

Isolasi dan Uji Aktivitas Antioksidan Minyak Atsiri Daging Buah Pala (*Myristica fragrans*)

Muh. Nasir¹, Eri Marwati^{2*}

^{1,2} Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Khairun,
Jl. Jusuf Abdurrahman Kampus II Gambesi Kota Ternate 97719, Indonesia

*Penulis Korespondensi. Email: erimarwati@unghair.ac.id

ABSTRAK

Pala dianggap sebagai bahan penting dari berbagai aplikasi industri mulai dari makanan hingga kosmetik. Produk farmasinya juga penting karena sifat antioksidan dan antimikrobanya. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa bioaktif *Myristica fragrans*. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengetahui aktivitas antioksidan minyak atsiri daging buah pala (*Myristica fragrans*). Sampel yang digunakan adalah daging buah pala (*Myristica fragrans*) di ambil dari Pulau Ternate, Maluku Utara. Minyak atsiri daging buah pala di isolasi menggunakan destilasi uap air dan aktivitas antioksidan diuji dengan metode DPPH. Semua data disajikan sebagai rata-rata \pm standar deviasi (SD) dan dilakukan tiga ulangan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi minyak atsiri daging buah pala yang diperoleh dengan randemen sebesar 0,32%. Secara organoleptis minyak atsiri daging buah pala yang diperoleh dari proses destilasi uap air memiliki kualitas yang memenuhi SNI, berupa cairan bening pucat sampai kekuningan dan memiliki bau khas. Uji fitokimia diperoleh minyak atsiri daging buah pala mengandung alkaloid, flavonoid dan steroid, serta tidak mengandung polifenol dan saponin. Semakin meningkatnya konsentrasi minyak atsiri maka nilai absorbansi dan persen inhibisi semakin meningkat sehingga diperoleh rata-rata nilai IC_{50} 49,34 ppm. Minyak atsiri daging buah pala dengan destilasi uap air diperoleh randeman 0,32 % dan memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong antioksidan kuat.

Kata Kunci:

Isolasi; Antioksidan; Minyak Atsiri; Daging Buah Pala

Diterima:
12-08-2023

Disetujui:
26-11-2023

Online:
31-12-2023

ABSTRACT

Nutmeg is considered an important ingredient of various industrial applications ranging from food to cosmetics. The pharmaceutical product is also important for its antioxidant and antimicrobial properties. Further research is needed to isolate and identify the bioactive compounds of *Myristica fragrans*. The aim of this research was to isolate and determine the antioxidant activity of the essential oil of nutmeg flesh (*Myristica fragrans*). The sample used was nutmeg flesh (*Myristica fragrans*) taken from Ternate Island, North Maluku. The essential oil of nutmeg flesh was isolated using water vapor distillation and the antioxidant activity was tested using the DPPH method. All data are presented as mean \pm standard deviation (SD) and were carried out in triplicate. The results of the research showed that the isolation of nutmeg essential oil obtained with a yield of 0,32%. Organoleptically, the essential oil of nutmeg flesh obtained from the steam distillation process has quality that meets SNI, in the form of a clear to rusty liquid and has a distinctive odor. Phytochemical tests obtained that the essential oil of nutmeg flesh contains alkaloids, flavonoids and steroids, and does not contain polyphenols and saponins. The

concentration of essential oil increases, the absorption value and percent inhibition increase so that an average IC_{50} value of 49,34 ppm is obtained. The essential oil of nutmeg flesh by steam distillation obtained a yield of 0,32% and has antioxidant activity which is classified as a strong antioxidant.

Copyright © 2023 Jsscr. All rights reserved.

