

Analisis Korelasi Aktivitas Antioksidan Minuman Herbal Pala dengan Kandungan Total Fenolik dan Total Flavonoid

Tjandra A. Rumagit¹, Fatimawali¹, Irma Antasionasti¹

1) Program Studi Farmasi, FMIPA, Universitas Sam Ratulangi, Bahu, Manado, 95115
Email: rumagitabygaile@gmail.com, fatimawali@unsrat.ac.id, irmaantasionasti07@gmail.com

ABSTRACT

Nutmeg flesh has strong antioxidant activity compared to the seeds, roots and stems. Therefore, a research was conducted on the manufacture of encapsulated instant drinks from nutmeg which is rich in antioxidants. Nutmeg herbal instant drink (MHP) is made by encapsulation process using maltodextrin: skim milk (2:4). Antioxidant testing using the DPPH method, and total phenolic and flavonoid content using a UV-Vis spectrophotometer. Correlation of antioxidant activity with total phenolic and total flavonoid content is based on the regression equation (total phenolic/flavonoid vs antioxidant). Based on the test results, MHP with a concentration of 25% has very strong antioxidant activity (IC_{50} : 21.20361 $\mu\text{g/mL}$). The antioxidant activity given is influenced by the phenolic and flavonoid content, which is around 39.07%, the total phenolic content affects antioxidant activity. While the total flavonoid content of 39.5% is part of the phenolic compounds that affect antioxidant activity. Therefore, nutmeg herb can be developed as a nutritionally valuable antioxidant functional drink.

Keyword : *Nutmeg Herbal Drink, Antioxidant, Phenolic, Flavonoid*

ABSTRAK

Daging buah pala memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dibandingkan dengan bagian biji, akar dan batang. Oleh karena itu, dilakukan penelitian pembuatan minuman instan terenkapsulasi dari buah pala yang kaya akan antioksidan. Minuman instan herbal pala (MHP) dibuat dengan proses enkapsulasi menggunakan maltodekstrin : susu skim (2:4). Pengujian antioksidan dengan metode DPPH, dan kandungan total fenolik dan flavonoid menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Korelasi aktivitas antioksidan dengan kandungan total fenolik dan total flavonoid didasarkan pada persamaan regresi (total fenolik/ flavonoid vs antioksidan). Berdasarkan hasil pengujian MHP dengan konsentrasi 25% memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat (IC_{50} : 21,20361 $\mu\text{g/mL}$) Kekuatan antioksidan yang diberikan sampel lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C (0,568 $\mu\text{g/mL}$), namun aktivitas antioksidan sampel masih tergolong sangat kuat. Aktivitas antioksidan yang diberikan dipengaruhi oleh kandungan fenolik dan flavonoid yang mana sekitar 39,07% kandungan total fenolik mempengaruhi aktivitas antioksidan. Sementara kandungan total flavonoid sebesar 39,5% adalah bagian dari senyawa fenolik yang mempengaruhi aktivitas antioksidan. Oleh karena itu, herbal pala dapat dikembangkan sebagai minuman fungsional antioksidan bernilai gizi.

Kata Kunci : Minuman Herbal Pala, Antioksidan, Total Fenol, Total Flavonoid.

1. PENDAHULUAN

Pala (*Myristica Fragrans* Houtt.) merupakan tanaman asli Indonesia yang berasal dari Maluku dan kepulauan Banda. Pala merupakan tanaman multiguna karena setiap bagiannya dapat digunakan sebagai bahan industri seperti obat-obatan, sabun, parfum dan kosmetik. Dikenal sebagai rempah yang bernilai ekonomi tinggi pala menjadi salah satu komoditas perkebunan yang menghasilkan devisa dari ekspor. Pada tahun 2019 luas/area perkebunan pala di Sulawesi Utara sebesar 26.133 Ha dengan nilai produksi sebanyak 11.607 Ton, menjadikan Sulawesi Utara sebagai penghasil pala terbesar di Indonesia dengan kontribusi sebesar 19,85%. (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2019).

Sekitar 80% buah pala segar adalah dagingnya, namun bagian terbesar dari buah pala ini adalah bagian yang sangat jarang diolah. Setelah biji dan fuli pala diambil, daging buahnya dibiarkan begitu saja dan menjadi limbah buangan. Oleh karena itu, daging buah pala sangat baik jika dimanfaatkan menjadi minuman herbal instan sebagai sumber antioksidan untuk memerangi manifestasi buruk akibat paparan radikal bebas seperti berbagai penyakit degeneratif (Ginting *et al.*, 2018; Sipahelut *et al.*, 2020).

Daging buah pala memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, dan berdasarkan penelitian sebelumnya senyawa fenolik dan flavonoid memiliki peran dalam meningkatkan aktivitas antioksidan. Senyawa flavonoid yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi atau gugus kromofor diketahui mampu untuk menangkalkan radikal bebas. Sementara itu aktivitas antioksidan pada senyawa fenolik terjadi karena sifat oksidasi dari senyawa fenol itu sendiri yang mampu untuk menetralkan radikal bebas (Antasionasti *et al.*, 2021; Anastasya *et al.*, 2022).

