

## KANDUNGAN FENOL TOTAL, B-KAROTEN DAN AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK FULI

Hasbullah, Sri Raharjo, Pudji Hastuti

Fakultas Pertanian, Universitas Khairun, Ternate  
Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

### ABSTRACT

*Mace is a part of nutmeg fruit (Myristica fragrans) which robe the seed. The color of mace range from orange to dark red is assumed comes from carotenoid substance groups have function as antioxidant like phenolic substance groups. This research aims to know total phenolic content,  $\beta$ -carotene content and antioxidant activity of mace extracts. Mace extract obtained from extraction by utilizing organic solvent with different of polarity level (ethanol 96%, ethanol pa., acetic ethyl pa. and n-hexane pa.). Each mace extract was measured its total phenolic content,  $\beta$ -carotene content and antioxidant activity. Antioxidant activity of extracts was determined based on its ability in scavenge the radical substances by using DPPH (2,2-diphenyl 1 picrylhydrazyl) method and declared as  $IC_{50}$  value. The result showed ethanol extract 96% have higher total phenolic content, followed by ethanol pa., acetic ethyl and n-hexane extracts, whilst the higher of  $\beta$ -carotene content belong to acetic ethyl pa. extract, followed by n-hexane, ethanol pa. and ethanol 96% extracts. Ethanol extract 96% has both the higher of total phenolic content and antioxidant activity with  $IC_{50}$  value 62.31 ppm, followed by ethanol pa., acetic ethyl pa. and n-hexane pa. extracts, respectively.*

**Keywords:** antioxidant, DPPH, extraction, mace, nutmeg.

### PENDAHULUAN

Fuli adalah salah satu bagian dari buah pala yang mempunyai nilai ekonomis tinggi selain biji buah pala. Tingginya nilai jual fuli ini tentu karena keberadaan komponen-komponen penting di dalamnya. Berdasarkan data dari Ditjen Perkebunan (2010), bahwa rata-rata produksi tanaman pala di Maluku Utara sebesar 2.780 ton/tahun. Hal ini berarti ada sekitar 111,2 ton/tahun fuli yang dihasilkan (dikonversi berdasarkan Tabel presentasi bagian buah pala dalam Rismunandar, 1990).

Nilai penting fuli diantaranya adalah karena kandungan senyawa-senyawa aktif yang diantaranya dapat berperan sebagai antioksidan. Senyawa antioksidan ini dapat diaplikasikan untuk produk-produk pangan maupun kosmetik. Aplikasi antioksidan ke dalam produk pangan umumnya diperuntukkan untuk kepentingan produk pangan itu sendiri yaitu untuk melindungi komponen nutrisi atau untuk memberikan efek kesehatan pada para konsumennya.

Penggunaan senyawa antioksidan ke dalam produk pangan dapat mencegah kehilangan komponen nutrisi seperti lemak (asam lemak tak jenuh), protein (asam amino) dan vitamin akibat reaksi oksidasi. Di sisi lain antioksidan dapat pula ditambahkan ke dalam produk pangan untuk memberikan efek kesehatan bagi tubuh manusia karena dapat mencegah serangan radikal bebas yang diketahui merupakan pemicu munculnya berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, jantung koroner, arterosklerosis, diabetes melitus dan penyakit berbahaya lainnya.

Reaksi oksidasi secara umum dapat dibagi menjadi dua macam, yaitu reaksi autooksidasi dan fotooksidasi. Reaksi autooksidasi berlangsung dengan melibatkan radikal bebas sedangkan reaksi fotooksidasi terjadi tanpa radikal bebas namun dipicu oleh adanya cahaya dan senyawa pemanen energi yang disebut sensitiser serta dapat merusak substrat 1500 kali lebih cepat dibanding autooksidasi (Pokorny, et al., 2001). Efek buruk oksidasi dapat dicegah dengan penggunaan senyawa antioksidan. Senyawa-senyawa antioksidan dapat berasal dari kelompok senyawa fenolik dan karotenoid. *Radical scavenger* adalah sebutan untuk senyawa antioksidan yang mencegah reaksi autooksidasi dan *quencher* adalah sebutan bagi senyawa antioksidan yang mencegah

reaksi fotooksidasi.