Keywords:

Isolation; Antioxidant; Essential Oil; Nutmeg Flesh

Received: 2023 -08-12	Accepted: 2023 -11-26	Online: 2023 -12-31
---------------------------------	---------------------------------	-------------------------------

1. Pendahuluan

Pala dianggap sebagai bahan penting dari berbagai aplikasi industri mulai dari makanan hingga kosmetik. Produk farmasinya juga penting karena sifat antioksidan dan antimikrobanya [1]. Minyak atsiri daging buah pala dapat menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif [2]. Penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Muh. Nasir (2022) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daging buah pala memiliki diameter hambat paling besar terhadap *Candida albicans* [3]. Pala juga berguna sebagai stimulan dan antiinflamasi [4]. Dapat dipertimbangkan sebagai obat alternatif. Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa bioaktif *Myristica fragrans* dan kemampuannya untuk dijadikan obat dalam waktu dekat [5]. Manfaat pala menjadi pusat perhatian untuk dikembangkan menjadi bahan baku obat tradisional.

Komponen minyak atsiri pala bervariasi menurut asalnya: Indonesia (32 senyawa) [6]. Terdapat 27-38 kandungan kimia yang terdeteksi pada berbagai konsentrasi [7]. Senyawa kimia utama minyak pala adalah alfa pinene, sabinene, beta pinene, 3-carene, limonene, gamma terpinene, 4-terpineol, safrole, myristicine, eugenol, metil eugenol, isoeugenol, dan elimicine dengan senyawa yang berbeda komposisi untuk setiap jenis pala [8]. Minyak atsiri daun pala mengandung 7 komponen senyawa utama yaitu Limonene (25,73%), Diisooctyl Adipate (15,63%), α -Terpinolene (11,44%), delta. 3-Carene (10,79%), 1,3-Benzodioxole (8,06%), 3-Cyclohexene-1-ol (7,94%) dan Sabinene (7,70%) [9]. Komponen senyawa yang dominan pada daging buah dan fuli yaitu miristin, sabinen, α -pinen, β -pinen yang berkontribusi bagi aroma khas pada pala [10]. Uji fitokimia ekstrak daging buah tanaman pala diperoleh bahwa ekstrak daging buah pala mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin dan tannin [11]. Komponen kimia bagian tanaman pala sangat beragam yang dipengaruhi banyak faktor, termasuk tempat tumbuhnya.

Isolasi dan penelitian aktivitas antioksidan telah banyak dilakukan. Minyak pala yang diperoleh rendemen hasil penyulingan masing-masing sebesar 2,41% dan 3,66% untuk biji dan fuli [12]. Isolasi trimiristin diperoleh kristal putih dengan hasil sebesar 80,02% dan kemurnian mencapai 99,35% [13]. Aktivitas antioksidan minyak atsiri fuli diperiksa menggunakan uji radikal bebas (21,95 $\mu\text{g}/\text{mL}$), β -karoten dalam asam linoleat dan persen penghambatan dalam sistem asam linoleat (67,9%) [14]. Aktivitas antioksidan hasil minyak atsiri bunga pala dan buah mempunyai nilai IC_{50} lebih kuat dibandingkan bagian pala lainnya seperti biji, akar dan kulit pohon [15]. Korelasi aktivitas penangkapan radikal DPPH dengan kandungan total fenolik ekstrak daging *M. fragrans* masing-masing sebesar 95,91% [16]. Aktivitas antioksidan pada bagian tanaman pala memiliki aktivitas yang beragam. Banyak faktor yang mempengaruhi aktivitas antioksidan termasuk bagian tanaman dan tempat tumbuh tanaman pala. Penelitian ini merupakan penelitian lanjutan yaitu dengan mengisolasi minyak atsiri daging buah pala yang di Kota Ternate yang memiliki beragam khasiat termasuk

melakukan mengujian aktivitas antioksidannya. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengisolasi dan mengetahui aktivitas antioksidan minyak atsiri daging buah pala (*Myristica fragrans*).

2. Metode

Sampel yang digunakan adalah daging buah pala (*Myristica fragrans*) di ambil dari Pulau Ternate, Maluku Utara. Sampel dimasukkan dalam kantong plastik dan dibawa ke Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Khairun.

