

## Phytochemical Screening And Determination Of Total Phenolic And Flavonoid Controls Of Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) Leaves From Banda District, Central Maluku Regency

Fitri Handayani Putri<sup>1</sup>, Burhanuddin Taebe<sup>2</sup>, Muhammad Iqbal<sup>3</sup>

<sup>1,3</sup>Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar, <sup>2</sup>STIFA Makassar

Corresponding Author

[Fitrihandayaniputri28@gmail.com](mailto:Fitrihandayaniputri28@gmail.com)

### ABSTRAK

Daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) merupakan tanaman yang memiliki berbagai khasiat seperti antibakteri, antiinflamasi karena memiliki beberapa kandungan kimia seperti kandungan phenolic flavonoid. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung serta penetapan kadar fenolik dan flavonoid total daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) asal Kecamatan Banda, Kabupaten Maluku Tengah. Simplisia daun pala di ekstraksi menggunakan etanol 70% dengan metode maserasi. Skrining fitokimia menggunakan pereaksi spesifik dengan perbandingan eluen yang sesuai. Penetapan kandungan fenolik dan flavonoid total berdasarkan pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 436 nm dan 766 nm. Hasil skrining fitokimia menunjukkan ekstrak etanol 70% daun pala mengandung senyawa alkaloid dengan nilai Rf 0,45; 0,2, flavonoid dengan nilai Rf 0,8; 0,2, fenolik dengan nilai Rf 0,36 dan terpenoid/steroid dengan nilai Rf 0,73; 0,64. Uji kandungan flavonoid total daun pala diperoleh 1,60723%, uji kandungan fenolik total daun pala diperoleh 5,334 %

**Kata Kunci:** Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.); Fenolik Total, Flavonoid Total; Skrining Fitokimia.

### PENDAHULUAN

Indonesia dengan kekayaan sumber daya alamnya telah mengenal pengobatan secara tradisional, yang berasal dari tumbuhan, hewan dan mineral. Terdapat banyak jenis tumbuhan di tanah Indonesia yang mempunyai khasiat untuk menyembuhkan suatu penyakit, biasanya tumbuhan tersebut disebut tumbuhan obat, dan banyak yang telah dibudidayakan atau ditanam di halaman rumah sebagai Tanaman Obat Keluarga (TOGA) (BPOM 2018).

Tanaman pala (*Myristica fragrans* Houtt.) adalah tanaman yang banyak tumbuh di Indonesia. Tanaman ini berasal dari pulau Banda yang dapat tumbuh baik di daerah tropis, tidak hanya di Indonesia tanaman ini juga tumbuh di Amerika, Asia dan Afrika. Tanaman ini termasuk dalam suku Myristiceae dan marga *Myristica* (Moningka et al. 2020).

Provinsi Maluku memiliki luas areal pala mencapai 31.675 ha dengan produksi mencapai 5.774 ton atau sekitar 11% dari total produksi pala Indonesia (BPS Provinsi Maluku, 2018) Produksi pala Maluku tahun 2018 adalah 5.774 ton di bawah Maluku Utara 8.325 ton dan Aceh 6.273 ton (Ditjenbun, 2018).

Menurut penelitian yang telah dilakukan oleh Marzuki et al. (2008) menyebutkan bahwa ditemukan kandungan lemak serta protein dalam daging buah pala. Beberapa penelitian lainnya melaporkan adanya kandungan fitokimia pada daging buah pala diantaranya flavonoid dan alkaloid (Legoh, Runtunuwu, and Wanget 2020; Tanendri Arrizqiyani, Sri Sumiati 2018)

Berdasarkan uraian di atas maka pada penelitian akan dilakukan pada bagian daun guna menentukan kandungan fenolik dan flavanoid total. Berdasarkan latar belakang masalah di atas, maka dapat dirumuskan suatu masalah yaitu golongan senyawa apa saja yang terdapat dalam daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.), dan penetapan kandungan fenolik dan flavonoid totalnya. Tujuan penelitian adalah bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa apa saja dan untuk mengetahui kandungan fenolik dan flavanoid total daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.). Manfaat penelitian ini yaitu sebagai sumber data ilmiah dalam pembuatan sediaan yang memakai senyawa flavonoid dan fenolik total sebagai zat aktif sediaan.

