



Bioaktivitas Ekstrak Air dan Minyak Atsiri Fuli dari *Myristica fragrans* Houtt

Bioactivities of Water Extract and Essential Oil from the Mace of Myristica fragrans Houtt

Adit Widodo Santoso¹, Adelina Simamora², Kris Herawan Timotius¹

¹Research Department, Krida Wacana Christian University, Jakarta

²Department of BioChemistry, Faculty of Medicine, Krida Wacana Christian University, Jakarta

KATA KUNCI *Myristica fragrans; inhibisi α -glukosidase; antioksidan; antibakteri*

KEYWORDS *Myristica fragrans; α -glucosidase inhibition; antioxidant; antibacteria*

ABSTRAK Masyarakat Indonesia telah sejak lama memanfaatkan *M. fragrans* H. (pala) sebagai rempah-rempah dan penambah aroma pada makanan dan minuman. Secara tradisi, *M. fragrans* banyak dimanfaatkan untuk pengobatan berbagai kondisi medis, termasuk diabetes mellitus. Studi ini bertujuan untuk menguji bioaktivitas fuli dari *M. fragrans*, dengan menguji aktivitas antidiabetic, antioksidan, dan antibakteri. Ekstrak air (EA) dan minyak atsiri (MA) diuji efeknya terhadap enzim α -glukosidase secara *in vitro* dan terhadap radikal DPPH. Untuk kedua uji digunakan senyawaan standard sebagai pembanding. Kedua ekstrak juga diuji aktivitas antibakterinya terhadap enam jenis bakteri dengan metode difusi sumur. Kadar fenolik total EA lebih tinggi dibandingkan MA (47.84 dan 37.21mg GAE/100g berat kering), demikian juga dengan kadar flavonoid total EA (215.36 dan 30.12mg RE/100g berat kering). Kedua ekstrak memperlihatkan aktivitas penghambatan α -glukosidase yang baik, dimana EA memiliki aktivitas yang lebih kuat dibandingkan dengan MA (IC_{50} =1.86 dan 8.15mg/ml). Sejalan dengan hal itu, EA juga memperlihatkan aktivitas penghambatan radikal yang lebih kuat dibandingkan dengan MA (IC_{50} =1.51 dan 4.59mg/ml). Berdasarkan metode difusi sumur, hanya MA terdeteksi memiliki aktivitas antibakteri dengan zona inhibisi 1.03–1.30mm. Inhibisi terbesar diamati terhadap *Staphylococcus mutans*. Hasil penelitian mengindikasikan adanya bioaktivitas ekstrak air dan minyak atisiri dari fuli, sehingga dapat dikembangkan potensinya sebagai agen antidiabetic dan antioksidan.

ABSTRACT

Myristica fragrans Houtt (nutmeg) is used as a spice and flavour for food and beverages. It has been traditionally used to treat a number of medical conditions, including diabetes mellitus. The study was undertaken to scientifically validate the traditional use of mace from *M. Fragrans*. The objectives of this study were to evaluate α -glucosidase inhibition, antioxidant and antibacterial activities of water extract (WE) and essential oil (EO) from *M. fragrans* mace. Both WE and EO were evaluated for their α -glucosidase inhibitory activities in vitro and their antioxidant activities based on DPPH radical scavenging assay. Standard compounds were used for every test. Total phenolic and flavonoid contents of both extracts were also determined. The extracts were also tested for their antibacterial activities against six different bacteria by a well diffusion method. Both extracts showed inhibition activities against α -glucosidase, with WE showed stronger activity than EO (IC_{50} =1.86 and 8.15mg/ml). Good radical scavenging activities were observed for both extracts, with WE showed stronger activity than EO (IC_{50} =1.51 and 4.59mg/ml). WE showed higher content in phenolic than EO (47.84 and 37.21mg GAE/100g DW). Flavonoid content in WE was also higher than EO (215.36 and 30.12mg RE/ml). Based on the well diffusion method, only EO exhibited antibacterial activities, with inhibition zone in the range 1.03–1.30mm. The strongest activity was observed against *Staphylococcus mutans*. The results indicate WE and EO can be exploited further for pharmacological uses, in particular for their antidiabetic and antioxidant activities.

