

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN BUAH PALA MUDA DAN MATANG DAERAH BOGOR DENGAN METODE 2,2-DIFENIL-1-PIKRILHIDRAZIL

Muhammad Rafif Dzaky Zhalifunnas^{2*}, Euis Yuliani¹, Siti Nur Inayah¹, Dinar Rahaju Pudjiastuty², Dedi Kurnia²

¹Program Studi S-1 Kimia, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

²Program Studi D-III Analis Kesehatan, Sekolah Tinggi Analis Bakti Asih, Jalan Padasuka Atas No. 233, Bandung 40192, Indonesia

E-mail: muhammadrafifdzaky92@gmail.com

ABSTRAK

Buah pala merupakan satu jenis rempah yang banyak digunakan di Indonesia. Tidak hanya sebagai rempah, buah pala juga memiliki banyak manfaat kesehatan termasuk sebagai antibakteri, anti-peradangan, dan aktivitas antioksidan. Antioksidan adalah senyawa yang dapat membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan akibat radikal bebas. Tujuan penelitian ini untuk membandingkan dan menentukan seberapa kuat aktivitas antioksidan pada *infused water* dan jus dari buah pala muda dan matang yang ditanam di daerah Bogor menggunakan metode DPPH. Penelitian ini menggunakan desain eksperimental dimana harus melakukan pengulangan 5 kali pada setiap sampel. Hasil penelitian diperoleh nilai perhitungan *Antioxidant Activity Index* (AAI) masing-masing sampel minuman menunjukkan bahwa *infused water* pala muda memiliki nilai AAI 2.99, *infused water* pala matang memiliki nilai AAI 4.99, jus pala muda memiliki nilai AAI 6.14, jus pala matang memiliki nilai AAI 7.70 dan vitamin C memiliki nilai AAI 9.11 dimana nilai tersebut termasuk didalam range $AAI > 2$ sehingga semua sampel dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat. Sampel buah pala matang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar ketimbang sampel buah pala muda dengan nilai AAI 4.99 untuk *infused water* matang, dan nilai AAI 7.70 untuk jus matang sampel buah pala muda dengan nilai AAI 2.99 untuk *infused water* muda, dan nilai AAI 6.14 untuk jus muda.

Kata Kunci: Buah pala, Antioksidan, DPPH, *Antioxidant Activity Index*, *Infused Water*

ABSTRACT

Nutmeg is one type of spice that is widely used in Indonesia, nutmeg is known as one of the spices that has economic value and can be utilized in all parts of the plant. Nutmeg is rich in antioxidant compounds that can help protect body cells from free radical damage. The purpose of this study was to compare and determine how strong the antioxidant activity of unripe and ripe nutmeg grown in the Bogor area using the DPPH method. This study uses an experimental design where it must be repeated 5 times on each sample with the DPPH method. The results obtained from the calculation of the Antioxidant Activity Index (AAI) value of each beverage sample show that raw nutmeg infused water has an AAI value of 2.99, cooked nutmeg infused water has an AAI value of 4.99, raw nutmeg juice has an AAI value of 6.14, cooked nutmeg juice has an AAI value of 7.70 and vitamin C has an AAI value of 9.11 where the value is included in the $AAI > 2$ range so that all samples are categorized as having very strong antioxidant activity. The ripe nutmeg sample had greater antioxidant activity than the unripe nutmeg sample with an AAI value of 4.99 for ripe infused water, and an AAI value of 7.70 for ripe juice. The unripe nutmeg sample had an AAI value of 2.99 for unripe infused water, and an AAI value of 6.14 for unripe juice.

Key Words: Nutmeg, Antioxidant, DPPH, *Antioxidant Activity Index*, *Infused Water*

1. Pendahuluan

Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) adalah spesies tumbuhan asli Indonesia yang terutama tersebar di daerah pesisir dan daerah tropis, dikenal luas karena penggunaannya dalam produksi rempah-rempah. Ekstrak bagian tanaman pala dari akar, biji, buah, dan kulitnya menunjukkan sifat antitrombotik, antimikroba, psikostimulan, dan antioksidan yang baik. Selain itu, kulit pala mengandung senyawa metabolit sekunder dengan

potensi tinggi sebagai antioksidan dan pengobatan antikanker (Karmanah, Karmanah et al., 2020), (Dharmaputra et al., 2022; Kapelle et al., 2022; Rahardiyan et al., 2020).