## **METODE PELAKSANAAN**

### **Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Islam Makassar, dan Laboratorium Biokimia Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin pada bulan Mei-Juli 2023.

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah alat maserasi, alat penyemprot pereaksi, alat kaca laboratorium, chamber, detektor sinar UV 254 nm dan 366 nm, mikro pipet, neraca analitik, rotary evaporator, dan spektrofotometer UV-Vis. Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah air suling, aluminium (III) klorida ( $\text{AlCl}_3$ ), ammonia ( $\text{NH}_3$ ), asam galat, besi III klorida ( $\text{FeCl}_3$ ), daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.), dragendroff, etanol ( $\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$ ), etil asetat ( $\text{C}_4\text{H}_8\text{O}_2$ ), Folin-ciacceltu, kalium asetat ( $\text{CH}_3\text{COOK}$ ), kuersetin, lieberman-burchard, lempeng KLT, metanol ( $\text{CH}_3\text{OH}$ ), natrium karbonat ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ), n-heksan ( $\text{C}_6\text{H}_{14}$ )

### **Pengambilan dan Penyiapan Sampel**

Pengambilan sampel daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) di Kecamatan Banda, dengan cara mengambil daun yang masih segar kemudian dibersihkan dari kotoran yang melekat pada daun kemudian dibersihkan dari kotoran yang melekat pada daun menggunakan air mengalir. Daun yang telah dibersihkan kemudian di gunting-gunting,

dirajang dan diangin-anginkan selama 2 x 24 jam. Setelah kering, sampel diserbukan dan siap diekstraksi (Hasanuddin et al. 2022; Hasanuddin, Alim, and Fauzan n.d.)

### **Proses Ekstraksi Sampel**

Metode ekstraksi yang digunakan adalah metode maserasi. Sebanyak 300 g simplisia dimasukkan kedalam wadah maserasi, lalu dibasahi dengan cairan penyari etanol 70% sebanyak 200 mL dibiarkan selama 15 menit kemudian ditambahkan sisa pelarut hingga 1000 mL hingga simplisia terendam sempurna. Ditunggal dan dibiarkan selama 3 x 24 jam pada temperatur kamar terlindung dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk, lalu disaring. Ampas di maserasi sekali lagi dengan jumlah pelarut dan waktu yang sama pada saat maserasi. Hasil maserasi dikumpul, lalu diuapkan pelarutnya dengan rotapavor hingga diperoleh ekstrak kental, kemudian ekstrak kental tersebut ditimbang untuk mengetahui persen rendamennya (Alim et al. 2023; Tiana, Nur, Rusman, and Zam 2023)

### **Skrining Fitokimia dengan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)**

Ekstrak kental ditimbang sebanyak 0,2 gram, kemudian dilarutkan 5 mL etanol 70%. Setelah itu, lempeng berukuran 7 x 1 cm dengan batas atas 0,5 cm dan batas bawah 1 cm diaktifkan menggunakan oven dengan suhu 110°C. Kemudian, disemprotkan dengan masing-masing pereaksi

### **Identifikasi Senyawa Alkaloid**

Ekstrak ditotolkan pada lempeng yang telah diaktifkan menggunakan pipet mikro. Dielusi dengan eluen n-heksan : etil asetat (5:1). Noda diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm kemudian diamati secara visual. Setelah itu, lempeng disemprotkan dengan Dragendroff lalu dikeringkan di udara, positif mengandung alkaloid jika tampak bercak berwarna kuning coklat

### **Identifikasi Senyawa Flavonoid**

Ekstrak ditotolkan pada lempeng yang telah diaktifkan menggunakan pipet mikro. Dielusi dengan eluen etil asetat : n-heksana (3:2). Noda diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm kemudian diamati secara visual. Setelah itu, lempeng diuapi dengan ammonia hingga muncul warna kuning segera kemudian disemprotkan dengan aluminium klorida, positif mengandung flavonoid jika tampak noda berfluoresensi di bawah sinar UV 366 nm.

### **Identifikasi Senyawa Fenol**

Ekstrak ditotolkan pada lempeng yang telah diaktifkan menggunakan pipet mikro.

