoleh dengan menggunakan persamaan regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel dengan simbol X terhadap aktivitas penangkapan radikal bebas dengan simbol Y. Semakin kecil nilai IC₅₀ berarti semakin tinggi aktivitas antioksidan (Zuhra *et al.*, 2008).



Gambar 2. Nilai IC₅₀ dari Ekstrak Etanol Fuli Pala

Kuersetin dipilih sebagai kontrol positif karena merupakan antioksidan alami yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (Pertiwi *et al.*, 2016). Perubahan warna yang terjadi pada kuersetin dan ekstrak etanol fuli pala diukur menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum DPPH 515 nm. Pada Gambar 2 dapat dilihat perbandingan nilai IC₅₀ dari ekstrak etanol fuli pala. Ekstrak etanol fuli pala wilayah Cianjur memiliki nilai IC₅₀ yang paling rendah. Besar kemungkinan ekstrak etanol fuli pala Cianjur memiliki IC₅₀ yang lebih rendah dikarenakan peran dari senyawa fitokimia seperti alkaloid dan triterpenoid yang menunjukkan hasil positif pada uji alkaloid pereaksi Dragendorff dan Wagner serta positif pada uji triterpenoid sebagaimana ditunjukkan pada Tabel 1. Ekstrak etanol fuli pala terbukti memiliki aktivitas antioksidan yang ditandai dengan adanya kemampuan meredam radikal bebas pada DPPH. Nilai IC₅₀ yang dihasilkan menunjukkan bahwa ekstrak etanol fuli pala memiliki aktivitas

antioksidan aktif dengan kategori sedang. Selain itu, berdasarkan usia fuli pala dari ketiga wilayah menunjukkan fuli usia tua memiliki nilai IC_{50} yang lebih rendah dibandingkan usia muda, diduga karena fuli usia tua memiliki kandungan flavonoid yang lebih tinggi. Menurut Sidana *et al.* (2013), senyawa flavonoid dapat meredam aktivitas radikal bebas seperti hidroksil dan superoksida.

KESIMPULAN

Fuli pala dari tiga lokasi sentra pengembangan pala yaitu wilayah Sukabumi, Cianjur, dan Bogor terbukti mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat menangkai radikal bebas. Kadar fenolik tertinggi terkandung pada fuli pala usia muda di Kabupaten Sukabumi dengan kadar sebesar 76,40 mgTAE/g. Kadar flavonoid tertinggi berada pada fuli pala usia tua di Kabupaten Bogor dengan kadar sebesar 20,33 mgQE/g. Lokasi penanaman dan usia fuli terbukti mempengaruhi kadar total flavonolik dan total flavonoid dalam ekstrak fuli pala. Fuli buah pala berpotensi sebagai antioksidan alami karena mampu meredam radikal bebas pada DPPH dengan IC_{50} terendah sebesar 153,5 mg/L pada fuli pala usia tua di Kabupaten Cianjur yang memiliki tingkat kekuatan antioksidan berkategori sedang.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dr. Karmanah SP, M.Si atas arahan dan bimbingannya serta telah mendanai penelitian ini. Begitu pula kepada Nurlala S.Si., M.Si yang telah memberikan bimbingannya selama penelitian ini. Penulis juga mengucapkan terimakasih kepada Raymona Rosilla S.Si yang telah memotivasi untuk menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Abdullah, M., Babar, M., Kee, W. Y., Eun, J. H., & Kee, Y. P. (2006). Effect of temperature on secondary metabolite production and antioxidant enzyme activities in *Eleutherococcus senticosus* somatic embryos. *Plant cell, Tissue and Organ Culture*, 85, 219-228.

AOAC. (1984). *Official Methods of Analysis*. Washington, United States: Association of Official Agricultural Chemists.

[Ditjenbun] Direktorat Jenderal Perkebunan. (2019, Agustus 15). *Statistik Perkebunan Indonesia Komoditas Pala Tahun 2017-2019*. Diperoleh dari <http://ditjenbun.pertanian.go.id>

Ergina, Nuryanti, S., & Pursitasari, I. D. (2014). Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol. *Jurnal Akademika Kimia*, 3(3), 165-172.

Farnsworth, N. R. (1996). Biological and Phytochemical Screening of Plants. *Journal of Sciences*, 55, 225-276.

Ghofur, A. A. (2017). *Peningkatan senyawa antioksidan terekstrak dari daging buah pala (Myristica fragrans Houtt) melalui penentuan jenis pelarut* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.