PENDAHULUAN

Bahan alam yang berasal dari tanaman semakin luas dimanfaatkan tidak hanya sebagai produk makanan dan bahan dasar kosmetik, tetapi juga dalam bidang farmasetikal. Beberapa dekade terakhir, sekitar 25% dari obat dagang dikembangkan dengan memakai bahan alam sebagai bahan. Banyak dari obat-obat ini digunakan untuk mengobati penyakit-penyakit kronik degeneratif dan penyakit infeksi (De Luca *et al.*, 2012). Beberapa penyakit yang dimaksud berhubungan dengan stress oksidatif yang menjadi penyebab utama kematian di dunia, misalnya penyakit-penyakit kronik degenerative (59.7%), diabetes (2%), dan penyakit infeksi (16.2%) (WHO, 2015). Pengobatan

terhadap penyakit-penyakit di atas tidak selalu efektif. Dalam banyak kasus telah dilaporkan resistensi terhadap bakteri tertentu, sehingga mengakibatkan prognosis memburuk. Demikian juga laporan mengenai efek samping obat.

Tanaman *Myristica fragrans* Houtt (pala), family: Myristicaceae, merupakan tanaman asli Indonesia, berasal dari kepulauan Maluku. Tanaman ini telah berhasil dibudidayakan di negara-negara Asia lain seperti India, Malaysia, Sri Lanka, dan Kepulauan Karibia, terutama Grenada dan Trinidad.

Correspondence:

Adit Widodo Santoso, Research Department, Krida Wacana Christian University, Jakarta
Email: researchmed@ukrida.ac.id

Pohonnya dapat tumbuh 9–12 meter dengan dahan bercabang. Buahnya berwarna kekuningan. Pada bagian dalam dari buah yang matang terdapat biji dan kulit ari yang menyelubungi biji yang disebut fuli. Pala umumnya digunakan sebagai bumbu masak dan pemberi aroma makanan dan minuman. Namun demikian, pala telah lama dimanfaatkan untuk mengobati berbagai jenis penyakit seperti diare dan gangguan ginjal. Penelitian sebelumnya melaporkan aktivitas antioksidan, antimikroba, antidiare, dan antiinflamasi, dan antidiabetik (Champasuri *et al.*, 2016; Shafiei *et al.*, 2012). Walaupun telah banyak dilakukan studi farmakologi berhubungan dengan *M. fragrans* H, tanaman ini belum sepenuhnya dipelajari, terutama studi yang berhubungan dengan minyak atsiri fuli dan ekstrak air fuli. Karenanya, tujuan dari penelitian ini adalah untuk menguji bioaktivitas dari ekstrak air (EA) dan minyak atsiri (MA) fuli dari *M. fragrans* H.

BAHAN DAN CARA KERJA

Fuli buah *M. fragrans* H diperoleh dari Pulau Halmahera (provinsi Maluku Utara) pada bulan Maret 2016. Spesimen diidentifikasi oleh salah satu penulis (KHT). Voucher specimen (KWF007) tersimpan di Laboratorium Herbal Medicine FK Ukrida. Reagens yang digunakan antara lain 2,2-difenil-1-pikril-hidrazil, 3,5-di-tert-butyl-4-hidroksi toluen, α -glukosidase dari ragi *Saccharomyces cerevisiae*, dan p-nitrofenil- α -D-gluko piranosida (Sigma-Aldrich (St. Louis, AS)), Acarbose (United States Pharmacopeia). Folin & Ciocalteu, dan asam galat (Santa Cruz Biotechnology (Dallas, AS)) dan asam askorbat (VWR BDH Prolabo Chemicals (Tingalpa,

Australia)). Pelarut yang digunakan ethanol (Smart Lab). Untuk uji antibakteri digunakan 6 jenis bakteri, yaitu: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Eschericia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PAO I, COWAN I, *Streptococcus mutans* ATCC 14721, dan *Chromobacterium violaceum*.