Daging buah pala memiliki kandungan tanin yang menyebabkan adanya rasa sepat pada saat dikonsumsi. Oleh karena itu metode enkapsulasi digunakan karena dapat meningkatkan penerimaan konsumen terhadap sifat sensorik produk (Wijaya *et al.*, 2013). Selain itu, metode enkapsulasi digunakan karena dapat mencegah hilangnya senyawa aktif yang terkandung pada saat proses pembuatan minuman herbal instan daging buah pala. Enkapsulasi dapat melindungi bahan inti (core) yang semula berbentuk cair menjadi bentuk padatan sehingga mudah dalam pengolahannya (Priambodo *et al.*, 2017). Sementara, untuk memperkaya cita rasa dalam proses pembuatan minuman herbal instan digunakan madu sebagai pemanis alami yang kaya akan manfaat dan juga memiliki aktivitas antioksidan (Keskin *et al.*, 2021). Aktivitas antioksidan alami yang dapat diberikan melalui minuman herbal instan daging buah pala dapat

juga memberi manfaat dalam mengurangi limbah organik. Yang mana buah pala ini termasuk sebagai komoditas perkebunan terbesar yang dihasilkan di Sulawesi Utara, namun pemanfaatan daging buah pala yang merupakan bagian terbesar (80%) dari buah pala sangat kurang (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2019). Daerah Kamangta dipilih sebagai tempat pengambilan sampel, dengan alasan daerah ini adalah daerah penghasil komoditas pala, namun daging buah palanya tidak dimanfaatkan melainkan menjadi limbah. Dengan harapan agar dapat mengurangi limbah buangan, dengan dimanfaatkannya limbah tersebut menjadi minuman herbal pala (MHP).

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis hasil kandungan total fenolik dan kandungan total flavonoid pada minuman instan herbal daging buah pala dengan menggunakan metode spektrofotometri, untuk menganalisis aktivitas antioksidan atau aktivitas penangkal radikal bebas pada minuman herbal instan daging buah pala dengan metode DPPH, dan untuk menganalisis hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan total fenolik dan total flavonoid pada minuman instan herbal daging buah pala.

2. METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan November 2022 - Februari 2023 di Laboratorium Farmasi UNSRAT.

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan berupa alat-alat gelas, timbangan analitik, oven, dan spektrofotometri UV-Vis. Bahan yang digunakan yaitu buah pala; madu; telur; aqua mineral; aquadest; asam galat p.a; aluminium klorida; DPPH; etanol p.a; maltodekstrin; natrium karbonat; reagen folin ciocalteu; susu skim; kuersetin; vitamin C.

Prosedur Penelitian

Persiapan Sampel

Buah pala yang diambil adalah limbah daging buah pala yang masih segar dan belum dicampur dengan limbah buah pala lainnya. Buah pala diperoleh dari kebun pala di Kelurahan Kamangta, Kecamatan Tombu, Kabupaten Minahasa, Sulawesi Utara. Persiapan dimulai dengan sortasi buah pala yang daging buahnya tidak memar, kerut, dan tidak ada bercak hitam (cacat), kemudian dibersihkan dari pengotor dengan menggunakan air. Setelah itu, dipisahkan daging buah dari kulit dan biji pala. Buah pala yang telah dikupas dan dibelah menjadi dua kemudian dibungkus dengan aluminium foil tiap buahnya dan disimpan dalam freezer. Buah pala di thawing sebelum dipotong kecil-kecil.

Pembuatan Ekstrak Sari Daging Buah Pala

Buah pala yang telah dipotong kecil-kecil diekstraksi menggunakan air dengan perbandingan 1:3 b/v (Indriaty dan Assah, 2015). Sari buah pala yang dihasilkan dipanaskan pada suhu 80°C dan ditambahkan putih telur dengan konsentrasi 2,5% dari filtrat buah pala sambil diaduk. Selanjutnya didiamkan dan disari kembali untuk memisahkan ampas putih telur dan sari buah pala.

Proses Encapsulasi

Ekstrak sari pala yang telah diperoleh sesuai dengan perlakuan ditambahkan maltodekstrin dan susu skim dengan perbandingan (2:4) sesuai dengan prosedur yang dilakukan oleh Antasionasti *et al.* (2021). Sampel dihomogenisasi dengan menggunakan mixer selama 30 menit dan ditambahkan madu dengan konsentrasi 5, 10, 15, 20, dan 25%. 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 dihancurkan dengan blender dan diayak agar ukuran seragam.

Uji Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH sebagaimana disampaikan dalam Kikuzaki *et al.* (2002). Pembandingan untuk pengujian antioksidan menggunakan vitamin C. Hasil dilaporkan menggunakan persentase inhibisi dan perhitungannya berdasarkan persen (%) penangkapan radikal :

$$= (A_0 - A_1/A_0) \times 100\%.$$

Keterangan :

A₀ : absorbansi kontrol (tidak mengandung sampel)

A₁ : absorban dengan adanya sampel uji atau senyawa pembanding.