Dielusi dengan eluen etil asetat : n-heksana (3:1). Noda diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm kemudian diamati secara visual. Setelah itu, lempeng disemprotkan dengan besi III klorida, positif mengandung fenol jika tampak bercak berwarna hijau, coklat, atau hitam

#### **Identifikasi Senyawa Terpenoid**

Ekstrak ditotolkan pada lempeng yang telah diaktifkan menggunakan pipet mikro. Dielusi dengan eluen n-heksan : etil asetat (2:1). Noda diperiksa di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm kemudian diamati secara visual. Setelah itu, lempeng disemprotkan dengan Lieberman-Burchard lalu dipanaskan, positif mengandung terpenoid jika tampak bercak berwarna ungu.

#### **Penetapan Panjang Gelombang Maksimum**

Diambil salah satu konsentrasi dari larutan standar asam galat. Kemudian diukur absorbansinya dengan rentang panjang gelombang 600-800 nm. Nilai serapan tertinggi yang diperoleh yaitu 766 nm yang ditetapkan sebagai panjang gelombang maksimum.

#### **Penetapan Kandungan Senyawa Fenolik Ekstrak Daun Pala**

Ekstrak Daun Pala sebanyak 50 mg di larutkan dengan labu tentukur 10 mL dengan metanol sampai batas tanda selanjutnya dipipet 1 mL larutan tersebut untuk 3 replikasi. Dimasukkan dalam labu tentukur 10 mL, selanjutnya ditambahkan 0,4 mL pereaksi Folin-Ciocalteu 50%, 0,5 mL  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , di cukupkan dengan air suling dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang. Diukur absorbansinya dengan spektrofotometri visible pada panjang gelombang 766 nm. Kemudian kandungan fenolik total dihitung dengan memasukkan data absorbansi sampel kedalam persamaan garis rekresi linear dari kurva baku asam galat.

#### **Pembuatan Larutan Standar Kuarsetin**

Kuarsetin ditimbang sebanyak 100 mg lalu dilarutkan ke dalam 100 mL etanol hingga diperoleh kuarsetin 1000 ppm, kemudian diencerkan menjadi 100 ppm dengan cara memipet kuarsetin 1000 ppm sebanyak 1 mL kemudian ditambahkan etanol sebanyak 9 mL sehingga diperoleh kuarsetin 100 ppm, dari larutan ppm 100 ppm dipipet 0,1 mL, 0,2 mL, 0,4 mL, 0,8 mL, 1,6 mL, kemudian dicukupkan volumenya dengan etanol hingga 5 mL. Diperoleh konsentrasi 2 ppm, 4 ppm, 8 ppm, 16 ppm, 32 ppm. Diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer visibel pada panjang gelombang 436 nm

#### **Pembuatan Kurva Standar**

Kuarsetin kurva standar dibuat dengan cara menghubungkan konsentrasi larutan standar kuarsetin dengan hasil serapan yang diperoleh dari pengukuran dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 436 nm

### Penetapan Kandungan Flavanoid Total dalam Ekstrak

Ekstrak sampel ditimbang sebanyak 50 mg, kemudian dilarutkan 10 mL etanol. Dipipet sampel sebanyak 0,5 mL ditambahkan 3 mL metanol p.a, kemudian ditambahkan 0,2 mL  $AlCl_3$  10% dan 0,2 mL  $CH_3COOK$  1 M untuk masing-masing replikasi. Kemudian dicukupkan volumenya menjadi 10 mL dengan cara menambahkan 6,2 mL aquadest. Setelah itu, campuran diukur absorbansinya pada panjang gelombang 436 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Kuarsetin digunakan sebagai standar sedangkan campuran etanol dan metanol digunakan blanko.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) yang diperoleh dari Desa Rhun, Kecamatan Banda, Kabupaten Maluku Tengah, Maluku. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui golongan senyawa apa saja dan untuk mengetahui kadar kandungan fenolik dan flavonoid total Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) asal Kecamatan Banda Kabupaten Maluku Tengah. Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini secara maserasi. Maserasi merupakan jenis ekstraksi sederhana karena pengerjaannya hanya dilakukan dengan merendam bahan simplisia dalam pelarut. Kelebihan metode ini adalah prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah digunakan (Najib, A., 2018).