Bahan

Akuades (Pure water, Indonesia), amoniak (Katalis Datase Prima, Indonesia), arang aktif (Eagle Indo Pharma, Indonesia), asam asetat (Merck, Indonesia), asam sulfat (Merck, Indonesia), asam klorida (Merck, Indonesia), asetat anhidrat (Merck, Indonesia), besi (III) klorida (Katalis Datase Prima, Indonesia), bismuth sub nitrat (Merck, Indonesia), DPPH (Sigma Aldrich, Indonesia), daging buah pala (Kota Ternate, Indonesia), iodium (Katalis Datase Prima, Indonesia), kalium iodide (Merck, Indonesia), kloroform (Merck, Indonesia), magnesium (Merck, Indonesia), merkuri klorida (Merck, Indonesia), metanol p.a (Merck, Indonesia), natrium sulfat anhidrat (Katalis Datase Prima, Indonesia), dan vitamin C (Merck, Indonesia).

Isolasi Minyak Atsiri

Sebanyak 500 g sampel pala dimasukkan ke dalam labu destilasi, ditambahkan akuades sebanyak 1000 ml hingga seluruh daging buah pala terendam kemudian dirangkai alat destilasi (peralatan Stahl) dan suhu minyak 120°C. Destilasi selama 3 jam dihitung setelah air mendidih, minyak yang diperoleh ditampung ke dalam erlemeyer [17]. Ekstraksi minyak pala dipisahkan dari akuades menggunakan natrium sulfat anhidrat (Na₂SO₄) kemudian disaring untuk mendapatkan minyak atsiri pala murni [18].

Penentuan Karakteristik Minyak Atsiri

Analisis warna minyak dilakukan secara empiris, yaitu dengan mengamati kenampakan fisik minyak yang diperoleh melalui penyulingan. Minyak atsiri yang diperoleh diamati secara organoleptis dengan mengamati bentuk, warna, dan aroma. Dihitung persen randemen.

$$\% \text{ Randemen} = \frac{\text{Minyak atsiri (gram)}}{\text{Sampel (gram)}} \times 100\% \text{ [19].}$$

Uji Fitokimia

Alkaloid

Sampel dicampur dengan 5 ml kloroform dan 5 ml amoniak kemudian dikocok, dan dipisahkan. Ditambahkan 5 tetes asam sulfat 2 N pada masing-masing larutan, dan didiamkan, kemudian masing masing larutan ditambahkan dengan pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorf. Terbentuknya endapan jingga, cokelat, dan putih menunjukkan adanya alkaloid [20].

Flavonoid

Sampel tambahkan 2 tetes HCl pekat, kocok kuat-kuat, dan tambahkan bubuk magnesium. Sampel positif Flavonoid apabila terdapat buih yang pekat dan warna berubah menjadi jingga [20].

Polifenol

Sampel direaksikan dengan beberapa tetes larutan Fe (III) klorida 10%. Bila terbentuk warna biru tua, biru kehitaman atau hitam kehijauan menandakan adanya senyawa polifenol [21].

Saponin

Sampel diekstraksi dengan air panas, dikocok kuat dan dibiarkan selama 2 menit. Ditambahkan 2 tetes HCl 2 N, kocok kuat-kuat dan amati apakah busa yang terbentuk bertahan selama 10 menit. Sampel positif mengandung saponin apabila terdapat buih yang pekat dan konsisten selama 10 menit [20].

Triterpenoid dan Steroid

Sampel ditambahkan 5 mL kloroform dan 5 mL akuades. Dikocok dan didiamkan beberapa menit sampai terbentuk lapisan. Lapisan kloroform dilewatkan pada arang aktif dan digunakan untuk pemeriksaan terpenoid dan steroid dengan menambahkan asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Sampel positif mengandung terpenoid (triterpenoid) jika warnanya berubah menjadi merah atau coklat. Jika warna yang terbentuk biru, ungu atau hijau, sampel mengandung steroid [20].

Uji Aktivitas Antioksidan Total

Sebanyak 4 mL larutan DPPH 0,1 mM dimasukkan ke dalam masing-masing tabung berisi 50 μ L pembanding dan larutan uji, divortex selama 5 detik. Setelah 30 menit, larutan dibaca serapannya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Dihitung nilai persen inhibisi dan IC₅₀. Vitamin C digunakan sebagai pembanding (larutan standar).