Pembuatan larutan DPPH (0,4 mM) dibuat dengan dilarutkan 16 mg serbuk DPPH ke dalam 100 mL pelarut yang sama dengan yang digunakan pada sampel, kemudian dihomogenisasi. Sebagai blanko DPPH diambil sebanyak 1 mL kemudian diencerkan menggunakan ethanol p.a sampai dengan 4 mL dan diukur serapannya menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 517 nm (Molyneux, 2004). Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan ditambahkan sejumlah sampel (0,2 mL ; 0,4 mL; 0,6 mL; 0,8 mL; 1 mL) sesuai dengan konsentrasi larutan (20, 40, 60, 80, 100 ppm) ditambahkan dengan 1 mL DPPH dan dicukupkan dengan ethanol sampai dengan 5 mL, kemudian diinkubasi dan dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum yakni 517 nm.

Analisis Total Fenol

Kandungan fenolik total ditentukan dengan metode spektrofotometri seperti yang dilakukan oleh Chun *et al.* (2003) dengan asam galat yang

merupakan salah satu senyawa fenolik dalam tanaman digunakan untuk membuat kurva kalibrasi standar. Untuk menentukan kadar total fenolik terlebih dahulu dilakukan pengukuran absorbansi larutan standar asam galat menggunakan spektrofotometri dengan panjang gelombang maksimum yang digunakan adalah 750 nm. Pengukuran absorbansi larutan pembanding diukur dalam beberapa konsentrasi berbeda, yang mana hasil pengukuran absorbansinya dibuat kurva kalibrasi hubungan antara kadar asam galat (sumbu x) dan absorbansinya (sumbu y) dan diperoleh persamaan regresi linier.

Dalam penentuan kandungan total fenol pada sampel diawali dengan sebanyak 1 mL sampel MHP ditambahkan dengan 400 µL reagen folin-ciocalteu, kemudian dibiarkan selama 5 menit sebelum ditambahkan 4 mL larutan natrium karbonat dan dicukupkan dengan akuades sampai 10 mL, kemudian diinkubasi selama 1 jam, dan serapannya dibaca pada panjang gelombang maksimum yakni 750 nm.

Analisis Total Flavonoid

Kandungan flavonoid total ditentukan secara spektrofotometri sesuai dengan yang dilaporkan oleh Zou *et al.* (2004) yang mana kuersetin sebagai salah satu flavonol dari kelompok senyawa flavonoid polifenol digunakan untuk membuat kurva kalibrasi standar. Larutan standar kuersetin dibuat dengan variasi konsentrasi 5mg/L, 10mg/L, 15mg/L, 20mg/L, 25mg/L. Proses pembuatan larutan kuersetin dimulai dengan penambahan 2,5 mg sampel yang kemudian dilarutkan dengan 25 mL etanol kemudian diambil 0,5 mL larutan dan ditambahkan 5 mL akuades kemudian ditambahkan 0,3 mL NaNO₂ 10% lalu didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya ditambahkan 0,3 mL AlCl₃ 10% didiamkan selama 5 menit sebelum ditambahkan 4 mL NaOH 10%, dan divortex selama 1 menit, dan larutan didiamkan selama 15 menit sebelum diukur nilai absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm. Hasil pengukuran absorbansinya dibuat kurva kalibrasi hubungan antara kadar kuersetin (sumbu x) dan absorbansinya (sumbu y) dan diperoleh persamaan regresi linier.

Sementara untuk analisis kandungan total flavonoid dilakukan dengan sebanyak 1 mL sampel dimasukkan ke dalam labu takar 10 mL, ditambah 4 mL akuades dan 0,3 mL larutan NaNO₂ 10%, dan dibiarkan selama 5 menit. Setelah itu larutan ditambah dengan 0,3 mL AlCl₃ 10% dan dibiarkan selama 5 menit. Selanjutnya larutan ditambah dengan 4 mL NaOH 10% dan akuades sampai 10 mL. Larutan dibiarkan selama 15 menit dan selanjutnya dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 490 nm terhadap blanko.

Analisis dan Pengolahan Data

Hasil perolehan aktivitas penangkapan radikal menggunakan DPPH dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali pengulangan. Data aktivitas penangkapan radikal DPPH dianalisis menggunakan persamaan regresi linier untuk memperoleh nilai IC₅₀. Kandungan fenolik total dinyatakan sebagai gram ekuivalen asam galat tiap 100 g berat kering (g EAG/100 g). Kandungan flavonoid total dinyatakan sebagai gram ekuivalen kuersetin tiap 100 gram berat kering ekstrak. Korelasi aktivitas antioksidan dengan kandungan fenolik dan flavonoid total di analisis menggunakan persamaan regresi.

