ISOLATION OF ANTIOXIDANT COMPOUNDS OF N-HEXANE EXTRACT OF NUTMEG (*Myristica fragrans* Houtt) LEAVES

Binawati Ginting, Siti Hadijah, Hira Helwati

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, 23111, Indonesia

Corresponding Author : binawati@chem.unsyiah.ac.id

Submit : 10 Oktober 2017 Accepted : 06 November 2017

ABSTRACT

The isolation of antioxidant active compounds from n-hexane extract of nutmeg leaves (*Myristica fragrans* Houtt) with diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) has been carried out. n-Hexane extract of nutmeg leaves (0.35%) was obtained by partitioning of methanol extract (535.7 g) using n-hexane solvent. Isolation of active compound of n-hexane extract with gravitational column chromatography gradient elution of n-hexane : ethyl acetate with ratio (9 : 1) – (7 : 3) obtained 7 mixed fraction of MFHD1 - MFHD 7. MFHD 2 fraction further isolated obtained MFHD 2.1. The nutmeg n-hexane extracts and their fractions showed strong antioxidant activity with IC₅₀ values <100 ppm except MFHD 6 fraction showed for IC₅₀ values of 114.95 ppm. The most potent antioxidant activity in MFHD 4 fraction with IC₅₀ value of 0.729 ppm (compared with vitamin C value of IC₅₀ 7,875 ppm as positive control). The GC-MS analysis of the MFHD 2.1 fraction shows the presence of sitostenone and eucalyptol compounds, both of which have been reported to have been isolated from several different plants and have antioxidant activity.

Keywords : Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt), leaves, n-hexane extract, DPPH, Antioxidant

PENDAHULUAN

Rempah-rempah merupakan bahan yang sering digunakan untuk menambah cita rasa pada masakan. Rempah-rempah sudah lama dikenal di Indonesia. Makanan sehari-hari masyarakat Indonesia mengandung paling tidak satu jenis rempah. Rempah punya arti lebih dari sekedar penambah rasa hidangan. Rempah tumbuhan obat juga berpotensi besar memerangi sederet panjang penyakit dan masalah kesehatan seperti kanker, jantung, diabetes melitus, dan arterosklerosis. Pemicu timbulnya penyakit-penyakit tersebut salah satunya adalah akibat radikal bebas [1].

Radikal bebas merupakan salah satu bentuk senyawa oksigen reaktif, yang secara umum diketahui sebagai senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan. Senyawa ini terbentuk di dalam tubuh dipicu oleh bermacam-macam faktor. Radikal bebas juga dapat terbentuk dari senyawa lain yang sebenarnya bukan radikal bebas tetapi mudah berubah menjadi radikal bebas. Misalnya hydrogen peroksida (H₂O₂), Ozon dan lain-lain. Senyawa tersebut sering diistilahkan sebagai senyawa oksigen reaktif (SOR) atau *Reactive Oxygen Species* (ROS) [2].

Untuk menanggulangi efek dari radikal bebas ini, secara alami tubuh mempunyai benteng yang dapat mencegah serangan radikal bebas

tersebut yaitu enzim (katalase) ataupun antioksidan yang berasal dari luar tubuh yang umumnya berasal dari makanan. Kegunaan utama dari antioksidan adalah menghentikan atau memutuskan reaksi berantai dari radikal bebas dengan cara menyediakan dirinya bereaksi dengan radikal bebas itu sendiri. Dengan kata lain, antioksidan dapat menyelamatkan sel-sel tubuh dari kerusakan, akibat serangan radikal bebas. Antioksidan dapat berasal dari alam maupun sintetik. Antioksidan alam lebih disukai karena efek sampingnya lebih kecil. Salah satu sumber antioksidan alam yang terdapat dalam tanaman adalah flavonoid yang bisa ditemukan pada beberapa tanaman dari Famili Zingiberaceae seperti rimpang kunyit (*Curcuma domestica*. Val), rimpang kencur (*Kaempferia galanga*. Linn), rimpang jahe (*Zingiber officinale*. Rosc), rimpang lengkuas (*Alpinia galang*. Linn, Willd), dan dari tanaman famili Myristicaceae seperti buah Pala (*Myristica fragrans*. Houtt) [1].