Fuli dicuci dengan air destilat dan dikeringkan dalam temperatur ruang. Fuli kering diserbukan dan disimpan dalam wadah tertutup pada suhu 4°C. Ekstrak air (EA) fuli disiapkan dengan merendam sebanyak 25 gran serbuk fuli dalam air panas (95°C) selama 30 menit sambil diaduk dan disaring. Hasil saringan digunakan untuk sampel uji. Minyak atsiri (MA) disiapkan dengan mendestilasi uap 2kg serbuk fuli kering.

Kandungan fenolik EA dan MA dari *M. fragrans* ditentukan secara spektrofotometri menggunakan metode Folin Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1965). Kandungan fenolik sampel ditentukan berdasarkan kurva standar asam galat dan hasil dinyatakan dalam mg GAE (gallic acid equivalent)/100g berat kering. Seluruh pengukuran dilakukan secara triplo.

Aktivitas inhibisi α -glukosidase EA dan MA ditentukan secara *in-vitro* menurut prosedur dalam literatur (Malapermal *et al.*, 2015). Sebagai substrat digunakan p-nitrofenil- α -D-glucopiranosida (1mM). Enzim α -glukosidase (0.5 unit/ml) berasal dari *Saccharomyces cereviceae*. Sebagai kontrol positif digunakan larutan acarbose (0.0625–4mg/ml). Aktivitas inhibisi α -glukosidase dinyatakan dalam nilai IC₅₀ (μ g GAE/ml)

Potensi antioksidan EA dan MA ditentukan berdasarkan metode pemadaman radikal DPPH (Brand-Williams *et al.*, 1995). BHT (1.67–

40µg/ml) digunakan sebagai kontrol positif. Aktivitas antioksidan dinyatakan dalam nilai IC₅₀ (µg GAE/ml).

Uji antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode difusi agar sumur. Digunakan enam strain bakteri yaitu *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Eschericia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* PAO I, COWAN I, *Streptococcus mutans* ATCC 14721, *Chromobacterium violaceum*, Agar Mueller-Hinton (OXOID CM0337) digunakan sebagai medium uji. Sebanyak 100µl suspensi bakteri (McFarland 0.5) diratakan pada permukaan agar. Permukaan agar dibuat sumuran 0.5cm dan diisi dengan 20µl ekstrak. Zona inhibisi diamati setelah inkubasi selama selama 24 jam pada 37°C.

Seluruh eksperimen dilakukan secara triplo dan hasil dinyatakan dalam rata-rata ± standar deviasi (SD). Perbedaan antara kedua ekstrak diuji menggunakan *student t-test* ($\alpha=0.05$) dengan program SPSS v 23.0.

Spektra ultraungu tampak diukur menggunakan spektrofotometer BioChrom Libra S-22. Pengukuran dilakukan pada panjang gelombang 210–700nm, menggunakan kuvet kuarsa.

HASIL

Ekstraksi serbuk fuli dari *M.fragrans* dengan menggunakan pelarut air memberikan rendemen sebanyak 10.42%. Sementara itu, destilasi uap terhadap serbuk fuli menghasilkan minyak atsiri dengan rendemen sebanyak 13.56%. Kandungan total fenolik dalam EA dan MA ditentukan menggunakan kurva standar asam galat (nilai korelasi linier $R^2=0.9976$) dan dinyatakan dalam mg GAE/100g berat kering. Sampel EA mengandung fenolik total lebih besar dibanding MA ($t=2.57$, $p<0.05$); 47.84 ± 0.60 dan 37.21 ± 0.24 mg GAE/100g. Kandungan total flavonoid ditentukan menggunakan kurva kalibrasi rutin (nilai korelasi linier $R^2=0.9999$) dan hasil dinyatakan dalam mg RE/100g berat kering. Kandungan flavonoid EA jauh lebih besar dibandingkan MA (215.36 ± 6.92 dan 30.12 ± 2.44 mg RE/100g berat kering).