Analisis fitokimia pala mengandung minyak atsiri, protein, lipid, pati, dan berbagai residu. Minyak atsiri utamanya adalah miristisin dan asam miristat, sedangkan minyaknya sendiri mengandung sekitar 5-15% pinus, sabinena, kampena, miristisin, elemisin, isoelemisin,

eugenol, isoeugenol, metoksieugenol, safrole, diametrisfenilpropanoid, lignan, dan neolignan. Namun masih terdapat beberapa masalah yang sering muncul dalam pengujian antioksidan pada buah pala, seperti ketidakmurnian sampel yang diuji, metode eksperimen yang tidak standar dan masih ada antioksidan buah pala yang belum dimanfaatkan secara maksimal (Retto et al., 2021), (Hartari et al., 2023).

Aktivitas antioksidan adalah kemampuan senyawa kimia untuk menetralkan radikal bebas berbahaya di dalam tubuh dengan mendonorkan elektron, mencegah kerusakan sel akibat stres oksidatif, serta menghambat proses oksidasi yang bisa menyebabkan penyakit dan penuaan dini. Sifat ini dimiliki oleh berbagai molekul, baik alami maupun sintetis, yang bekerja melindungi sel dari kerusakan oksidatif melalui mekanisme enzimatis dan non-enzimatis (Ginting et al., 2021).

Aktivitas antioksidan metode DPPH adalah cara mengukur kemampuan suatu senyawa untuk menetralkan radikal bebas dengan mendonorkan elektron atau atom hidrogen, yang ditandai dengan perubahan warna larutan DPPH dari ungu menjadi kuning pucat saat bereaksi dengan antioksidan, diukur dengan spektrofotometer UV-Vis, dan hasilnya dihitung menjadi % inhibisi atau nilai IC₅₀ (konsentrasi untuk menghambat 50% radikal) untuk menilai kekuatan antioksidannya (Ginting et al., 2021).

Pada penelitian ini buah pala yang digunakan buah pala muda 2 bulan sebelum panen dan buah pala matang berwarna kecoklatan yang dipetik dari daerah Bogor untuk diuji aktivitas antioksidan menggunakan DPPH.

2. Metode Penelitian

2.1 Alat dan Bahan

Bahan yang digunakan antara lain aquadest, etanol p.a, vitamin C, radikal bebas DPPH, buah pala muda dan matang. Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tabung reaksi, labu ukur, pipet volume, botol reagen, neraca analitik, blender, botol dan spektrofotometer UV-Vis.

2.2 Pembuatan Larutan Sampel

Infused water: Sebanyak 500g buah pala yang sudah dipotong kecil dimasukkan kedalam botol dan direndam dengan air sebanyak 500mL, simpan botol dalam refrigerator dengan suhu berkisar 0°-15°C dalam kurun waktu 8-12 jam. Jus: Buah pala sebanyak 500g dimasukkan kedalam blender kemudian dituang air dan diblender secara bersamaan, setelah itu pisahkan ampas dan air buah pala, simpan air jus buah pala kedalam botol yang bersih.

Dibuat larutan stok 100 ppm dari semua sampel ambil 5 µL dan dilarutkan dengan etanol p.a

diaduk homogen lalu dicukupkan volumenya hingga 50 ml dibuat variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25 30 ppm masing-masing 10mL.

Dibuat larutan vitamin C 100 ppm sebagai pembanding dengan cara menimbang 1 mg vitamin C dan dilarutkan dalam 10 mL aquadest dikocok hingga homogen.

2.3 Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 3,9 mg dan dilarutkan ke dalam etanol p.a sampai tepat 100 mL (0,1 mM). Larutan disimpan dalam wadah tertutup dengan suhu rendah dan terlindung dari sinar matahari (Herlina & Mulyani, 2022). Serapan diukur pada spektrofotometer UV-Vis 400-750 nm untuk menentukan panjang gelombang maksimum.