Nagja [3] dalam *MYRISTICA FRAGRANS : A COMPREHENSIVE REVIEW* menyatakan bahwasannya Pala memiliki berbagai aktivitas farmakologis seperti aktivitas pelindung hepato, aktivitas anti-oksidan, aktivitas peningkatan daya ingat, sitotoksitas, aktivitas afrodisiak, aktivitas anti-diabetes, aktivitas anti-depresi, efek hipolipidemik dan hipokolesterolemia, aktivitas

anti-mikroba, antibakteri, antiinflamasi, aktivitas anti karsinogenik, sifat penyedap dan aktivitas pestisida. Pada artikel tersebut penelitian aktivitas farmakologis dilakukan pada setiap bagian dari buah pala.

Ekstrak polifenol dari jahe, lada dan pala yang berasal dari Nigeria menunjukkan aktivitas antioksidan yang lebih baik dibandingkan dengan aktivitas antiglikasi dan aman untuk dikonsumsi. Adapun aktivitas antioksidan yang ditunjukkan oleh IC_{50} dari jahe, lada dan pala berturut-turut 0,07 mg/mL, 0,105 mg/mL dan 0,13 mg/mL. Minyak atsiri dari pala juga telah diuji aktivitas antioksidan dan antiangiogenik. Hasilnya terdapat aktivitas antioksidan minyak atsiri pala dengan nilai EC_{50} 181,4 µg/L.

Isolasi senyawa aktif antioksidan dari ekstrak metanol daun pala memberikan hasil ekstrak metanol daun pala mempunyai aktivitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} yaitu 36,31 ppm dan ekstrak kloroform daun pala mempunyai nilai IC_{50} = 28,30 ppm. Isolasi fraksi-fraksi aktif dari ekstrak kloroform daun pala dan hasilnya menunjukkan aktivitas antioksidan yang sangat kuat berturut-turut yaitu fraksi MFMD 4, fraksi MFMD 5, fraksi MFMD 6, MFMD 3 dan MFMD 2 dengan nilai IC_{50} masing-masing 26,590 ppm, 27,239 ppm, 29,639 ppm, 39,766 ppm dan 55,436 ppm [4]

Selain itu juga sudah dilakukan penelitian ekstrak *n*-heksana tanaman pala bagian akar, kulit batang, buah dan biji dengan hasil semua ekstrak tersebut mempunyai aktifitas antioksidan yang kuat dengan nilai IC_{50} berturut-turut yaitu 0,216 ppm, 63,755 ppm, 43,998 ppm dan 11,599 ppm [5].

Ekstrak *n*-heksana daun pala khususnya daun pala yang berasal dari daerah Aceh Selatan belum pernah diteliti. Oleh sebab itu perlu dilakukan ekstraksi senyawa metabolit sekunder daun pala dengan pelarut *n*-heksana dan mengukur aktivitas antioksidan ekstrak tersebut dengan metode Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH). Penelitian akan dilanjutkan dengan memisahkan komponen-komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak tersebut menggunakan kromatografi kolom. Pemisahan dengan kromatografi kolom akan dimonitoring dengan Kromatografi Lapisan Tipis (KLT). Fraksi – fraksi yang memiliki pola noda yang sama pada KLT digabungkan dan selanjutnya dilakukan pengujian aktivitas antioksidan dari setiap fraksi gabungan yang diperoleh.

METODOLOGI

Umum

Pada penelitian ini alat-alat yang dibutuhkan adalah, erlenmeyer, gelas ukur, labu ukur, gelas kimia, corong pisah, timbangan analitik, tabung reaksi, rak tabung, perangkat *vakumrotary evaporator*, peralatan Kromatografi Kolom Gravitasi, peralatan destilasi, pipet tetes, pipet mikro. Instrument yang digunakan UV visible (Model Shimadzu UV-160A),

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah: *n*-heksana teknis, pelarut organik p.a (*n*-heksana, etil asetat dan kloroform) untuk KLT, plat KLT, reagen Liberman-Bourchard (asam asetat glasial- $H_2SO_{4(P)}$), reagen Mayer (kalium tetra iodo merkurat), reagen Dragendorf ($Bi(NO_3)_3$) dan reagen Wagner (I_2 dalam KI), silika gel 60 (0,2 – 0,5 mm). Bahanyang digunakan untuk uji antioksidan adalah metanol p.a dan DPPH dan vitamin C.