Pelarut yang digunakan sebagai cairan penyari adalah etanol 70% karena bersifat polar dan mampu menarik senyawa polifenol lebih efektif terutama flavonoid. Mekanisme penyarian senyawa dengan simplisia akan terjadi pemecahan dinding dan membrane sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam dan di luar sel, sehingga metabolit sekunder larut dalam pelarut. Rendemen ekstrak maserasi yang diperoleh relatif tinggi yaitu 26,96%, karena maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam, sehingga proses penghilangan senyawa lebih maksimal (John W boynes 2014)

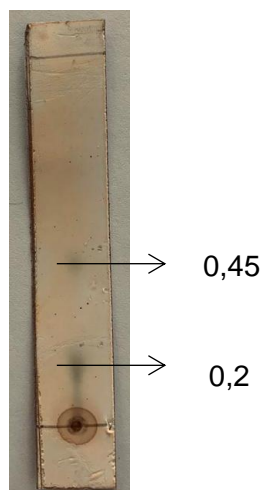
Metode skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan kromatografi lapis tipis (KLT) bertujuan untuk melihat pemisahan sampel berupa pola kromatogram pada ekstrak berdasarkan perbedaan kepolaran antara sampel dengan pelarut (eluen), serta memberikan gambaran awal komposisi komponen kimia berdasarkan profil KLT (Depkes RI, 2000), menggunakan beberapa pereaksi yang dapat memberikan ciri khas dari semua golongan senyawa metabolit sekunder. Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia yang telah dilakukan, ekstrak etanol 70% daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) positif mengandung golongan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol dan terpenoid/steroid. Bagian ini menjelaskan tentang hasil dari semua tahapan yang telah

dijelaskan di bagian metode berikut adalah tabel hasil identifikasi senyawa menggunakan KLT.

Tabel 1. Data Hasil Identifikasi Senyawa Kimia Ekstrak Etanol Total Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

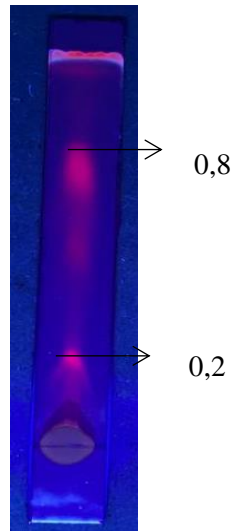
Kandungan kimia	Pereaksi	Perubahan Warna	Keterangan
Alkaloid	Dragendroff	Coklat	+
Flavonoid	Uap ammonia dan $AlCl_3$	Kuning dan berflouresensi di UV 366	+
Fenol	$FeCl_3$	Hijau, coklat, hitam	+
Terpenoid	Lieberman-Burchard dan dipanaskan	Ungu, hijau	+

Identifikasi senyawa alkaloid dilakukan dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (5:1). Kemudian, dilakukan penyemprotan pereaksi dragendroff. Hasil menunjukkan adanya senyawa alkaloid pada pola kromatogram yang ditandai dengan bercak warna kuning muda dan diperoleh nilai Rf yaitu 0,2 dan 0,45 dilihat pada gambar 1.



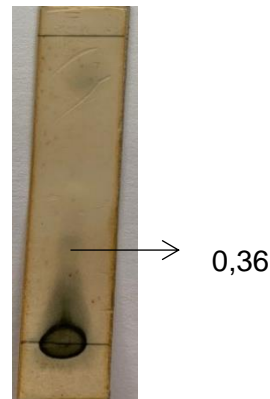
Gambar 1. Hasil Identifikasi Senyawa Alkaloid

Identifikasi senyawa flavonoid dilakukan dengan fase gerak etil asetat : n-heksana (3:2). Lempeng diuapkan dengan ammonia menghasilkan noda berwarna kuning segera. Kemudian, disemprotkan dengan aluminium klorida. Hasil menunjukkan adanya senyawa flavonoid pada pola kromatogram yang ditandai dengan noda berflouresensi pada UV 366 nm dan di peroleh nilai Rf yaitu 0,69 dan 0,8 dilihat pada gambar 2.