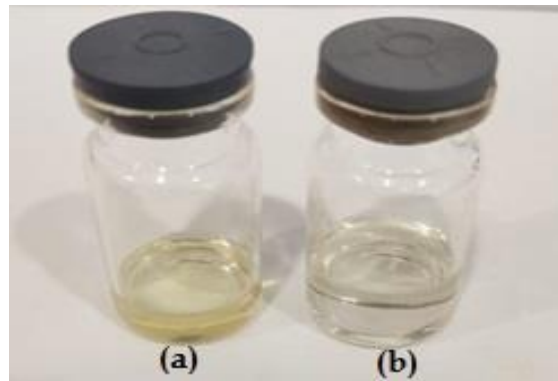
% inhibisi = $((AB - AE)/AB) \times 100$, dimana AB dan AE adalah absorbansi blanko dan sampel uji dan pembanding [20]. Nilai IC₅₀ diperoleh dari regresi linier dengan mengganti nilai y dengan 50 dari persamaan $y = a + bx$ [23].

Analisis Data

Semua data disajikan sebagai rata-rata \pm standar deviasi (SD) dan dilakukan tiga ulangan.

3. Hasil dan Pembahasan

Buah pala (*Myristica fragrans*) yang diambil di kebun Pala Kota Ternate dirajang terlebih dahulu, dipisahkan daging buah dengan biji dan fulinya. Daging buah pala selanjutnya dibuat dalam bentuk simplisia sebelum diisolasi minyak atsirinya. Hal ini dilakukan agar penarikan minyak atsiri daging buah pala lebih mudah dan optimal dibandingkan dalam kondisi segar yang banyak mengandung air.



Gambar 1. Minyak atsiri daging buah pala berwarna kuning (a) dan bening (b)

Hasil penelitian menunjukkan bahwa isolasi minyak atsiri daging buah pala yang diperoleh dengan randemen sebesar 0,32% (tabel 1). Secara organoleptis minyak atsiri daging buah pala yang diperoleh dari proses destilasi uap air memiliki kualitas yang memenuhi SNI, berupa cairan bening pucat sampai kekuningan dan memiliki bau khas (gambar 1). Aroma khas minyak atsiri daging buah pala karena komponen kimia yang terkandung didalamnya. Untuk menjaga komponen kimia tersebut dilakukan metode isolasi yang cocok agar tidak terjadi kerusakan selama proses isolasi.

Tabel 1. Karakteristik Minyak Atsiri Daging Buah Pala

Parameter	Hasil
Organoleptis	Cairan bening tidak berwarna sampai dengan kuning pucat, bau khas aromatik
Berat minyak	4,78 g
Randemen (rata-rata \pm SD)	0,32 % b/b \pm 0,06

Minyak atsiri daging buah pala mempunyai aroma minyak pala yang khas, sehingga secara umum memenuhi baku mutu minyak pala berdasarkan SNI 06-2388-2006 [24]. Minyak daging buah pala memiliki kandungan miristicin yang diatas standar mutu minyak pala dan walaupun jumlah minyak pala yang terdapat dalam daging buah pala yang sedikit [25]. Myristicin merupakan senyawa fenil propanoid yang ada dalam minyak atsiri dari pala [26]. Senyawa yang khas dan menjadi indikator dalam karakteristik aroma dari produk minyak yang bersumber dari pala [27]. Destilasi tekanan rendah adalah metode yang digunakan untuk mengisolasi miristicin. Untuk menghindari kerusakan senyawa akibat pemanasan tinggi maka dilakukan pengurangan tekanan digunakan agar suhu pemanasan tidak terlalu tinggi [28]. Destilasi uap air menghasilkan *yield* tertinggi [14].

Uji Fitokimia

Pengujian fitokimia menunjukkan minyak atsiri daging buah pala positif mengandung senyawa metabolit sekunder (tabel 2). Diperoleh minyak atsiri daging buah pala mengandung alkaloid, flavonoid, dan steroid, serta tidak mengandung polifenol dan saponin.