Material Tumbuhan

Material tumbuhan pada penelitian ini adalah daun pala (*Myristica fragrans* Hout) yang di berasal dari desa Kampung Paya, kecamatan Kluet Utara, kabupaten Aceh Selatan

Pemisahan ekstrak *n*-heksana dari sampel tanaman

Tahap awal sebelum dilakukan pemisahan ekstrak, perlu dilakukan uji fitokimia pada sampel daun pala segar yang terdiri dari ujifenolik, terpenoid, steroid, dan saponin. Tujuannya agar dapat diperkirakan golongan senyawa yang terkandung dalam sampel daun pala. Setelah itu sampel daun pala sebanyak 10 Kg dikeringanginkan dan dihaluskan dengan blender sampai berupa serbuk dan diperoleh serbuk daun pala sebanyak 3,5 Kg, kemudian direndam (maserasi) dengan pelarut metanol selama 24 jam. Setelah 24 jam disaring untuk memisahkan ekstrak dan residu. Residu dimaserasi kembali berulang kali sampai diperoleh filtrat jernih. Ekstrak metanol dikumpulkan untuk dipekatkan dengan *rotatory evaporator* dan diperoleh ekstrak metanol pekat. Ekstrak metanol dipartisi dengan petroleum eter untuk menghilangkan klorofil dan lemak. Selanjutnya ekstrak metanol dipartisi kembali dengan *n*-heksana untuk memperoleh ekstrak *n*-heksana daun pala. Ekstrak *n*-heksana dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak *n*-heksana pekat. Ekstrak *n*-heksana diuji fitokimia dan aktivitas antioksidan.

Uji Antioksidan

Prosedur uji antioksidan ekstrak, uji antioksidan vitamin C dan perhitungan IC_{50} merujuk pada Ginting, [5]. Untuk mengetahui kekuatan aktivitas antioksidan dari ekstrak *n*-heksana daun pala maka perlu dilakukan uji aktifitas antioksidan dari vitamin C sebagai uji pembandingan, karena vitamin C merupakan senyawa dengan aktivitas antioksidan yang sangat tinggi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Tanaman Pala

Preparasi sampel daun pala dengan cara dikeringanginkan bertujuan untuk menghilangkan kandungan air dalam sampel. Sampel yang telah kering dihaluskan dengan tujuan agar permukaan sampel lebih luas sehingga pelarut dapat menembus dinding sel tumbuhan dan mempercepat proses ekstraksi senyawa metabolit sekunder. Maserasi dengan pelarut metanol bertujuan agar senyawa yang terkandung dalam tanaman tidak mudah rusak. Ekstrak

metanol pekat dipartisi dengan pelarut petroleum eter untuk menghilangkan klorofil dan lemak yang tidak diinginkan. Terakhir ekstrak metanol dipartisi dengan pelarut *n*-heksana untuk memperoleh ekstrak *n*-heksana daun pala. Dari 3,5 Kg serbuk daun pala kering diperoleh ekstrak metanol kasar sebanyak 535,7 g dengan rendemen 15,3% dari berat sampel daun pala kering. Sedangkan ekstrak *n*-heksana daun pala diperoleh sebanyak 1,8488 gram dengan rendemen 0,35% dari berat total ekstrak metanol kasar.