Senyawa-senyawa antioksidan banyak terdapat dalam jaringan tumbuhan dan dapat diperoleh dengan cara ekstraksi. Salah satu teknik ekstraksi adalah dengan menggunakan pelarut organik. Ekstraksi menggunakan pelarut ini mempunyai prinsip "*like dissolve like*", artinya senyawa tertentu akan ikut larut ke dalam pelarut jika keduanya mempunyai tingkat kepolaran yang sama atau mendekati.

Penelitian ini menggunakan beberapa jenis pelarut organik dengan tingkat kepolaran yang berbeda untuk memperoleh ekstrak fuli. Ekstrak fuli yang diperoleh diukur kandungan fenol total dan  $\beta$ -karoten yang diketahui berperan sebagai senyawa antioksidan serta akan diukur pula aktivitas antioksidannya berdasarkan aktivitas penangkapan radikal menggunakan metode DPPH. Dengan demikian, tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan fenol total,  $\beta$ -karoten dan aktivitas antioksidan ekstrak fuli.

## METODOLOGI PENELITIAN

### Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain fuli kering diperoleh dari petani di Desa Malikurubu Ternate. Etanol 96% (polar) dibeli dari PT. Brataco, Yogyakarta. Etanol pa. (polar) dengan kemurnian 99,9%, etil asetat pa. (semi-polar) dengan kemurnian 99,5%, n-heksan pa. (non-polar) dengan kemurnian 99,5% dari Merck, Darmstadt, Germany. *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl* (DPPH),  $\alpha$ -tokoferol dari Sigma-Aldrich, St. Louis, USA.

### Cara Kerja

Penelitian ini dilakukan secara bertahap dimulai dari tahap ekstraksi untuk memperoleh ekstrak fuli dan tahap analisa dan pengujian untuk mengetahui kandungan fenol total,  $\beta$ -karoten dan aktivitas antioksidannya.

#### **Preparasi ekstrak fuli**

Fuli kering dikecilkan ukurannya menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan ayakan 16 mesh untuk mendapatkan serbuk fuli. Serbuk fuli dimasukkan ke dalam pelarut organik dengan rasio serbuk fuli : pelarut 1:5 (g/mL) dan dimaserasi dalam ruang pendingin selama 24 jam. Pengadukkan campuran dilakukan sebelum dan sesudah maserasi selama 10 menit menggunakan *hotplate magnetic stirrer*. Penyaringan dilakukan menggunakan kertas Whatman no.1 dibantu dengan pompa vakum untuk memisahkan filtrat dan ampas serbuk fuli. Pelarut diuapkan dari ekstrak dengan *rotary vacuum evaporator* pada suhu kurang dari 40°C. Ekstrak yang diperoleh ditentukan rendemennya dan disimpan dalam lemari pendingin hingga digunakan pada tahap berikutnya.

#### **Penentuan Kandungan Fenol Total**

Kandungan fenol total ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu (Huang and Yen, 2002). Absorbansi diukur menggunakan Shimadzu UV 1601 UV-Vis Spectrophotometer pada panjang gelombang 750 nm. Kandungan fenol total dinyatakan dalam gram *gallic acid equivalen* (GAE)/100 g ekstrak.

#### **Penentuan Kandungan $\beta$ -karoten**

Kandungan  $\beta$ -karoten ekstrak diukur dengan metode Carr Price. Sebanyak 1,5 – 2 g sampel dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan etanol pa. dan dihomogenkan dengan *vortex mixer* selama 1 menit kemudian 10 mL petroleum eter ditambahkan dan dihomogenkan kembali selama 10 menit. Dipipet 1 mL larutan campuran dari film bagian atas ke dalam kuvet 1 cm dan ditera dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm dengan blanko petroleum eter.