3. Hasil dan Pembahasan

Enkapsulasi Sari Daging Buah Pala

Proses enkapsulasi ekstrak sari daging buah pala (MHP) menggunakan maltodekstrin dan susu skim dengan perbandingan (2:4) yang merupakan kombinasi karbohidrat dan protein mampu memberikan proteksi yang maksimal terhadap mikrokapsul, sehingga menghasilkan enkapsulan yang efisien dan optimal. Susu skim mengandung laktosa yang dapat menghasilkan proteksi yang baik untuk sampel. Hal ini dikarenakan glukosa dan galaktosa selaku penyusun dari laktosa adalah dua komponen yang lebih sederhana dan memiliki bobot molekul yang rendah sehingga dapat memasuki bagian dalam sel bakteri dan memberikan proteksi dari dua arah membran sel. Adapun bahan penyalut lainnya yang digunakan adalah maltodekstrin. Maltodekstrin digunakan karena mampu menghambat reaksi oksidasi, dapat membentuk suatu matriks dengan protein, minimnya kemungkinan terjadi pencoklatan setelah perlakuan, dapat menunda kristalisasi, daya ikat yang kuat, dan viskositas rendah, sehingga dapat memperpanjang masa simpan dari mikrokapsul yang dihasilkan. Selain itu, maltodekstrin juga memiliki granula yang bersifat hidrofilik. Yang mana molekul ini mempunyai begitu banyak gugus hidroksil, yang membuat maltodekstrin dapat mengikat air dalam jumlah yang besar (Sumanti, *et al.*, 2016). Setelah ditambahkan bahan penyalut dan dihomogenisasi, madu ditambahkan dengan tujuan untuk meningkatkan aktivitas antioksidan dari produk minuman herbal instan daging buah pala. Madu adalah komponen yang kaya akan senyawa fenolik dan flavonoid sehingga mampu membantu peningkatan aktivitas antioksidan dari suatu produk (Saputri dan Putri, 2017).

Aktivitas Antioksidan Minuman Herbal Pala (MHP)

Antioksidan adalah senyawa yang mampu untuk menunda reaksi oksidasi suatu molekul dengan cara menghambat proses inisiasi dari reaksi oksidasi itu sendiri. Beberapa metode telah dikembangkan dalam menguji aktivitas antioksidan seperti DPPH (1,1-diphenyl-2-

picrylhydrazyl), ABTS, FRAP (Ferric Reducing Antioksidan Power), CUPRAC (Cupric Reducing Antioksidan Capacity), dan ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Maesaroh *et al.* (2018) metode uji aktivitas antioksidan yang paling efektif dan efisien untuk sampel bahan alam yang mengandung struktur antioksidan adalah metode DPPH karena sensitivitasnya terhadap sampel yang diujikan dan tingginya daya kelat terhadap ion dalam meredam radikal bebas sehingga memperbesar hasil nilai aktivitas antioksidan. Oleh karena itu dalam penelitian ini metode DPPH digunakan sebagai metode untuk menganalisis aktivitas antioksidan dari minuman herbal pala (MHP). Metode DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) adalah metode analisis kuantitatif untuk mengukur kemampuan suatu sampel dalam meredam radikal bebas DPPH. Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode DPPH didasarkan pada perubahan warna dari ungu menjadi kuning. Hal ini menunjukkan bahwa elektron-elektron yang tidak berpasangan pada radikal DPPH telah di redam oleh adanya gugus-gugus penyumbang elektron dari sampel MHP. Aktivitas antioksidan MHP digambarkan dengan nilai IC₅₀ (Inhibition Concentration) yaitu konsentrasi yang dibutuhkan suatu sampel untuk meredam 50% radikal bebas DPPH. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hubungan antara variasi konsentrasi madu MHP dengan daya penangkapan radikal bebas DPPH

Sampel (% Madu)*	IC ₅₀ (µg/mL)
5	224,953
10	54,558
15	31,791
20	23,791
25	21,204

Tabel 2. Hubungan antara kadar vitamin C dengan daya penangkapan radikal bebas DPPH

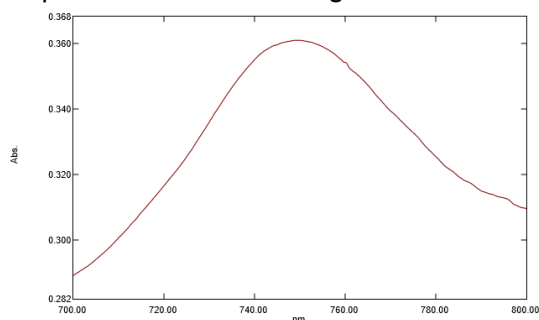
Kadar vitamin C (µg/mL)	Aktivitas antioksidan (%)*	IC ₅₀ (µg/mL)
0,2	40,679	0,568
0,4	45,576	
0,6	51,289	
0,8	54,467	
1	62,113	