Kedua ekstrak dapat menghambat kerja enzim α -glukosidase. Baik EA dan MA memperlihatkan aktivitas penghambatan yang bergantung pada konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin kuat penghambatan yang terjadi. Dalam studi ini diperoleh IC₅₀ untuk inhibitor komersial acarbose sebesar 0.82 ± 0.06 mg/ml.

EA dan MA memperlihatkan aktivitas inhibisi yang lebih lemah dibanding standard acarbose (1.86 ± 0.11 dan 8.15 ± 1.24 mg/ml).

Hasil pengujian penghambatan kerja enzim α -glukosidase lebih lengkap disajikan di table 1.

Tabel 1. Efek inhibisi ekstrak air dan minyak atsiri fuli dari *M. fragrans* H terhadap aktivitas α -glukosidase

	Konsentrasi (mg/mL)	Inhibisi (%)	IC ₅₀ (mg/mL)
Ekstrak air	0.52	10,26 ± 8.36	1.86 ± 0.11
	1.04	17.78 ± 4.18	
	1.30	20.47 ± 3.80	
	1,56	24.77 ± 7.60	
	1,82	44.12 ± 3.03	
	2,08	69.37 ± 1.90	
Minyak atsiri	2.40	33.35 ± 2.81	8.15 ± 1.24
	4.80	43.44 ± 5.79	
	7.20	46.98 ± 3.37	
	9.60	53.59 ± 2.07	
Acarbose			0.82 ± 0.06

Seperti terlihat pada Tabel 2, efek pemadaman radikal oleh EA dan MA bergantung secara linier dengan konsentrasi. Kedua jenis ekstrak menghasilkan aktivitas antioksidan

yang lebih lemah dibandingkan standard (asam askorbat dan BHT). EA mempunyai aktivitas antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan MA.

Tabel 2. Aktivitas pemadaman radikal DPPH oleh ekstrak air dan minyak atsiri fuli dari *M. fragrans*

	Konsentrasi (mg/mL)	Inhibisi (%)	IC ₅₀ prediksi (mg/mL)
Ekstrak air	0.07	2.57±1.08	1.51±0.13
	0.13	8.23±2.48	
	0.26	12.85±1.21	
	0.39	15.42±0.36	
	0.52	20.82±1.87	
	0.65	23.65±0.91	
	0.78	27.76±1.16	
Minyak atsiri	2.26	34.51±1.38	4.59±0.32
	4.52	54.81±1.49	
	9.05	73.93±1.22	
	11.31	83.94±0.18	
	13.57	89.53±0.13	
Ascorbic acid			0.053
BHT			0.021

Aktivitas antibakteri EA dan MA mula-mula diuji dengan mengukur diameter zona inhibisi (DZI) menggunakan metode difusi sumur. Terhadap keenam strain bakteri yang digunakan, EA tidak memperlihatkan aktivitas antibakteri. Namun demikian

MA memperlihatkan aktivitas antibakteri terhadap semua bakteri dengan zona inhibisi berkisar antara 1.03 sampai 1.30cm, dengan DZI paling tinggi terhadap *Streptococcus mutans* (Tabel 3).

Table 3. Aktivitas antibakteri minyak atsiri ekstrak air fuli *M. fragrans* Houtt.