Absorbansi larutan standar  $\beta$ -karoten artifisial ditera dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm dengan blanko aquades. Larutan standar  $\beta$ -karoten artifisial dibuat dengan melarutkan 20 mg kalium dikromat ke dalam aquades sampai volume 100 mL. Absorbansi larutan standar  $\beta$ -karoten equivalen dengan 5,6  $\mu$ g  $\beta$ -karoten

per 5 mL petroleum eter. Kandungan  $\beta$ -karoten dihitung dengan rumus:

$$\frac{(\text{Abs sampel} / \text{Abs standar}) \times 5.6 \times \text{mL PE}}{\text{g sampel}}$$

#### Penentuan Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan ekstrak fuli dilakukan dengan metode DPPH (Blois, 1985 dalam Raharjo and Suryanto, 2005) untuk melihat aktivitas penangkapan radikalnya. Ekstrak fuli dilarutkan dalam metanol pa. hingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi dari 25; 50; 75; 100; 150; 200; 250; 500; 750; dan 1000 ppm. Antioksidan tokoferol digunakan sebagai pembanding dan kontrol positif dilarutkan dalam metanol pa. hingga diperoleh larutan tokoferol dengan konsentrasi 25; 50; 75; 100; 150; 200 ppm. Larutan DPPH dibuat dengan melarutkan kristal DPPH dalam metanol pa. dengan konsentrasi 0,1 mM.

Larutan ekstrak fuli dan larutan tokoferol masing-masing diambil 1 ml dan direaksikan dengan 2 ml larutan DPPH selama 3 menit dalam tabung reaksi yang berbeda. Absorbansi masing-masing larutan sampel ditera menggunakan Shimadzu UV 1601 UV-Vis Spectrophotometer pada panjang gelombang 517 nm. Absorbansi larutan blanko diukur untuk menghitung % aktivitas penangkapan radikal (*radical scavenging activity* atau RSA). Larutan blanko dibuat dengan mereaksikan pelarut metanol pa. dengan larutan DPPH 0,1 mM selama 3 menit dalam tabung reaksi. RSA (%) dihitung dengan rumus:

$$\text{RSA (\%)} = (1 - \frac{\text{Abs sampel}}{\text{Abs blanko}}) \times 100$$

Konsentrasi sampel dan % RSA-nya diplot masing-masing pada sumbu x dan y pada persamaan regresi linear (nilai yang diplot dibatasi hanya sampai pada % RSA maksimal yang dapat dicapai oleh masing-masing sampel ekstrak fuli dan tokoferol). Persamaan tersebut digunakan untuk menentukan nilai  $IC_{50}$  (*inhibitor concentration 50%*) dari masing-masing sampel dengan nilai y sebesar 50 dan nilai x yang akan diperoleh sebagai nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menyatakan besarnya konsentersasi senyawa antioksidan (ekstrak fuli atau tokoferol) yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas sebesar 50% (Nurjanah, *et al.*, 2011).

#### Analisa Statistik

Data yang diperoleh dianalisis secara statistik menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan perbedaan antar perlakuan diuji dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Rendemen, Kandungan Fenol Total dan $\beta$ -Karoten Ekstrak Fuli

Tujuan pertama dari penelitian ini yaitu untuk mengetahui kandungan fenol total dan  $\beta$ -karoten dari masing-masing ekstrak fuli yang diekstraksi menggunakan pelarut organik dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Rendemen, kandungan fenol total dan  $\beta$ -karoten masing-masing ekstrak fuli ditampilkan dalam Tabel 1.

Tabel 1. Rendemen, kandungan fenol total dan  $\beta$ -karoten ekstrak fuli yang diperoleh dari ekstraksi menggunakan pelarut organik dengan tingkat kepolaran yang berbeda.

Ekstrak Fuli	Rendemen (% bk)	Fenol Total (g GAE/100 g ekstrak)	$\beta$ -karoten (mg/100 g ekstrak)
Etanol 96%	18,72±2,16 <sup>a</sup>	23,58±0,38 <sup>d</sup>	13,92±0,58 <sup>a</sup>
Etanol pa.	29,78±1,75 <sup>b</sup>	20,17±0,52 <sup>c</sup>	70,97±0,08 <sup>b</sup>
Etil asetat pa.	42,56±2,95 <sup>d</sup>	18,75±0,25 <sup>b</sup>	90,31±0,69 <sup>d</sup>
n-heksan pa.	35,08±3,81 <sup>c</sup>	13,42±0,38 <sup>a</sup>	77,18±0,63 <sup>c</sup>

Huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata pada taraf signifikansi 95%.

Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa rendemen ekstrak tertinggi diperoleh dengan pelarut etil asetat pa. disusul n-heksan pa., etanol pa. dan etanol 96%. Tingkat rendemen hasil ekstraksi dari masing-masing pelarut menggambarkan kesesuaian tingkat polaritas komponen yang ada pada fuli dengan pelarut yang digunakan karena seperti yang telah diketahui bahwa pada dasarnya suatu bahan akan mudah larut dengan pelarut yang polaritasnya sama (Sudarmadji *et al.*, 1989). Bila ada kesamaan dalam sifat-sifat kelistrikan, misalnya konstanta dielektrik yang tinggi antara *solute-solvent* maka gaya tarik antara keduanya kuat dan bila tidak ada kesamaan maka gaya tarik keduanya lemah. Pemanfaatan pelarut organik untuk keperluan ekstraksi lebih kepada pertimbangan solubilitas komponen yang akan diekstrak (Durrans, 1950).

Hasil penelitian Salamah *et al.* (2008) pada kijang Taiwan (*Anadonta woodiana*) menunjukkan bahwa maserasi dengan jenis pelarut yang berbeda akan menghasilkan rendemen ekstrak yang berbeda pula. Hasil ekstraksi ditentukan oleh beberapa faktor, antara lain kondisi alamiah senyawa tersebut, metode ekstraksi, ukuran partikel sampel, kondisi dan waktu penyimpanan, lama waktu ekstraksi, serta perbandingan jumlah pelarut terhadap jumlah sampel (Harborne, 1987; Darusman *et al.*, 1995 dalam Nurjanah *et al.*, 2011).

Menurut Vargas dan Lopez (2003), karotenoid larut dalam pelarut non polar. Meskipun demikian, senyawa-senyawa yang termasuk dalam golongan karotenoid memiliki polaritas yang berbeda-beda. Karoten dapat larut pada pelarut non polar seperti n-heksan dan tetrahidrofur, sedangkan xanthofil larut pada pelarut yang lebih polar seperti metanol dan etanol (Gokmen, *et al.*, 2009).

Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan bahwa kandungan  $\beta$ -karoten lebih tinggi pada ekstrak etil asetat dan n-heksan daripada ekstrak etanol pa. dan etanol 96%. Seperti yang telah diketahui bahwa senyawa-senyawa dari kelompok karotenoid larut dalam pelarut non polar. Pelarut n-heksan dan etil asetat masuk dalam kelompok pelarut non-polar sedangkan etanol masuk dalam kelompok pelarut polar (Anonim, 2010). Hasil sebaliknya diperoleh untuk kandungan fenol total, dimana yang tertinggi terdapat pada ekstrak etanol 96% disusul ekstrak etanol pa., etil asetat pa. dan n-heksan pa.. Menurut Peri dan Pompei (1971), kandungan fenol total dapat diperoleh dari jumlah komponen fenol seperti *simple phenolic*, *non tannin flavan* dan *condensed tannins*.

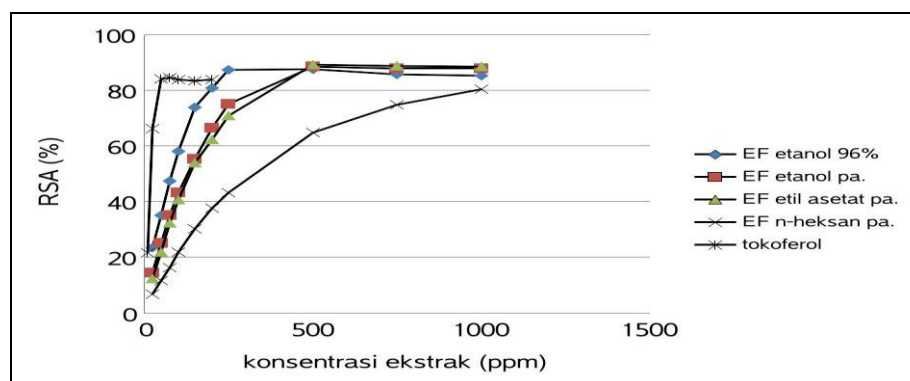
#### **Aktivitas Antioksidan (*Radical Scavenging Activity*) Ekstrak Fuli**