Uji fitokimia

Sampel daun pala segar dianalisis secara fitokimia untuk menentukan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam daun pala segar, adapun uji yang dilakukan adalah uji terpenoid, steroid, fenol dan saponin. Selanjutnya dilakukan uji fitokimia pada ekstrak *n*-heksana daun pala. Hasil uji fitokimia dari daun segar dan ekstrak *n*-heksana daun pala ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil uji fitokimia daun pala (*M. fragrans*) segar dan ekstrak *n*-heksana daun pala

Uji Fitokimia	Daun pala segar	Ekstrak <i>n</i> -heksana Daun pala
Alkaloid		
-Dragendorf	-	-
-Wagner	+	-
-Meyer	+	-
Steroid	-	-
Terpenoid	+	+
Flavonoid	+	+
Saponin	-	-

Keterangan: (+) menunjukkan hasil positif dan (-) menunjukkan hasil negatif

Berdasarkan Tabel 1 menunjukkan bahwa hasil uji fitokimia ekstrak *n*-heksana daun pala mengandung senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid, dan flavonoid sama seperti pada daun segar. Hal ini sesuai dengan penelitian Ginting [5] yang melaporkan bahwa hasil uji fitokimia ekstrak *n*-heksana bagian akar, kulit batang, buah dan biji tanaman pala juga mengandung senyawa metabolit sekunder golongan terpenoid dan flavonoid.

Uji aktifitas antioksidan ekstrak *n*-heksana daun pala

Pengujian aktivitas antioksidan dari ekstrak *n*-heksana daun pala menggunakan DPPH

dilakukan dengan membuat variasi konsentrasi ekstrak 25 ppm, 50 ppm dan 100 ppm. Sebagai kontrol positif digunakan vitamin C dengan variasi konsentrasi 3 ppm, 6 ppm, 9 ppm, 12 ppm dan 15 ppm. Aktivitas antioksidan dapat ditentukan berdasarkan nilai IC_{50} (*Inhibition Concentration*). Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana daun pala ditunjukkan pada Tabel 2 dan kurva hubungan % inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak *n*-heksana daun pala ditunjukkan pada Gambar 1.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana daun pala

Sampel	Absorbansi rata-rata	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	Nilai IC ₅₀ (ppm)
Ekstrak <i>n</i> -heksana	0,944	25	4,514	96,676
Daun Pala	0,896	50	14,142	
	0,372	100	56,971	

Ket : Abs. = Absorban

I = Inhibisi

Berdasarkan tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana daun pala mempunyai aktivitas antioksidan dengan nilai IC₅₀ 96,676 ppm.

Aktivitas antioksidan dapat dikategorikan sangat kuat, kuat, sedang dan lemah tergantung pada rentang nilai IC₅₀. Apabila nilai IC₅₀ < 50 ppm, dikategorikan sangat kuat, dalam range 50 ppm - 100 ppm dikategorikan kuat, dalam range 100 ppm - 150 ppm dikategorikan sedang dan dalam range 150 ppm - 200 ppm dikategorikan lemah (Molyneux, 2004). Berdasarkan table 4 maka aktivitas antioksidan ekstrak *n*-heksana daun pala dengan IC₅₀ dapat dikategorikan kuat. Nilai IC₅₀ sendiri dapat diartikan sebagai konsentrasi terkecil yang dapat menghambat 50% radikal bebas dalam hal ini DPPH (perubahan warna) [6].

Gambar 1. Kurva hubungan % inhibisi terhadap konsentrasi ekstrak *n*-heksana daun pala

Aktivitas Antioksidan Senyawa Hasil Isolasi Ekstrak *n*-heksana Daun Pala.

Setelah mengetahui bahwa ekstrak *n*-heksana daun pala memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, maka penelitian dilanjutkan dengan pemisahan komponen senyawa metabolit sekunder menggunakan kromatografi kolom gravitasi. Sebelumnya dilakukan penentuan eluen yang sesuai dengan cara membuat beberapa campuran eluen dan memonitor pemisahannya dengan KLT. Setelah itu diperoleh eluen dengan komposisi *n*-heksana : etyl asetat (9:1) dengan pemisahan paling baik. Dengan demikian pemisahan komponen dari ekstrak *n*-heksana daun pala diawali dengan eluen tersebut dan dilakukan secara gradien elusi sampai selesai

pada perbandingan eluen *n*-heksana : etyl asetat (7:3).