Bakteri	DZI ^(a) (cm)	
	Minyak Atsiri	Ekstrak Air
Staphylococcus aureus	1.08	0
Staphylococcus Epidermidis	1.05	0
Eschericia Coli	1.03	0
Cowan 1	0	0
PAO 1	1.00	0

^(a)Diameter Zona Inhibisi

PEMBAHASAN

Hasil di atas mengindikasikan bahwa kandungan fenolik dan flavonoid sampel dipengaruhi oleh metode ekstraksi dan bahwa ekstraksi fuli menggunakan air efektif mengekstrak senyawaan polifenol. Kadar fenolik ekstrak air dari bagian fuli relatif sama dengan kadar fenolik dari bagian buah *M.fragrans*, seperti dilaporkan oleh peneliti sebelumnya (Gupta *et al.*, 2013). Komponen polifenol merupakan produk metabolisme sekunder. Komponen ini diketahui mempunyai beragam karakteristik seperti sifat pereduksi. Reaktivitas gugus ini berhubungan erat dengan sifat asam dari gugus fungsi fenolik dan karakter nukleofilik dari inti benzene (Paixão *et al.*, 2007). Studi terdahulu melaporkan terdapat korelasi positif dan signifikan antara kadar fenolik total dan kapasitas antioksidan (Velioglu *et al.*, 1998). Hasil ini sesuai dengan data

dari penelitian sebelumnya (Gao *et al.*, 2013; Shukla *et al.*, 2016). Didapat bahwa aktivitas inhibisi EA 4.4x lebih kuat dibandingkan dengan MA. Aktivitas inhibisi α -glukosidase yang didapat sejalan dengan kandungan polifenol dalam sampel. Penelitian sebelumnya telah melaporkan hubungan yang kuat antara aktivitas inhibisi α -glukosidase dan kadar fenolik total (Mai *et al.*, 2007). Dilaporkan juga bahwa senyawaan dengan struktur turunan asam galat dapat menghasilkan efek inhibisi terhadap α -glukosidase (Obloh *et al.*, 2015; Obloh *et al.*, 2016). Sejalan dengan hal tersebut, aktivitas inhibisi α -glukosidase kedua ekstrak dapat disebabkan oleh senyawaan fenolik di dalamnya. Hasil di atas mengkonfirmasi potensi EA dan MA sebagai agen antidiabetic. Perbedaan aktivitas pemadaman radikal bebas dengan metode DPPH antara EA dan MA disebabkan oleh perbedaan jenis komponen yang didapat sebagai akibat

dari perbedaan metode ekstraksi. MA mungkin mengandung lebih banyak senyawa yang berkemampuan antioksidan dikarenakan metode ekstraksi yang lebih tepat. Senyawa antioksidan umumnya bersifat non polar sebagaimana minyak atsiri yang bersifat non polar. Hasil tersebut sejalan dengan penelitian sebelumnya yang melapor-kan bahwa ekstrak fuli menggunakan methanol dan methanol 80% menghasilkan aktivitas jauh lebih kuat (IC_{50} 201.97 dan 160.9 μ g/ml) (Assa *et al.*, 2014; Sulaiman *et al.*, 2012). Sama seperti pengujian lainnya, uji kemampuan antibakteri MA terhadap sejumlah bakteri lebih unggul daripada EA. Perbedaan tersebut dimungkinkan karena perbedaan metode ekstraksinya yang berakibat pada perbedaan senyawa yang terkandung pada kedua jenis ekstrak tersebut. Senyawa-senyawa yang berkemampuan anti bakteri umumnya juga bersifat non polar.

SIMPULAN

Studi ini membuktikan adanya bioaktivitas ekstrak air dan minyak atsiri dari fuli *M. fragrans*. Aktivitas antidiabetik dan antioksidan ekstrak air lebih kuat dari minyak atsiri. Hanya minyak atsiri fuli diamati aktif menghambat pertumbuhan bakteri. Perpaduan aktivitas antidiabetik, antioksidan dan antibakteri dari kedua ekstrak menunjukkan bahwa kedua ekstrak berpotensi dikembangkan sebagai agen antidiabetik dan antioksidan.