Tabel 2. Hasil uji fitokimia minyak atsiri daging buah pala

Uji fitokimia	Pereaksi	Hasil uji
Alkaloid	Mayer	(+)
	Wagner	(+)
	Dragendorf	(+)
Flavonoid	Etanol 95% + Serbuk Mg + HCl pekat	(+)
Polifenol	FeCl ₃ 10%	(-)
Saponin	H ₂ O	(-)
Steroid terpenoid	dan CHCl ₃ + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat	(+) Steroid

Alkaloid dan vitamin C merupakan unsur kimia dalam daging buah pala yang berfungsi sebagai antioksidan [29]. Terpenoid merupakan senyawa yang bersifat sebagai antioksidan [30].

Aktivitas Antioksidan Total

Pengukuran absorbansi sampel diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis, kemudian dilakukan perhitungan persen peredaman (inhibisi). Besarnya aktivitas antioksidan pada minyak atsiri ditentukan dari nilai *inhibitor concentration* 50% (IC₅₀). Hasil pengukuran aktivitas antioksidan dengan metode penangkal radikal bebas dengan DPPH menunjukkan bahwa minyak yang berasal dari daging buah pala memiliki aktivitas antioksidan. Pada tabel 3 menunjukkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi minyak atsiri maka nilai absorbansi dan persen inhibisi semakin meningkat sehingga diperoleh rata-rata nilai IC₅₀ 49,34 ppm. Nilai IC₅₀ menunjukkan bahwa minyak atsiri daging buah pala tergolong antioksidan kuat. Aktivitas antioksidan ini menandakan terdapatnya komponen kimia yang terkandung dalam minyak atsiri berkhasiat sebagai antioksidan diantaranya kandungan myristicin.

Tabel 3. Aktivitas antioksidan minyak atsiri daging buah pala

Pengulangan Ke-	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol DPPH	Absorbansi	% Inhibisi	IC ₅₀ (ppm)	Rata-Rata ± SD
1	60	0,809	0,701	13,35	49,31	
	80		0,701	13,35		
	100		0,708	12,48		
	120		0,709	12,36		
	140		0,721	10,88		
2	60	0,737	0,617	16,28	49,41	49,34 ± 0,06
	80		0,630	14,52		
	100		0,639	13,30		
	120		0,645	12,48		
	140		0,659	10,58		
3	60	0,819	0,715	12,70	49,30	
	80		0,723	11,72		
	100		0,725	11,48		
	120		0,726	11,35		
	140		0,736	10,13		

Vitamin C digunakan sebagai pembanding karena vitamin C merupakan antioksidan. Berdasarkan tabel 4 diperoleh rata-rata nilai IC_{50} 30,14 ppm yang menunjukkan bahwa vitamin C tergolong antioksidan kuat. Nilai IC_{50} pembanding vitamin C inilah menunjukkan bahwa minyak atsiri daging buah pala memiliki aktivitas penangkal radikal bebas DPPH yang hampir mendekati vitamin C. Berbeda dengan minyak atsiri yang nilai absorbansinya menurun seiring dengan peningkatan konsentrasi, pada pengujian vitamin C terdapat pula nilai absorbansi yang tidak linear pada pengulangan pertama. Nilai absorbansi yang berbeda disetiap pengulangan bisa saja dipengaruhi oleh pH larutan, suhu, atau zat-zat pengganggu.