Berdasarkan Tabel 1, aktivitas antioksidan MHP semakin besar seiring dengan penambahan konsentrasi madu. MHP dengan penambahan madu 25% menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Namun, masih lebih rendah dibandingkan dengan vitamin C yang memberikan nilai IC₅₀ yakni sebesar 0,568 µg/mL. Semakin rendah nilai IC₅₀ maka semakin tinggi aktivitas antioksidan dan apabila IC₅₀ < 50 maka dikategorikan memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat. Meskipun nilai IC₅₀ pada produk minuman herbal instan daging buah pala lebih tinggi dibandingkan nilai IC₅₀ pada vitamin C, keduanya masih dalam kategori antioksidan yang

sangat kuat. Hal ini sesuai dengan penelitian yang telah dilakukan oleh Saputri dan Putri (2017) bahwa madu merupakan bahan alami yang memiliki aktivitas antioksidan sehingga dapat meningkatkan aktivitas antioksidan pada sampel minuman herbal pala. Namun, hal ini tidak mengartikan bahwa buah pala sendiri tidak memiliki aktivitas antioksidan, karena berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Antasionasti *et al.* (2021) buah pala tanpa penambahan madu masih memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong kuat dengan nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh sebesar 105,669 $\mu\text{g/mL}$.

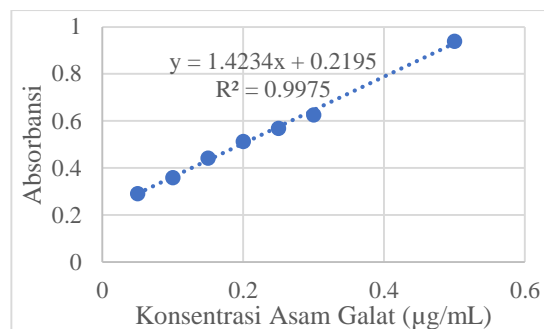
Kandungan Fenolik Total MHP

Kandungan fenolik total MHP menggunakan senyawa fenolik sebagai standar yaitu asam galat yang diukur pada spektrofotometer dengan panjang gelombang maksimum 750 nm seperti yang terlihat pada Gambar 3. Total fenolik dalam penelitian ini ditentukan dengan didasarkan pada prinsip dari metode Folin Ciocalteu (FC) yakni dengan menganalisa kemampuan dari suatu senyawa fenolik bereaksi dengan reagen FC yang mengandung asam fosfomolibdat dan fosfostuungtat, sehingga akan terbentuk senyawa kompleks molibdenum-stungtat biru. Seperti yang telah dilaporkan oleh Antasionasti dan Jayanto (2020) jika intensitas warna dari larutan semakin tua, maka kandungan fenolik total dari suatu senyawa yang diujikan semakin besar. Hal ini juga ditandakan dengan absorbansi dari sampel akan semakin meningkat.



Gambar 3. Panjang gelombang maksimum untuk pengukuran kandungan fenolik total MHP.

Penentuan kandungan fenolik total dalam sampel digunakan persamaan regresi linear kurva baku asam galat, yang mana hubungan antara konsentrasi asam galat terhadap data absorbansi akan menghasilkan persamaan garis kurva standar sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 4.



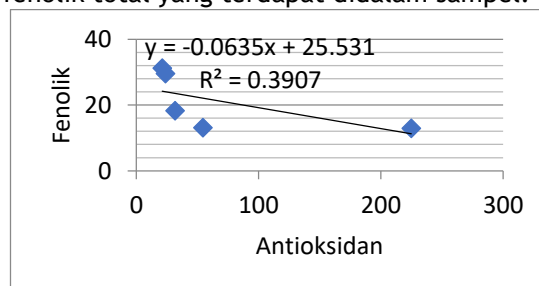
Gambar 4. Kurva baku asam galat untuk penentuan kandungan total fenolik.

Dari hasil pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis di dapatkan adanya hubungan yang kuat antara kadar asam galat dan absorbansi dengan nilai koefisien yang diperoleh sebesar 0,9975.

Tabel 3. Data hasil penentuan kandungan fenolik total

Kandungan Fenolik Total				
Sampel (%)*	(% b/b EAG)			% EAG rata-rata
	1	2	3	
Madu 5	12,730	12,955	13,067	12,917 ± 0,140
Madu 10	13,067	13,124	13,180	13,124 ± 0,046
Madu 15	18,238	18,294	18,238	18,257 ± 0,026
Madu 20	29,479	29,591	29,647	29,572 ± 0,070
Madu 25	31,895	31,952	29,647	31,165 ± 1,073

Berdasarkan Tabel 3, kandungan fenolik total terendah pada sampel 5%, yaitu (12,917 ± 0,140)% dan meningkat seiring bertambahnya konsentrasi madu pada sampel, sehingga kandungan fenolik total terbesar pada sampel 25%, yaitu (31,165 ± 1,073)% b/b EAG. Kandungan fenolik total berkontribusi dalam aktivitas antioksidan herbal pala, sehingga dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan pada sampel menurun seiring dengan berkurangnya kandungan fenolik total yang terdapat didalam sampel.