2.4 Uji Antioksidan

Larutan uji vitamin C, infused water dan jus buah pala muda dan matang dipipet 5 mL dari berbagai konsentrasi dimasukkan kedalam tabung reaksi, ditambahkan larutan DPPH 0,1mM sebanyak 5 mL, dikocok hingga homogen, diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit diukur pada panjang gelombang 520 nm.

2.5 Analisis Data

Data absorbansi masing masing kelompok uji dihitung % inhibisi dengan rumus:

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

Ket: A₀ = Absorbansi blanko

A₁ = Absorbansi sampel

Persen inhibisi adalah perbandingan antara selisih dari absorbansi blanko dan absorbansi sampel dengan absorbansi blanko. Persen inhibisi digunakan untuk menentukan persentase hambatan dari suatu sampel uji yang dilakukan terhadap senyawa radikal bebas. IC₅₀ didefinisikan sebagai jumlah antioksidan yang dibutuhkan untuk menurunkan konsentrasi awal DPPH sebesar 50%.

2.6 Penentuan Nilai *Antioxidant Activity Index* (AAI)

Antioxidant Activity Index (AAI) merupakan metode dalam menstandarisasi hasil pengujian antioksidan yang didasarkan metode DPPH dengan rumus:

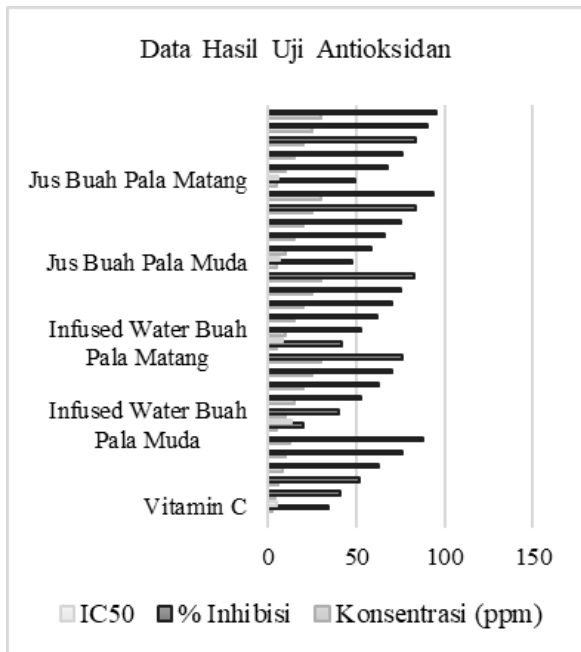
$$AAI = \frac{\text{Konsentrasi DPPH } (\mu\text{g/mL})}{\text{IC}_{50} (\mu\text{g/mL})}$$

Sifat antioksidan dapat dibedakan menjadi:

- Lemah, jika nilai AAI < 0,5
- Sedang, jika nilai AAI > 0,5 - 1,0
- Kuat, jika nilai AAI > 1,0 - 2,0
- Sangat kuat, jika nilai AAI > 2,0

3. Hasil Dan Pembahasan

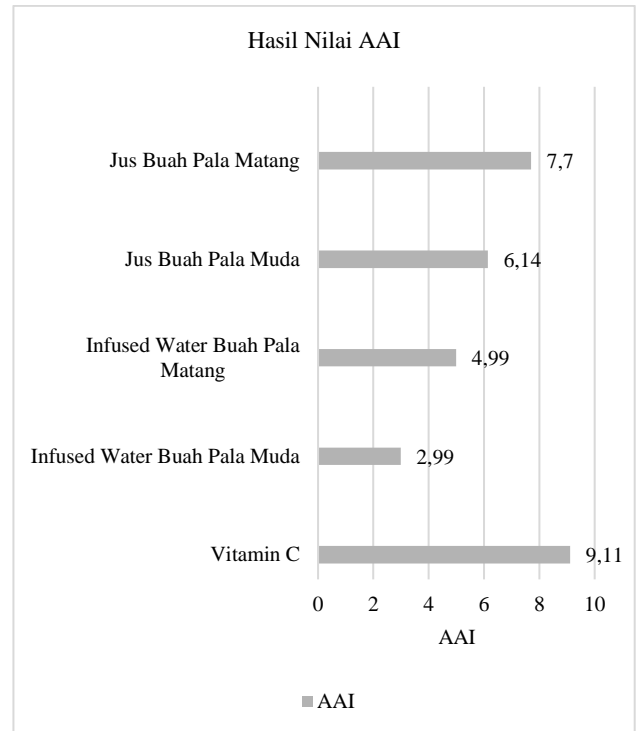
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan terhadap *infused water buah pala muda matang* dan jus buah pala muda matang dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 ppm dan vitamin C sebagai pembanding dengan konsentrasi 2,4,6,8,10 dan 12 ppm secara berturut-turut. Aktivitas antioksidan ditunjukkan dengan nilai IC_{50} diperoleh hasil sebagai berikut:



Gambar 1. Hasil uji aktivitas antioksidan sampel Vitamin C sebagai pembanding *Infused Water Buah Pala Muda Matang* dan Jus Buah Pala Muda Matang

Data pada gambar 1 dapat dilihat % inhibisi yang dihasilkan Vitamin C berturut-turut yaitu 88.17%, 76.35%, 62.71%, 51.79%, 40.88%, 34.52%, untuk *Infused Water* buah pala muda 19.96%, 39.97%, 52.70%, 62.71%, 69.98%, 76.35%, untuk *Infused Water* buah pala matang 41.79%, 52.70%, 61.8%, 69.98%, 75.44%, 82.72%, untuk Jus buah pala muda 47.25%, 58.16%, 66.35%, 75.44%, 83.63%, 93.63%, untuk Jus buah pala matang 49.07%, 67.26%, 76.35%, 83.63%, 89.99%, 95.45%. Dari hasil tersebut dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasinya maka akan semakin rendah nilai absorbansinya.

Sedangkan untuk nilai IC_{50} yang diperoleh Vitamin C 4.39 ppm, *Infused Water* buah pala muda 13.34 ppm, *Infused Water* buah pala matang 8.01 ppm, Jus buah pala muda 6.51 ppm, Jus buah pala atng 5.19 ppm.



Gambar 2. Nilai *Antioxidant Activity Index* (AAI)

Dapat dilihat pada gambar 2 nilai AAI vitamin C sebesar 9.11, untuk *infused water* buah pala muda diperoleh nilai AAI 2.99, *infused water* buah pala matang memiliki nilai AAI 4.99, untuk jus buah pala muda didapat nilai AAI sebesar 6.14 dan jus buah pala matang didapat nilai AAI 7.70 dimana nilai tersebut termasuk didalam range $AAI > 2$ sehingga dikatakan sangat kuat untuk semua sampel.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dengan bertambahnya konsentrasi sampel maka absorbansi sampel akan menurun dan tingkat inhibisi akan naik. Absorbansi sampel turun karena electron DPPH menjadi berpasangan dengan elektron sampel yang mengakibatkan warna larutan berubah dari ungu menjadi bening agak kekuningan.

Nilai IC_{50} memiliki makna sebagai konsentrasi sampel yang menyebabkan absorbansi DPPH turun menjadi setengahnya yang dihitung berdasarkan persamaan regresi linier. Nilai IC_{50} diperoleh dari pengukuran (% inhibisi vs konsentrasi). Dari data tersebut diperoleh persamaan garis nilai IC_{50} untuk *Infused Water* buah pala muda sebesar 13.34, *Infused Water* buah pala matang 8.01, Jus buah pala muda 6.51, Jus buah pala atng 5.19 dan untuk Vitamin C sebesar 4.39.

Hasil uji aktivitas antioksidan dari masing-masing sampel minuman menunjukkan bahwa *infused water* buah pala muda memiliki nilai AAI 2.99, *infused water* buah pala matang memiliki nilai AAI 4.99, jus buah pala muda memiliki nilai AAI 6.14 dan jus buah pala matang memiliki nilai

AAI 7.70. Berdasarkan literatur disebutkan jika suatu senyawa dinyatakan sebagai radikal bebas sangat kuat apabila nilai AAI > 2. Vitamin C sebagai pembanding memiliki antioksidan yang sangat kuat karena memiliki nilai AAI > 2 yaitu 9.11.