Tabel 4. Aktivitas antioksidan vitamin C

Pengulangan Ke-	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Kontrol DPPH	Absorbansi	% Inhibisi	IC_{50} (ppm)	Rata-Rata \pm SD
1	5	0,637	0,546	14,29	49,45	
	10		0,557	12,56		
	15		0,553	13,19		
	20		0,567	10,99		
	25		0,559	12,24		
2	5	0,806	0,786	2,48	24,61	30,14 \pm 17,23
	10		0,787	2,36		
	15		0,805	0,12		
	20		0,815	-1,12		
	25		0,816	-1,24		
3	5	0,801	0,710	11,36	16,35	
	10		0,718	10,36		
	15		0,728	9,11		
	20		0,759	5,24		
	25		0,770	3,87		

Aktivitas antioksidan merupakan hasil dari beberapa kandungan senyawa fitokimia yang terdapat pada buah dan efek sinergisnya [31]. Metode uji aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal DPPH ditemukan paling efektif dan efisien [32]. Suatu sampel dikatakan baik sebagai antioksidan apabila dengan konsentrasi yang kecil sampel tersebut sudah dapat menghambat radikal bebas [33]. Menurunnya nilai absorbansi dapat dilihat secara visual dengan terjadinya perubahan warna dari warna ungu hingga terbentuk warna kuning [27]. Nilai IC_{50} yang lebih kecil mengindikasikan aktivitas antioksidan yang kuat [34]. Dalam hal ini miristicin dengan CH_2 yang terikat pada sistem aromatik dapat melepaskan H (asam) sehingga dapat bereaksi dengan DPPH. Kemampuan myristicin dalam melepaskan H (asam), memberikan pengaruh terhadap kekuatan myristicin sebagai antioksidan [35]. Minyak atsiri daging buah pala berfungsi sebagai reduktor dalam proses oksidasi dan memiliki aktivitas yang baik sebagai penangkal radikal bebas DPPH [36].

4. Kesimpulan

Minyak atsiri daging buah pala dengan destilasi uap air diperoleh randeman 0,32% dan memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong antioksidan kuat. Perlu

dilakukan penelitian aktivitas antioksidan dengan metode lain untuk dijadikan pembandingan.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada LPPM Universitas Khairun sebagai penyandang dana penelitian melalui skema PKUPT tahun 2023.

Referensi

- [1]. Naeem N, Rehman R, Mushtaq A, Ghania B. Nutmeg: A review on uses and biological properties. IJCBS. 2016;9:107-10. Available from: www.iscientific.org/Journal.html
- [2]. Agaus LR, Agaus VR. Manfaat Kesehatan Tanaman Pala (*Myristica fragrans*) (Health Benefits of Nutmeg (*Myristica fragrans*)). Medula. 2019;6.
- [3]. Nasir M, Marwati E. Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daging Buah dan Daun Pala (*Myristica fragrans*). Jurnal Sains dan Kesehatan. 2022;4(SE-1):67-76. <https://doi.org/10.25026/jsk.v4iSE-1.1691>
- [4]. Nurjanah S, Putri IL, Sugiarti DP. Antibacterial Activity of Nutmeg Oil. KnE Life Sciences. 2017;2(6):563. <https://doi.org/10.18502/cls.v2i6.1076>
- [5]. Chakraborty P, Abraham J. Bioactivity of *Myristica fragrans* Metanol Extract. Abraham et al World Journal of Pharmaceutical Research. 2015;4(9):1145-57. Available from: www.wjpr.net
- [6]. Periasamy G, Karim A, Gibrelibanos M, Gebremedhin G, Gilani A ul H. Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt.) Oils. In: Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety. Elsevier; 2015. p. 607-16. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416641-7.00069-9>
- [7]. Warsito MF. A Review on Chemical Composition, Bioactivity, and Toxicity of *Myristica fragrans* Houtt. Essential Oil. Indonesian Journal of Pharmacy. 2020;32(3):304-13.
- [8]. Saputro MA, Andarwulan N, Nur Faridah D. Physical characterization and essential oil properties of West Sumatra mace and nutmeg seed (*Myristica fragrans* Houtt) at different ages at harvest. J Pharmacogn Phytochem. 2016;5(6):371-6.
- [9]. Ginting B, Mustanir M, Helwati H, Desiyana LS, Eralisa E, Mujahid R. Antioxidant Activity of N-Hexane Extract of Nutmeg Plants from South Aceh Province. Jurnal Natural. 2017;17(1):39. <https://doi.org/10.24815/jn.v17i1.6969>
- [10]. Puspa OE, Syahbanu I, Wibowo MA, Nawawi H. Uji Fitokimia dan Toksisitas Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica fragans* Houtt) dari Pulau Lemukutan. Jurnal Kimia Khatulistiwa. 2017;6(2):1-6.
- [11]. Sirait SM, Enriyani R. Skrining Fitokimia dan Pengaruh Cara Pengeringan Terhadap Kualitas Ekstrak Etanol Daging Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt). WARTA AKAB. 2021;45(2):17-23.
- [12]. Rahardiyani D, Poluakan M, Moko EM. Physico-chemical Properties of Nutmeg (*Myristica fragrans* houtt) of North Sulawesi Nutmeg. Fullerene Journ Of Chem. 2020;5(1):23-31.