Buah dan sayuran kaya akan sumber fitokimia seperti karotenoid, flavonoid, dan komponen fenolik lain yang mempunyai *radical scavenging activity* yang bermanfaat dalam mengurangi resiko penyakit seperti kardiovaskular, kanker dan perkembangan penyakit degeneratif. Beberapa karotenoid mempunyai aktivitas antioksidan yang mempunyai kemampuan untuk melindungi tubuh dari penyakit kronis. Gabungan atau asosiasi karotenoid dengan antioksidan lain seperti vitamin E dapat meningkatkan aktivitasnya melawan radikal bebas (Paiva and Russell, 1999 dalam Fadilah, 2010).

Tujuan kedua dalam penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antioksidasi dari masing-masing ekstrak fuli yang diperoleh dengan berbagai jenis pelarut. Aktivitas antioksidasi ekstrak fuli ditentukan dengan mengukur *radical scavenging activity* (RSA) dari masing-masing ekstrak. Berdasarkan hasil pengukuran RSA terlihat bahwa semua sampel ekstrak fuli memiliki kemampuan antioksidasi sebagai *radical scavenger*. Gambar 1 dan Tabel 2 menampilkan aktivitas antioksidasi ekstrak fuli.

Hasil pengujian RSA menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi sampel (ekstrak fuli dan tokoferol) yang ditambahkan maka semakin besar pula senyawa radikal (DPPH) yang dapat direduksinya. Meskipun demikian, masing-masing sampel antioksidan mempunyai kemampuan maksimal untuk dapat menangkap radikal bebas seperti yang terlihat pada Gambar 1 dan Tabel 2. Penggunaan yang berlebihan tidak memberikan pengaruh terhadap peningkatan kemampuan penangkapan radikal bebas bahkan dapat menyebabkan perubahan perannya dari antioksidan menjadi prooksidan. Aktivitas antioksidan tertinggi dimiliki oleh ekstrak etanol teknis 96% dengan nilai  $IC_{50} = 62.31$  ppm disusul ekstrak etanol pa., etil asetat pa. dan n-heksan pa. (Tabel 2). Nilai  $IC_{50}$  menyatakan besarnya sampel antioksidan (ekstrak fuli atau tokoferol) yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal bebas sebesar 50% (Nurjanah, *et al.*, 2011). Dengan demikian

semakin kecil nilai  $IC_{50}$  suatu senyawa antioksidan menunjukkan semakin besar kemampuannya untuk mereduksi senyawa radikal bebas (DPPH). Hasil yang diperoleh dalam penelitian ini menunjukkan adanya hubungan positif antara aktivitas antioksidan dan kandungan fenol total dari masing-masing ekstrak fuli (berbanding lurus). Hasil ini sesuai dengan beberapa penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa ekstrak tumbuhan seperti buah, daun dan sayuran mempunyai korelasi yang positif antara kandungan fenol total dan aktivitas antioksidasinya (Duh and Yen, 1997; Velioglu *et al.*, 1998; Hung and Yen, 2002; Raharjo and Suryanto, 2005).



Gambar 1. Grafik RSA ekstrak fuli (EF)

Tabel 2. Aktivitas antioksidasi ekstrak fuli

Sampel	RSA maks. (%)	Konsentrasi (ppm)	$IC_{50}$ (ppm)
EF etanol 96%	87.6	250	62.31
EF etanol pa.	88.68	500	105.48
EF etil asetat pa.	89.42	500	113.52
EF n-heksan pa.	80.56	1000	318.14
Tokoferol	84.28	50	23.25

RSA maksimal ekstrak fuli berkisar pada 80.56 – 89.42% yang dicapai pada konsentrasi  $\geq 250$  ppm. Sedangkan tokoferol sebagai kontrol positif memiliki RSA maksimal 84.28% pada konsentrasi yang lebih rendah yaitu 50 ppm. Meski memiliki kemampuan sebagai *radical scavenger* namun aktivitas ekstrak fuli masih lebih rendah dibanding dengan kontrol pembanding yaitu tokoferol. Hal ini diduga dipengaruhi oleh tingkat kemurnian ekstrak fuli yang rendah karena masih dalam bentuk ekstrak kasar. Dengan demikian untuk mendapatkan ekstrak dengan aktivitas antioksidasi yang lebih tinggi diperlukan pemurnian lebih lanjut.