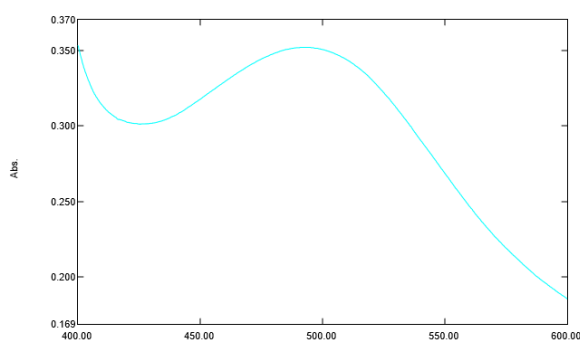
Gambar 5. Grafik korelasi kandungan total fenolik dan antioksidan MHP.

Pada Gambar 5, menunjukkan korelasi antara aktivitas antioksidan dan kandungan total fenolik dari minuman herbal pala (MHP), yang mana melalui analisis korelasi yang telah dilakukan nilai koefisien korelasi dihasilkan sebesar 0,3907. Berdasarkan pernyataan Sarwono (2006) jika nilai korelasi berada pada rentang > 0,25 - 0,5 maka antara kedua variabel memiliki korelasi yang

cukup kuat, dan jika nilai semakin mendekati 1,0 maka korelasi antara kedua variabel semakin kuat. Oleh karena itu, dengan nilai korelasi sebesar 39,07% dapat disimpulkan bahwa kandungan total fenolik dan aktivitas antioksidan memiliki korelasi yang cukup kuat.

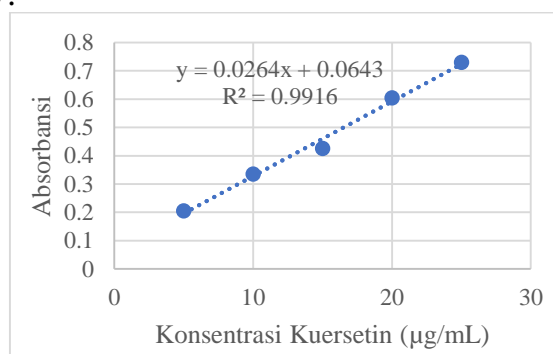
Kandungan Flavonoid Total MHP

Kandungan Flavonoid total MHP menggunakan senyawa kuersetin sebagai standar. Dikarenakan kuersetin digunakan sebagai senyawa standar maka kandungan total flavonoid dinyatakan dalam ekivalen kuersetin (EK). Absorbansi MHP dibaca pada spektrofotometri dengan panjang gelombang 490 nm, seperti yang terlihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Panjang gelombang maksimum untuk pengukuran kandungan flavonoid total MHP.

Penentuan kandungan flavonoid total dalam sampel digunakan persamaan regresi linear kurva baku asam galat, yang mana hubungan antara konsentrasi kuersetin terhadap data absorbansi akan menghasilkan persamaan garis kurva standar sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 7.



Gambar 7. Kurva baku kuersetin untuk penentuan kandungan total flavonoid

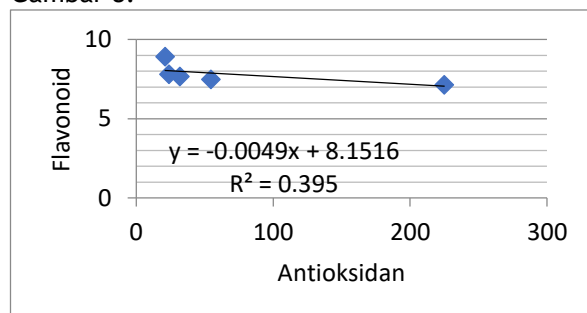
Dari hasil pengujian menggunakan spektrofotometri UV-Vis di hasilkan adanya hubungan yang kuat antara kadar kuersetin dan absorbansi dengan nilai korelasi koefisien yang diperoleh sebesar 0,9916.

Tabel 4. Data hasil penentuan kandungan flavonoid total

Kandungan Flavonoid Total				
Sampel (%)*	(% b/b EK)			% EK rata- rata
	1	2	3	
5	7,157	7,157	7,106	7,140 ± 0,024

10	7,359	7,460	7,611	7,477 ± 0,104
15	7,662	7,662	7,662	7,662 ± 0,000
20	7,814	7,814	7,814	7,814 ± 0,000
25	8,975	8,925	8,874	8,925 ± 0,041

Berdasarkan Tabel 4, kandungan flavonoid total terendah berada pada sampel dengan konsentrasi madu 5%, yaitu 7,140 ± 0,024 b/b EK dan meningkat seiring bertambahnya konsentrasi madu hingga yang terbesar pada 25%, yaitu 8,925 ± 0,041 b/b EK. Kandungan flavonoid total berkontribusi dalam aktivitas antioksidan herbal pala, sehingga dapat dilihat bahwa aktivitas antioksidan sampel menurun seiring dengan berkurangnya kandungan flavonoid total yang ada pada sampel. Korelasi kandungan flavonoid total dengan aktivitas antioksidan dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 8. Grafik korelasi kandungan total flavonoid dan antioksidan.