- [13]. Idrus S, Kaimudin M, Torry RF, Biantoro R. Isolasi Trimiristin Minyak Pala Banda Serta Pemanfaatannya Sebagai Bahan Aktif Sabun. *Jurnal Riset Industri*. 2014;8(1):23-31.
- [14]. Sari L, Lesmana D. Estraksi Minyak Atsiri Dari Daging Buah Pala (Tinjauan Pengaruh Metode Destilasi dan Kadar Air Bahan). In: *Seminar Nasional Sains dan Teknologi*. 2018
- [15]. Ginting B, Maira R, . M, Helwati H, Desiyana LS, Mujahid R. Isolation of Essential Oil of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt) and Antioxidant Activity Test With DPPH. *Jurnal Natural*. 2018;18(1):11-7. <https://doi.org/10.24815/jn.v18i1.6604>
- [16]. Antasionasti I, Datu OS, Lestari US, Abdullah SS, Jayanto I. 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*. 2021;4(4):301-10. <https://doi.org/10.33084/bjop.v4i4.2497>
- [17]. Ansory HM, Putri PKK, Hidayah NA, Nilawati A. Analisis Senyawa Minyak Atsiri Biji Pala Secara GC-MS dan Uji Aktivitas Antibakteri Terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. In: *Prosiding SNST ke-9*. 2018. p. 19-25.
- [18]. Dareda CT, Suryanto E, Momuat LI. Karakterisasi dan Aktivitas Antioksidan Serat Pangan dari Daging Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt). *CHEMISTRY PROGRESS*. 2020;13(1). <https://doi.org/10.35799/cp.13.1.2020.29661>
- [19]. Taharuddin, Yusuf M, Dewi KF. Pengaruh Penggunaan Microwave Sebagai Pretreatment Daging Buah Pala Pada Penyulingan Minyak Atsiri Dengan Metode Distilasi Uap Air. *Journal of Chemical Process Engineering*. 2020;5(1):69-75.
- [20]. Assa JR, Widjanarko SB, Kusnadi J, Berhimpon S. Antioxidant Potential of Flesh, Seed and Mace of Nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *International Journal of ChemTech Research CODEN (USA)*. 2014;6(4):2460-8.
- [21]. Widjanarko SB, Kusnadi J, Berhimpon S, Assa JR, Widjanarko SB. Antioxidant potential of flesh, seed and mace of nutmeg (*Myristica fragrans* Houtt). *Int J Chemtech Res*. 2014;6(4):2460-8. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/267035680>
- [22]. Martinez-Morales F, Alonso-Castro AJ, Zapata-Morales JR, Carranza-Álvarez C, Aragon-Martinez OH. Use of standardized units for a correct interpretation of IC50 values obtained from the inhibition of the DPPH radical by natural antioxidants. *Chemical Papers*. 2020;74(10):3325-34. <https://doi.org/10.1007/s11696-020-01161-x>
- [23]. Martiningsih NW, Widana GAB, Kristiyanti PLP. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Matoa (*Pometia pinnata*) Dengan Metode DPPH. In: *Prosiding Seminar Nasional MIPA*. 2016. p. 332-8.
- [24]. Sipahelut SG, Patty JA, Patty Z, Kastanja AY, Natalie V, Lekahena J. The antibacterial and antifungal activity of essential oil derived from the flesh of nutmeg fruit. Vol. 13, *EurAsian Journal of BioSciences Eurasia J Biosci*. 2019.