Fraksi-fraksi yang diperoleh dianalisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) untuk melihat pola noda dari masing-masing fraksi pada plat KLT menggunakan eluen *n*-heksana : etyl asetat (8:2). Fraksi dengan pola noda yang sama pada kromatogram digabung, sehingga diperoleh delapan fraksi gabungan yaitu fraksi MFHD 1 (*Myristica fragrans* Heksana Daun 1) sampai fraksi MFHD 7 (*Myristica fragrans* Heksana Daun 7). Fraksi-fraksi gabungan ini dipekatkan dan dilakukan analisis fitokimia. Sifat fraksi dan hasil uji fitokimia ekstrak kloroform daun pala dapat dilihat pada Tabel 3.

Sedangkan KLT dari ekstrak kasar *n*-heksana daun pala dan diikuti dengan setiap fraksi gabungan dapat dilihat pada gambar 2.

Berdasarkan tabel 3 dapat dilihat bahwa semua fraksi mengandung senyawa terpenoid dan fraksi MFHD 4 sampai MFHD 7 selain terdapat senyawa terpenoid juga terdapat senyawa flavonoid. Semua fraksi gabungan tersebut selanjutnya diuji aktivitas antioksidan dan bersamaan dengan uji antioksidan fraksi gabungan hasil pemisahan ekstrak *n*-heksana daun pala, juga dilakukan uji aktivitas antioksidan dari Vitamin C yang merupakan standart uji aktivitas antioksidan dengan hasil dapat dilihat pada table 4 dan gambar 3.

Gambar 2. Kromatogram KLT ekstrak kasar *n*-heksana daun pala diikuti dengan setiap fraksi gabungan dengan menggunakan eluen heksana : etyl asetat (8:2)

Tabel 3.Fraksi gabungan hasil kromatografi kolom ekstrak kloroform daun pala

No	Kelompok Fraksi	Berat Fraksi (mg)	Warna	Kandungan Senyawa
1	MFHD 1 (1-44)	14,99	Kuning	Terpenoid
2	MFHD 2 (45-59)	13,94	Kuning	Terpenoid
3	MFHD 3 (60-74)	5,48	Kuning kecoklatan	Terpenoid
4	MFHD 4 (75-137)	36,02	Hijau tua	Terpenoid, Flavonoid
5	MFHD 5 (138-157)	9,64	Hijau tua	Terpenoid, Flavonoid
6	MFHD 6 (158-176)	4,45	Hijau tua	Terpenoid, Flavonoid
7	MFHD 7 (176-225)	16,02	Hijau kemerahan	Terpenoid, Flavonoid

Tabel 4.Hasil uji aktivitas antioksidan fraksi MFHD 1 sampai fraksi MFHD 7 dan Vitamin C

Fraksi Kloroform Daun Pala	Abs.kontrol (DPPH)	Konsentrasi (ppm)	Abs. rata-rata	% Inhibisi	Nilai IC ₅₀ (ppm)
MFHD 1	0,997	25	0,952	4,513	92,676
		50	0,856	14,142	
		100	0,429	56,97	
MFHD 2	0,997	25	0,964	3,309	96,716
		50	0,901	9,623	
		100	0,452	54,66	
MFHD 3	0,997	25	0,944	5,316	88,060
		50	0,896	10,13	
		100	0,372	62,69	
MFHD 4	0,997	25	0,399	53,39	0,729
		50	0,354	58,64	
		100	0,294	65,65	
MFHD 5	0,997	25	0,574	32,94	87,958
		50	0,498	41,82	
		100	0,406	52,57	
MFHD 6	0,997	25	0,826	3,504	114,95
		50	0,723	15,54	
		100	0,493	42,41	
MFHD 7	0,997	25	0,788	7,943	98,767
		50	0,553	35,39	
		100	0,449	47,54	
Vitamin C	0,997	3	0,857	14,04	7,875
		6	0,739	25,87	
		9	0,264	73,52	
		12	0,133	8,666	
		15	0,103	89,67

Gambar 3. Grafik hasil uji aktivitas antioksidan fraksi MFHD 1 sampai fraksi MFHD 7