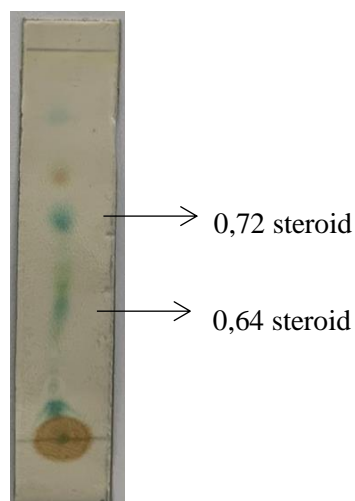
Gambar 2. Hasil Identifikasi Senyawa Flavonoid

Identifikasi senyawa fenol dilakukan dengan fase gerak etil asetat : n-heksana (3:1). Kemudian, dilakukan penyemprotan dengan besi III klorida. Hasil menunjukkan adanya senyawa fenol pada pola kromatogram yang ditandai dengan bercak warna hitam dan diperoleh nilai Rf yaitu 0,36 dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Hasil Identifikasi Senyawa Fenol

Identifikasi senyawa terpenoid dilakukan dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (2:1). Kemudian, dilakukan penyemprotan pereaksi Lieberman-Burchard. Hasil menunjukkan adanya senyawa terpenoid pada pola kromatogram yang ditandai dengan bercak warna hijau menunjukkan senyawa steroid setelah dipanaskan dan diperoleh nilai Rf yaitu 0,64 dan 0,73 dilihat pada gambar 4.



Gambar 4. Hasil Identifikasi Terpenoid/Steroid

Uji kuantitatif digunakan metode spektrofotometri UV-Vis karena flavonoid dan fenolik mengandung sistem aromatis terkonjugasi dan dapat menunjukkan pita serapan kuat pada daerah UV-Vis. Tujuan dilakukan penetapan kandungan fenolik dan flavonoid total untuk mengetahui seberapa besar kandungan fenolik dan flavonoid total yang terkandung pada daun pala (*Myristica fragrans* Houtt) (Harborne, 1987).

Pengukuran kandungan fenolik total daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) menggunakan spektrofotometri visibel pada panjanggelombang 766 nm. Penentuan kandungan senyawa fenolik total menggunakan asam galat sebagai pembanding yang direaksikan dengan *Folin-Ciocalteu*. Penggunaan asam galat sebagai larutan standar karena asam galat merupakan salah satu senyawa polifenol alami yang mengandung gugus hidroksil fenolik dan gugus karboksil yang banyak ditemukan pada tanaman, penggunaan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  berfungsi sebagai pemberi suasana basa sehingga senyawa fenolik yang terdapat dalam sampel bereaksi dengan reagen *Folin-Ciocalteu* yang menghasilkan perubahan warna menjadi biru. Hal ini disebabkan karena terbentuknya kompleks dari fosfomolibdat fosfotungstat pada reagen yang direduksi oleh aromatis pada senyawa fenolik menjadi molybdenum

Tabel 4. Data Hasil Pengukuran Kandungan Fenolik Total Ekstrak Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Kode Sampel	A ( $\lambda = 766 \text{ nm}$ )	Polifenol terukur (mg/L)	Massa Sampel (g)	Volume larutan sampel (L)	mg ekuivalen asam galat/mg sampel	Kadar Polifenol (%)	Rata – rata kadar fenolik total (%)
Simplo	0.852	243.7101	0.05	0.01	48.7420	4.8620	
Duplo	1.062	304.5797	0.05	0.01	60.9159	6.0919	5.334

Triplo 0.882 252.4057 0.05 0.01 50.4811 5.0481

Hasil analisis kadar fenolik total daun pala (*Myristica fragrans* Houtt) menggunakan spektrofotometri visibel pada panjang gelombang 766 nm dengan nilai rata-rata kandungan fenolik total yaitu 53,3797 mg equivalen asam galat/mg. Hal ini berbeda dengan hasil penelitian (Niwale. 2020) yang menyatakan bahwa hasil uji kandungan daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) yang di ambil dari Kecamatan Iha-Kulur mengandung senyawa fenolik dengan kadar sebesar 76,603 mg GAE/g ekstrak. Produksi kandungan metabolit sekunder pada tanaman dipengaruhi oleh beberapa faktor fisik (suhu, cahaya, kelembaban), faktor genetik, dan stres lingkungan terdapatnya logam berat dan terpapar sinar UV (Ulung, dkk. 2018). Pengukuran kandungan flavonoid total daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan untuk mengetahui dimana terjadi absorbansi maksimum. Larutan induk yang digunakan yaitu kuersetin, sebagai pembanding, karena senyawa flavonoid paling sering ditemukan dalam bentuk glikosida (Harbone, 1987).