Pada Gambar 8, menunjukkan korelasi antara aktivitas antioksidan dan kandungan total flavonoid dari minuman herbal pala dimana nilai koefisien korelasi yang diperoleh adalah 39,5%, yang mana dapat disimpulkan bahwa kandungan total flavonoid dan aktivitas antioksidan MHP memiliki korelasi yang cukup kuat. Nilai kandungan total flavonoid yang dihasilkan adalah jumlah flavonoid yang termasuk ke dalam senyawa fenolik yang mempengaruhi aktivitas antioksidan. Flavonoid tidak memiliki korelasi yang sangat kuat dikarenakan dalam daging buah pala terdapat senyawa fenolik lainnya yang mempengaruhi aktivitas antioksidan seperti tanin. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fidriany, *et al* (2004) kandungan tanin dalam buah pala berkisar 12,34% - 15,30%, sementara untuk kadar tanin pada MHP telah diredam untuk meningkatkan sifat sensorik dari produk. Selain itu, senyawa lainnya yang terkandung dalam buah pala adalah myristicin dengan nilai yang diperoleh pada penelitian sebelumnya sebesar 14,83%. Yang mana myristicin adalah salah satu komponen utama dari buah pala yang berperan sebagai antioksidan, dan terkhusus pada daging buah pala myristicin memiliki aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan dengan bagian biji, akar dan batang (Ginting *et al.*, 2018). Oleh karena itu pada penelitian ini

nilai kandungan total flavonoid tidak memiliki korelasi yang sangat kuat, karena dipengaruhi adanya senyawa fenolik lain yang juga berperan dalam meningkatkan aktivitas antioksidan.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian di atas dapat disimpulkan:

- MHP memiliki aktivitas antioksidan yang lemah (Madu 5%), kuat (Madu 10%), dan sangat kuat (Madu 15%, 20%, dan 25%).
- MHP memiliki kandungan total fenolik dengan rata-rata $12,917 \pm 0,140$ (Madu 5%), $13,124 \pm 0,046$ (Madu 10%), $18,257 \pm 0,026$ (Madu 15%), $29,572 \pm 0,070$ (Madu 20%), dan $31,165 \pm 1,073$ (Madu 25%).
- MHP memiliki kandungan total flavonoid dengan rata-rata $7,140 \pm 0,024$ (Madu 5%), $7,477 \pm 0,104$ (Madu 10%), $7,662 \pm 0,000$ (Madu 15%), $7,814 \pm 0,000$ (Madu 20%), $8,925 \pm 0,041$ (Madu 25%).
- Terdapat korelasi antara kandungan total fenolik dan flavonoid dengan aktivitas antioksidan minuman herbal pala. Yang mana nilai koefisien korelasi untuk kandungan total fenolik sebesar 39,07% dan untuk kandungan total flavonoid sebesar 39,5%