Berdasarkan tabel 4 maka dapat dilihat bahwa semua fraksi gabungan dari hasil pemisahan ekstrak *n*-heksana daun pala yaitu MFHD 1 sampai MFHD 7, aktif sebagai

antioksidan, dengan nilai IC_{50} bervariasi. Tingkatan kekuatan antioksidan jika dilihat dari nilai IC_{50} berdasarkan Molyneux [6], dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Kategori tingkatan kekuatan antioksidan fraksi-fraksi gabungan jika dilihat dari nilai IC_{50} berdasarkan Molyneux, 2004

No	Fraksi	IC_{50} (ppm)	Range tingkat kekuatan antioksidan	Kekuatan antioksidan
1	MFHD 1	92,676	50 - 100 ppm	Kuat
2	MFHD 2	96,716	50 - 100 ppm	Kuat
3	MFHD 3	88,060	50 - 100 ppm	Kuat
4	MFHD 4	0,729	<50 ppm	Sangat Kuat
5	MFHD 5	87,958	50 - 100 ppm	Kuat
6	MFHD 6	114,95	100 - 150 ppm	Sedang
7	MFHD 7	98,767	50 - 100 ppm	Kuat

Berdasarkan tabel 5 dapat dilihat bahwa semua fraksi gabungan hasil kromatografi kolom ekstrak *n*-heksana daun pala menunjukkan aktivitas antioksidan dengan tingkatan kekuatan antioksidan kategori sangat kuat sampai sedang, berturut turut dari yang sangat kuat yaitu MFHD 4 dengan IC_{50} 0,729 ppm, MFHD 5 dengan IC_{50} 87,958 ppm, MFHD 3 dengan IC_{50} 88,060 ppm, MFHD 1 dengan IC_{50} 92,676 ppm, MFHD 2 dengan IC_{50} 96,716 ppm, MFHD 7 dengan IC_{50} 98,767 ppm dan MFHD 6 dengan IC_{50} 114,95 ppm. Selanjutnya jika dibandingkan dengan aktivitas antioksidan dari standar vitamin C pada table 7, maka fraksi gabungan MFHD 4 (IC_{50}

0,729 ppm) memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dari vitamin C (IC_{50} 7,875 ppm).

Selanjutnya setiap fraksi gabungan diisolasi kembali untuk memperoleh senyawa murni. Hasil isolasi yang diperoleh diamati fasanya. Untuk senyawa yang fasanya bukan kristal selanjutnya di analisa dengan GC-MS. Sedangkan senyawa yang membentuk kristal tidak dapat dianalisa dengan GC-MS dan tidak bisa dilaporkan. Hasil analisa dengan GC-MS yaitu terdapat senyawa sitostenone dan eucalyptol dalam MFHD 2.1 yang merupakan hasil pemisahan lebih lanjut fraksi MFHD 2. Gambar struktur kedua senyawa tersebut dapat dilihat pada gambar 4.

Eucalyptol Sitostenone

Gambar 4. Struktur senyawa eucalyptol dan sitostenon.

Berdasarkan beberapa jurnal terkait senyawa Eucalyptol dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan [7,8,9]. Senyawa sitostenone juga telah dilaporkan memiliki aktivitas antioksidan [10, 11]. Adanya gugus OH dari masing-masing senyawa tersebut di atas diduga yang menyumbang aktivitas antioksidan dan bekerja secara sinergis. Mekanisme kerja penghambatan radikal bebas DPPH yaitu radikal

.H dari senyawa metabolit sekunder lebih mudah putus karena terikat dengan atom oksigen yang bersifat lebih elektronegatif sehingga .H dapat mengikat radikal bebas dari DPPH [5].