KEPUSTAKAAN

Assa JR, Widjanarko SB, Kusnadi J, & Berhimpon S 2014. Antioxidant potential of flesh, seed and mace of

- nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). International Journal of ChemTech Research, 6(4), 2460-2468.
- Brand-Williams W, Cuvelier ME, & Berset C 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittelwiss Technol, 28(1), 25-30.
- Champasuri S, & Itharat A 2016. Bioactivities of ethanolic extracts of three parts (Wood, nutmeg and mace) from *Myristica fragrans* Houtt. J Med Assoc Thai, 99, S124-S130.
- De Luca V, Salim V, Atsumi SM, & Yu F 2012. Mining the biodiversity of plants: a revolution in the making. Science, 336(6089), 1658-1661.
- Dong HQ, Li M, Zhu F, Liu FL, & Huang JB 2012. Inhibitory potential of trilobatin from *Lithocarpus polystachyus* Rehd against α -glucosidase and α -amylase linked to type 2 diabetes. Food Chem, 130(2), 261-266.
- Gao J, Xu P, Wang Y, Wang Y, & Hochstetter D 2013. Combined effects of green tea extracts, green tea polyphenols or epigallocatechin gallate with acarbose on inhibition against α -amylase and α -glucosidase in vitro. Molecules, 18(9), 11614-11623.
- Gupta AD, Bansal VK, Babu V, & Maithil N 2013. Chemistry, antioxidant and antimicrobial potential of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). J Genet Eng Biotechnol, 11(1), 25-31.
- Mai TT, Thu NN, Tien PG, & Chuyen NV 2007. Alpha-Glucosidase Inhibitory and Antioxidant Activities of Vietnamese Edible Plants and Their Relationships with Polyphenol Contents. J Nutr Sci Vitaminol, 53(3), 267-276.
- Malapermal V, Botha I, Krishna SBN, & Mbatha JN 2015. Enhancing antidiabetic and antimicrobial performance of *Ocimum basilicum*, and *Ocimum sanctum* (L.) using silver nanoparticles. Saudi J Biol Sci.
- Oboh G, Agunloye OM, Adefegha SA, Akinyemi AJ, & Ademiluyi AO 2015. Caffeic and chlorogenic acids inhibit key enzymes linked to type 2 diabetes

- (in vitro): a comparative study. *J Basic Clin Physiol Pharmacol*, 26(2), 165-170.
- Oboh G, Ogunsuyi OB, Ogunbadejo MD, & Adefegha SA 2016. Influence of gallic acid on α -amylase and α -glucosidase inhibitory properties of acarbose. *J Food Drug Anal*, 24(3), 627-634.
- Paixão N, Perestrelo R, Marques JC, & Câmara JS 2007. Relationship between antioxidant capacity and total phenolic content of red, rosé and white wines. *Food Chem*, 105(1), 204-214.
- Shafiei Z, Shuhairi NN, Md Fazly Shah Yap N, Harry Sibungkil CA, & Latip J 2012. Antibacterial activity of *Myristica fragrans* against oral pathogens. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2012.
- Shukla S, Park J, Kim DH, Hong SY, Lee JS, & Kim M 2016. Total phenolic content, antioxidant, tyrosinase and α -glucosidase inhibitory activities of water soluble extracts of noble starter culture Doenjang, a Korean fermented soybean sauce variety. *Food Control*, 59, 854-861.
- Singleton V, & Rossi JA 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Vitic*, 16(3), 144-158.
- Sulaiman SF, & Ooi KL 2012. Antioxidant and anti food-borne bacterial activities of extracts from leaf and different fruit parts of *Myristica fragrans* Houtt. *Food Control*, 25(2), 533-536. doi: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.11.005>
- Velioglu Y, Mazza G, Gao L, & Oomah B 1998. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. *Journal of agricultural and food chemistry*, 46(10), 4113-4117.
- WHO 2015. World health statistics 2015. Geneva, Switzerland: World Health Organization.