- [25]. Ansory HM, Sastrohamidjojo H, Purwono B. Perbandingan Kualitas Minyak Pala Hasil Isolasi dari Bagian-Bagian Buah Pala Berdasarkan Kadar Miristisin. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2015;12(2):127-36. Available from: <http://farmasiindonesia.setiabudi.ac.id/>
- [26]. Guntur G, Harlia H, Sapar A. Identifikasi Komponen Minyak Atsiri Daging Buah Pala (*Myristica Fragrans* Houtt.) Asal Pulau Lemukutan dan Uji Aktivitas Antiinflamasi Menggunakan Metode Stabilisasi Membran RBCs (Red Blood Cells). *Al-Kimia*. 2019;7(2). <https://doi.org/10.24252/al-kimia.v7i2.11276>
- [27]. Liunokas AB, Karwur FF. Isolasi dan Identifikasi Komponen Kimia Minyak Asiri Daging Buah dan Fuli Berdasarkan Umur Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt.). *Jurnal Biologi Tropis*. 2020;20(1):69-77. <https://doi.org/10.29303/jbt.v20i1.1651>
- [28]. Ansory HM, Fitriani IN. Efek Reaksi Isomerisasi Pada Miristisin Terhadap Potensinya Sebagai Tabir Surya Secara in-vitro. *Jurnal Farmasi Indonesia*. 2021;18(1):48-54.
- [29]. Suloi AF, Nur A, Suloi F. Bioaktivitas Pala (*Myristica fragrans* Houtt): Ulasan Ilmiah. *Jurnal Teknologi Pengolahan Pertanian*. 2021;3(1):11-8. Available from: www.google.com
- [30]. Abdulkadir WS, Djuwarno N, Ramadani D, Papeo P, Marhaba Z. Potensi Ekstrak Biji Pala (*Myristica fragrans* L) Terhadap Penyembuhan Luka Bakar pada Mencit (*Mus musculus*). *Journal Syifa Sciences and Clinical Research (JSSCR)*. 2023;5(1). <https://doi.org/10.37311/jsscr.v5i1.18996>
- [31]. Nuansa MF, Agustini TW, Susanto E. Characteristic and Antioxidant Activity of Edible film from Refined carrageenan with The Addition of Essential Oil. *J Peng & Biotek*. 2017;6(1):54-62. Available from: <http://www.ejournal-s1.undip.ac.id/index.php/>
- [32]. Maesaroh K, Kurnia D, Al Anshori J. Perbandingan Metode Uji Aktivitas Antioksidan DPPH, FRAP dan FIC Terhadap Asam Askorbat, Asam Galat dan Kuersetin. *Chimica et Natura Acta*. 2018;6(2):93. <https://doi.org/10.24198/cna.v6.n2.19049>
- [33]. Selonni F. The Effect of Drying Method on The Antioxidant Activity of The Flesh of Nutmeg. *Indo J Pharm Res*. 2021;1(1):1-6. Available from: www.jurnal.umsb.ac.id/index.php/IJPR
- [34]. Abdullah SS, Antasionasti I, Rundengan G, Abdullah RPI. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Biji dan Daging Buah Pala (*Myristica fragrans*) Dengan Metode DPPH. *CHEMISTRY PROGRESS*. 2022;15(2):70-5. <https://doi.org/10.35799/cp.15.2.2022.44489>
- [35]. Ansory HM, Sari EN, Nilawati A, Handayani S, Aznam N. Sunscreen and Antioxidant Potential of Myristicin in Nutmeg Essential Oils (*Myristica fragrans*). *Advances in Health Sciences Research*. 2020;26:138-42.
- [36]. Sipahelut SG, Kastanja AY, Patty Z. Antioxidant activity of nutmeg fruit flesh-derived essential oil obtained through multiple drying methods. *EurAsian Journal of BioSciences Eurasia J Biosci*. 2020;14:21-6.