Berdasarkan data yang didapat, sampel dengan nilai AAI yang tertinggi yaitu jus buah pala matang dengan nilai AAI > 2 sebesar 7.70. Hal ini dikarenakan buah pala matang memiliki antioksidan yang kuat dan semua senyawa yang terkandung dalam buah pala mudah tersari ke dalam cairan jus ketimbang *infused water* yang tidak semua senyawa yang terkandung di dalam buah pala ikut tersari. Oleh karena itu jus buah pala matang memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi daripada jus buah pala muda dan *infused water* buah pala.

4. Simpulan

Berdasarkan hasil yang diperoleh dari penelitian ini sampel buah pala matang memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar ketimbang sampel buah pala muda dengan nilai IC50 8.1 dan nilai AAI 4.99 untuk *infused water* matang, IC50 5.19 dan nilai AAI 7.70 untuk jus matang ketimbang sampel buah pala muda dengan nilai IC50 13.34 dan nilai AAI 2.99 untuk *infused water* muda, IC50 6.51 dan nilai AAI 6.14 untuk jus buah pala muda.

5. Daftar Acuan

1. Dharmaputra, O. S., Ambarwati, S., Retnowati, I., & Nurfadila, N. (2022). POSTHARVEST QUALITY IMPROVEMENT OF NUTMEG (*Myristica fragrans*). *BIOTROPIA*, 29(3), 185–192. <https://doi.org/10.11598/btb.2022.29.3.1393>
2. Ginting, B., Mustanir M, M., Nurdin N, N., Maulidna M, M., Murniana M, M., & Safrina S, S. (2021). Evaluation of Antioxidant and Anticancer Activity of *Myristica fragrans* Houtt. Bark. *Pharmacognosy Journal*, 13(3), 780–786. <https://doi.org/10.5530/pj.2021.13.99>
3. Hartari, W. R., Hidayati, S., Utomo, T. P., Sartika, D., & Suharyono. (2023). Characterization of Leaf Essential Oil from Nutmeg (*Myristica fragrans*) Cultivated on Agroforestry Land. *Jurnal Sylva Lestari*, 12(1), 100–112. <https://doi.org/10.23960/jsl.v12i1.789>
4. Herlina, H., & Mulyani, E. (2022). PERBANDINGAN AKTIVITAS

ANTIOKSIDAN PADA MINUMAN INFUSED WATER DARI JERUK NIPIS, JERUK LEMON DAN JERUK KALAMANSI DENGAN METODE DPPH. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 5(1), 56–65. <https://doi.org/10.36387/jifi.v5i1.921>

5. Kapelle, I. B. D., Souhoka, F. A., & Walla, A. M. (2022). Chemical Composition Oil and Ethanol Extract of Nutmeg Leaf and Antibacterial Test Against *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Indo. J. Chem. Res.*, 10(1), 19–26. <https://doi.org/10.30598/jicr.2022.10-ima>
6. Karmanah, Karmanah, Susanto, S., & Widodo, W. D. (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. <https://doi.org/10.18343/jipi.25.2.292>
7. Rahardiyani, D., Poluakan, M., & Moko, E. M. (2020). Physico-chemical Properties of Nutmeg (*Myristica fragrans* houtt) of North Sulawesi Nutmeg. *Fullerene Journal of Chemistry*, 5(1), 23. <https://doi.org/10.37033/fjc.v5i1.146>
8. Rettob, T. M. K., Zebua, E., Butar-butur, I. S., Tular, F. G., & Mokusuli, Y. S. (2021). The Utilization Of Beehive Wax a Combination of Nutmeg Extract (*Myristica fragrans* Houtt.) and Langsung (*Lansium domesticum* L.) as Aromatherapy and Mosquito Repellent. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(3), 845–853. <https://doi.org/10.29303/jbt.v21i3.2938>