5. Saran

Disarankan untuk penelitian selanjutnya dapat menambah instrumen untuk menganalisis pengaruh waktu simpan terhadap sampel minuman herbal instan daging buah pala, menguji aktivitas antimikroba, antifungal, atau aktivitas antiinflamasi dari minuman herbal, serta dapat melakukan karakteristik mutu bahkan pengujian analisis gizi terhadap minuman herbal pala menggunakan metode analisis yang ada seperti metode analisis kolorimetri.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustin, D. A., dan Wibowo, A. A. 2021. Teknologi Enkapsulasi : Teknik dan Aplikasinya. Jurnal Teknologi Separasi. 7(2): 202-209
- Amarowicz, R., Naczek, M., and Shahidi F., 2000. Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls, JAOCS. 77 : 957-61.
- Anastasya, T., P., Runtuwene, M., R., J., Suryanto, E. 2022. Aktivitas Antioksidan Ekstrak dan Fraksi Pelarut Dari Cangkang Biji Pala (*Myristica Fragrans* Houtt.). Chem. Prog. 15(1): 9-16
- Antasionasti, I., dan Jayanto, I. 2021. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Kayu Manis (*Cinnamomum burmani*) Secara In Vitro. Article. Universitas Udayana. Bali.
- Antasionasti, I., Datu, O, S., Lestari, U, S., Abdullah, S, 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
- Badarinath, A, V., Rao K, M., Chetty, C, M, S., Ramkanth, S., Rajan, T, V, S., dan Gnanaprakash, K. 2010. A Review On In-Vitro Antioxidant Methods : Comparisons, Correlations And Considerations. Inter Jl Pharma Technol Res. 2(2): 1276-1285.
- Direktorat Jenderal Perkebunan. 2019. Statistik Perkebunan Indonesia: Pala 2018-2020. Jakarta.
- Faliman, V. 2014. Pengaruh Konsentrasi Putih Telur Terhadap Sifat Fisikokimia Dan Organoleptik Sari Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt). Skripsi. Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Katolik Widya Mandala. Surabaya.
- Fidriany, Ruslan dan Ibrahim. 2004. Karakteristik Simplisia dan Ekstrak Daging Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt). Journal Acta Pharma-ceutica Indonesia. 29(1): 55-60.
- Fitriani, dan Diah. 2009. Sifat Fisika dan Kimia Air. Semarang : Universitas Dipenogero.
- Ginting, B., Maira, R., Mustanir, M., Helwati H., Desiyana, L. S. dan Mujahid, R. 2018. Isolation of Essensial Oil of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) and Antioxidant Activity Test With DPPH. Jurnal Natural. 18(1): 11-17.
- Ginting, B., Mustanir, M., Helwati, H., Desiyana, L., Eralisa. dan Mujahid, R. 2017. Antioxidant Activity of n-Hexane Extract of Numege Plants from South Aceh Province. Jurnal Natural. 17(1): 39-44
- Hanin, N, N, F., dan Pratiwi, R. 2017. Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paku Laut (*Acrostichum aureum* L.) Subur dan Steril di Kawasan Mangrove Kulon Progo, Yogyakarta. Jurnal Keanekaragaman Hayati Tropis dan Bioteknologi. 2(2): 51
- Indriaty, F. dan Assah, Y. F. 2015. Pengaruh Penambahan Gula Dan Sari Buah Terhadap Kualitas Minuman Serbuk Daging Buah Pala. Jurnal Penelitian Teknologi Industri. 7(1): 49- 60.
- Keskin, M., Keskin, S. dan Kolayli, S. 2021. Preparation of Phytopharmaceuticals for the Management of Disorders. The Development of Nutraceuticals and Traditional Medicine. Academic Press: 303-306.
- Khasanah, L., U., Anandhito, B., K., Rachmawaty, T., Utami, R. dan Manuhara, G., J. 2015. Pengaruh Rasio Bahan Penyalut Maltodekstrin, Gum Arab, Dan Susu Skim Terhadap Karakteristik Fisik Dan Kimia Mikrokapsul Oleoresin Daun Kayu Manis (*Cinnamomum burmannii*). Agritech. 35(4): 414-421.
- Maesaroh, K., Kurnia, D., dan Al Anshori, J. 2018.

- Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*. 6(2): 93
- Menteri Pertanian. 2019. Komposisi Buah Pala. BPPSDMP Kementerian Pertanian. Jakarta.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Sci. Technol*. 26(2): 211-21
- Parwata, I, O, A. 2018. Antioksidan : Universitas Udayana.
- Prayoga, E. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper Betle* L.) Dengan Metode Difusi Disk Dan Sumuran Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus Aureus*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. Jakarta
- Sahumena, M., H., Ruslin, Asriyanti, Djuwarno, N., E. 2020. Identifikasi Jamu yang Beredar di Kota Kendari menggunakan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Journal Syifa Sciences and Clinical Research*. 2(2): 65-72
- Sarwono, J. 2006. Metode Penelitian Kuantitatif dan Kualitatif. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Sasikumar, B. 2021. Nutmeg - Origin, diversity, distribution and history. *Journal of Spices and Aromatics Crops*. 30(2): 131-141
- Sembiring, B. 2007. Teknologi penyiapan simplisia terstandar tanaman obat. Balitro. Bogor.
- Sipahelut, D., G., Kastanja, A., Y. dan Patty, Z. 2020. Antioxidant activity of nutmeg fruit flesh-derived essential oil obtained through multiple drying methods. *EurAsian Journal of BioSciences*. 14: 21-26.
- Saputri, R., dan Putri, A, N. 2017. Potensi Ekstrak Etanol Herba Lampasau (*Diplazium esculentum* SWART) Sebagai Penyembuh Luka Sayat Pada Kulit Tikus. *Borneo Journal of Pharmascientech*. 1(1).
- Suhartati, T. 2017. Dasar-dasar Spektrofotometri. UNILA Institutional Repository. Lampung.
- Suloi, A, F., dan Suloi, N, F. 2021. Bioaktivitas Pala (*Myristica fragrans* Houtt) : Ulasan Ilmiah. *Jurnal teknologi pengolahan pangan*. 3(1): 11-18
- Wang, S, Y., dan Zheng, W. 2009. Antioxidant Activity and Phenolic Compounds in Selected Herbs. *J.Agric.Food Chem*. 49(11): 5165-70
- Wijaya, C., H., Nurtama, B. dan Afandi F., A. 2013. Effect of nanoencapsulation on the sensory, physicochemical, and functional quality of Java Tea base functional drink (*Orthosiphon aristatus* B1. Miq). Patent P00201304918. Bogor Agriculture University. Bogor.
- You Gan, R., Xu, X, R., Song, F, L., dan Li, H, B. 2010. Antioxidant Activity and Total

Phenolic content of medicinal plants associated with prevention and treatment of cardiovascular and cerebrovascular diseases. *J. of Medicinal Plants Research*. 4(22): 2436-44