Goh, K. K., Sukira, Normah, & Baharum. (2016). Metabolite profiling reveals temperature effects on the vocs and flavonoids of different plant populations. *Plant Biol (Stuttg)*, 1, 130-139.

Gould, K., Davies, K. M., & Winefield, C. (2008). *Anthocyanins: Biosynthesis, Functions, And Applications*. Jerman: Springer.

Gupta, A. D., Vipin, K. B., Vikash, B., & Nishi, M. (2013). Chemistry antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*, 11, 25-31.

Harbone, J. B. (1996). *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung, Indonesia: Institut Teknologi Bandung.

Ismiyarto, A., Ngadiwiyana, A., & Mustika, R. (2009). Isolasi, identifikasi minyak atsiri fuli pala (*Myristica fragrans*) dan uji aktivitas sebagai larvasida. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 12 (1), 23 - 30.

- Jan, R., Assa, Simon B. W., & Joni K. (2014). Antioxidant potential of flesh, seed and mace of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *International Journal of ChemTech Research CODEN*.
- Jun, M., Fu, H. -Y., Hong, J., Wan, X., Yang, C. S., & Ho, C. -T. (2006). Comparison of antioxidant activities of isoflavones from kudzu root (*Pueraria lobata* Ohwi). *Journal of Food Science*, 68(6), 2117-2122.
- Karmanah, Susanto, S., Widodo, W. D., & Santosa, E. (2019). Suitability of nutmeg plant habitats in three nutmeg production centers using the geographic information system and aster DEM in West Java, Indonesia. *International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering*, 9(2), 4761–4766.
- Karmanah, Susanto, S., Widodo, W. D., & Santosa, E. (2020). The fruit characteristics of Ambon forest nutmeg (*Myristica fatua* Houtt) and Banda nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Jurnal Ilmu Pertanian Indonesia*, 25 (2), 292-300. DOI: 10.18343/jipi.25.2.292.
- Kusumah, R.R. (2019). *Total flavonoid dan aktivitas antioksidan dari ekstrak metanol buah bisbul (Dyospyros discolor)* (Skripsi). Fakultas FMIPA, Universitas Nusa Bangsa, Bogor, Indonesia.
- Nabavi, S. F., Nabavi, S. M., Ebrahimzadeh, M. A., & Asgarirad, H. (2011). Antioxidant activity of wild medlar (*Mespilus germanica*) fruits, stem bark and leaf. *African Journal of Biotechnology*, 10(2), 283-289.
- Pertiwi, D. R., Yari, E. C., & Putra, F. N. (2016). Uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol limbah kulit buah apel (*Malus domestica* Borkh.) terhadap radikal bebas DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazil). *Jurnal Ilmiah Manuntung*, 2(1), 81–92.
- Polii, F. (2016). Penelitian penyulingan minyak pala ”SIAUW” metode uap bertekanan dan karakteristik mutu minyak pala. *Jurnal Penelitian Teknologi Industri*, 8(1), 23-34.
- Shamloo, M., Babawale, E. A., Furtado, A., Henry, H. J., Peter, K. E., & Peter, J. H. J. (2017). Effects of genotype and temperature on accumulation of plant secondary metabolites in Canadian and Australian wheat grown under controlled environments. *Scientific Reports*, 7(1), 9133. DOI: 10.1038/s41598-017-09681-5.
- Sidana, J., Saini, V., Dahiya, S., Nain, P., & Bala, S. (2013). A review on citrus: the boon of nature. *Journal Pharmacy Science Review And Research*, 18(2), 20-27.
- Tan, K. P., Khoo, H. E., & Azrina, A. (2013). Comparison of antioxidant components and antioxidant capacity in different parts of nutmeg (*Myristica fragrans*). *Journal of Food Research*, 20(3), 1049-1052.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur H. (2011). Phytochemical screening and extraction: a review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98-106.
- Ukheyanna, E. (2012). *Aktivitas antioksidan kadar fenolik dan flavonoid total tumbuhan suruhan (Peperomia pellucid L. Kunth)* (Skripsi). Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Zuhra, C. F., Tarigan, J., & Sihotang, H. (2008). Aktivitas antioksidan senyawa flavonoid dari daun katuk *Sauropus androgynus* (L) Merr. *Jurnal Biologi Sumatera*, 3(1), 7-10.