KESIMPULAN

1. Ekstrak *n*-heksana daun pala aktif sebagai antioksidan dengan nilai IC_{50} 96,676 ppm.
2. Hasil kromatografi kolom Ekstrak *n*-heksana daun pala diperoleh 7 fraksi gabungan yaitu MFHD 1, MFHD 2, MFHD 3, MFHD 4, MFHD 5, MFHD 6 dan MFHD 7 dengan berat masing-masing 14,99 g, 13,94g, 5,48g, 36,02g, 9,64g, 4,45g dan 16,02 g.
3. Semua fraksi gabungan aktif sebagai antioksidan dengan tingkatan kekuatan antioksidan kategori sangat kuat sampai kuat, berturut-turut yaitu : MFHD 4 dengan IC_{50} 0,729 ppm, MFHD 5 dengan IC_{50} 87,958 ppm, MFHD 3 dengan IC_{50} 88,060 ppm, MFHD 1 dengan IC_{50} 92,676 ppm, MFHD 2 dengan IC_{50} 96,716 ppm, MFHD 7 dengan IC_{50} 98,767 ppm dan MFHD 6 dengan IC_{50} 114,95 ppm.
4. Fraksi gabungan MFHD 4 dengan IC_{50} 0,729 ppm memiliki aktivitas antioksidan lebih kuat dari vitamin C dengan IC_{50} 7,875 ppm.
5. Isolasi fraksi MFHD 2 memberikan hasil MFHD 2.1 yang mengandung senyawa eucalyptol dan sitostenone, kedua senyawa tersebut dilaporkan telah diisolasi dari berbagai tumbuhan dan aktif sebagai antioksidan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah mendukung penelitian ini dengan memberikan saran dan masukan sehingga penelitian ini berjalan dengan lancar.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Putra, PD, Verawati, 2011, Analisa Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan dari Rempah Tumbuhan Obat Sumatra Barat, Scientia Vol.1 No.1, Februari 2011, ISSN : 2087-5045
- [2] Winarsi H, 2007, Antioksidan Alami & Radikal Bebas Potensi dan Aplikasinya Dalam Kesehatan, Penerbit Kanisius (Anggota IKAPI), Yogyakarta
- [3] Nagia, T, Vimal, K, Sanjeev, A, 2016, *Myristica fragrans* : A Comprehensive Review, International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science, ISSN-0975-1491.
- [4] Nurmilasari, Ginting, B, Helwati, H, 2017, Isolation of Antioxidant Compounds of Metanol Extract of Nutmeg Leaves

(*Myristica fragrans* Houtt), Jurnal Natural Vol.1, 2017, pISSN 1411-8513, eISSN 2541-4060.

- [5] Ginting, B, Mustanir, Hira H., Lidya S.D, Eralisa, Mujahid, R, 2017, Antioxidant activity of Hexane Extract Of Nutmeg Plants From South Aceh Province, Jurnal Natural Vol.1,
- [6] Molyneux, P, 2014, The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) For Estimating Antioxidant Activity, Original Article, Songklanakarin J, Sci, Technol., 204, 26(2) : 211-219.
- [7] Hui, L, He, L, Huan, L, XiaoLan, L, AiGuo, Z, 2010, Chemical Composition of Lavender Essential Oil its Antioxidant Activity and Inhibition Against Rhinitis-related Bacteria, African Journal of Microbiology research Vol. 4(4), ISSN 1996-0808 2010 Academic Journals.
- [8] Bayala, B, Bassole, NHI, Gnoula, C, Nebie, R, Yonli, A, Morel, L, Figueredo, G, Nikiema, BJ, Lobaccari, AMJ, Simpore, J, 2014, Chemical Composition, Antioxidant, Anti-Inflammatory and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils Of Plants From Burkina Faso, Open Access freely available online, Plos One
- [9] Solano, R, L, Breksa, PA, Torres, V, B, J, Escalante, A, M, Herwedie, BJ, 2017, Chemical Composition and Antioxidant Activity of Lippia alba Essential Oil Obtained by Supercritical CO₂ and Hydrodistillation, African Journal of Biotechnology, Vol. 16(17), ISSN. 1684-5315.
- [11] Li, TC, kao, LC, Li, TH, Huang, TS, Chen, YC, 2015, Secondary Metabolites From The Leaves of *Cinnamomum macrostemon* Hayata, Reasearc article, European Journal Of biomedical And Pharmaceutical Sciences, ISSN 2349-8870.
- [10] Liu, MC, Kao, LC, Wu, MH, Li, JW, Huang, TC, Li, TH, Chen, YC, 2014, Antioxidant and Anticancer Aporphine Alkaloids From The Leaves of *Nelumbo nucifera* Gaertn. Cv. *Rosa-plena*, Molecules, ISSN 1420-3049.