## KESIMPULAN

Kandungan fenol total (g GAE/100 g ekstrak) dari ekstrak fuli yang diperoleh dengan berbagai pelarut, diurutkan dari yang tertinggi, yaitu ekstrak etanol 96% (23,58), ekstrak etanol pa. (20.17), ekstrak etil asetat pa. (18.75) dan ekstrak n-heksan pa. (13.42). Sedangkan kandungan  $\beta$ -karoten (mg/100 g ekstrak), diurutkan dari yang tertinggi yaitu ekstrak etil asetat pa. (90.31), ekstrak n-heksan pa. (77.18), ekstrak etanol pa. (70.97) dan ekstrak etanol 96% (13,92). Aktivitas antioksidan tertinggi dimiliki oleh ekstrak etanol 96% ( $IC_{50}$ = 62.31 ppm) diikuti oleh ekstrak etanol pa. ( $IC_{50}$ = 105.48 ppm), ekstrak etil asetat ( $IC_{50}$ = 113.52 ppm) dan ekstrak n-heksan ( $IC_{50}$ =318.14 ppm).

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 2010. Pelarut. <http://ms.wikipedia.org/wiki/pelarut>. [20 Mei 2011].  
Ditjen Perkebunan, 2010 dalam Saikat, B. 2011. Kajian Komposisi Kimia dan Potensi



- Antioksidan Sari Buah Pala Dengan Penambahan Rosella [Skripsi]. Ternate: Universtas Khairun.
- Duh PD, and Yen GC. 1997. Antioxidative Activity of Three Herbal Water Extracts. *Food Chemistry* 60: 639-645.
- Durrans TH. 1950. *Solvents*. Chapman and Hall, London.
- Gokmen V, Serpene A, and Fogliano V. 2009. Direct Measurement of The Total Antioxidant Capacity of Foods: The Quencher Approach. *Trends in Food Science and Technology* 20: 278-288.
- Hung and Yen, 2002. *Antioxidant Activity of Phenolic Compounds Isolated form Mesona procumbers* Hemsl. *J Agric Food Chem* 50: 2993–2997.
- Nurjanah, Izzati L, dan Abdullah A, 2011. Aktivitas Antioksidan dan Komponen Bioaktif Kerang Pisau (*Sollen spp*). *Ilmu Kelautan*. 16 (3) 119-124.
- Paiva and Russell, 1999 dalam Fadilah, 2010. Formulasi dan Aplikasi Mikroemulsi Lutein Untuk Menghambat Fotooksidasi Vitamin C dalam Sari Buah Apel. [Tesis]. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.
- Peri, C and Pompei C. 1971. Estimation of Different Phenolic Groups in Vegetable Extracts. *Phytochemistry* 10: 22187-2189.
- Raharjo S and Suryanto E. 2005. Anti-Autooxidative and Anti-Photooxidative Effects of Lemon Grass Extracts (*Cymbopogon citratus*). *Indonesian Food and Nutrition Progress* 12 (1): 7-13.
- Rismunandar, 1990. *Budidaya dan Tata Niaga Pala*. Penebar Swadaya, Jakarta.
- Salamah, E, Ayuningrat E, dan Purwaningsih S. 2008. Penapisan Awal Komponen Bioaktif dari Kijing Taiwan (*Anadonta woodiana* Lea.) sebagai Senyawa Antioksidan. *Buletin Teknologi Hasil Perikanan* 11(2): 119-132.
- Sudarmadji, S, Haryono B, dan Suhardi. 1989. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Penerbit Liberty, Yogyakarta.
- Vargaz, DF and Lopez OP. 2003. *Natural Colorants for Food and Nutraceutical Uses*. CRC Press, Washington DC.
- Velioglu, YS, Mazza G, Gao L, and Oomah BD. 1998. Antioxidant Activity and Total Phenolic in Selected Fruits, Vegetables, and Grain Products. *J. Agric Food Chem* 46: 4113-4117.