Penambahan  $AlCl_3$  dilakukan agar dapat membentuk senyawa kompleks, sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah visibel yang menghasilkan larutan berwarna kuning. Penggunaan kalium asetat untuk mempertahankan panjang gelombang pada daerah visibel dan didapatkan panjang gelombang 436 nm.

Tabel 6. Data Analisis Kuantitatif Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

Kode Sampel	A ( $\lambda = 436$ nm)	Flavonoid terukur (ppm)	Massa Sampel (g)	Volume larutan sampel (L)	mg ekivalen quersetin/g sampel	Kadar Flavonoid (%)	Rata – rata kadar flavonoid total (%)
Simplo	0.518	87.4915	0.05	0.01	16.85771	1.6858	
Duplo	0.359	60.5424	0.05	0.01	12.10847	1.2108	1,60723
Triplo	0.589	99.5254	0.05	0.01	19.25057	1.9251	

Hasil yang diperoleh dari ekstrak etanol tersebut mengandung kandungan flavonoid sebesar 1,60723%, hal ini berbeda dengan hasil penelitian (Tempomona, Dkk. 2015) yang menyatakan bahwa hasil total flavonoid daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) yang di ambil dari Kabupaten Sangihe adalah sebanyak 6,870 mg kuarsetin/kg sampel. Hal ini berbeda karena kandungan metabolit sekunder pada tumbuhan dipengaruhi oleh

beberapa factor seperti suhu, cahaya, dan pengeringan. Suhu udara dataran rendah meningkatkan kapasitas uap air, yang mengurangi kelembapan relatif, terutama pada siang hari. Intensitas sinar matahari berpengaruh, cahaya yang kurang atau berlebih dapat mempengaruhi proses metabolisme. Faktor lainnya adalah proses pengeringan, proses pengeringan menggunakan oven lebih optimal di bandingkan dengan cara pengeringan angin karena suhu pemanas di dalam oven lebih merata dan sirkulasi udara yang dihasilkan lebih sempurna (Depkes RI, 1985; Ulung dkk, 2018)

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data dan pembahasan maka dapat disimpulkan bahwa daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, dan terpenoid/steroid berdasarkan profil KLT yang didapatkan. Hasil penetapan kandungan fenolik total adalah sebesar 5,334 % dan kandungan flavonoid total adalah sebesar 1,60723%.

## DAFTAR PUSTAKA

- Alim, Nur, Haerani Rasyid, Agussalim Bukhari, and Natsir Djide. 2023. "The Potency of Beligo Seeds (*Benincasa Hispida* (Thunb.) Cogn.) as Antihyperlipidemic in L-NAME- Induced Hyperlipidemic Rats." : 231–40.
- BPOM, Kepala. 2018. "Peraturan BPOM No 13 Tahun 2018 Tentang Perubahan Atas Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor HK.03.1.33.12.12.8195 Tahun 2012 Tentang Penerapan Pedoman Cara Pembuatan Obat Yang Baik." *Jakarta : BPOM*: 43–47.
- Hasanuddin, Rusman et al. 2022. "Effects of High Fat Diet Feeding and Coffee Bean Extract on Hba1C and Blood Glucose of Wistar Strain Rats." (06): 27–40.
- Hasanuddin, Rusman, Nur Alim, and Ahmad Fauzan. "Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daging Buah Beligo (*Benincasa Hispida* (Thunb.) Cogn.) Terhadap *Escherichia Coli* Dan *Staphylococcus Aureus* Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Beligo Fruit Meat (*Benincasa Hispida* (Thunb.) Cogn.) Agains." 1(3): 14–21.
- John W boynes, Marek H. 2014. "E-Book Biokimia Medis - John W Baynes, Marek H." Legoh, Widya Lusye, Samuel Runtuuwu, and Sesilia Wanget. 2020. "KARAKTERISASI PALA (*Myristica Fragrans* L.) DI KABUPATEN KEPULAUAN SANGIHE BERDASARKAN MORFOLOGI BUAH DAN DAUN." *Agri-Sosioekonomi* 16(2): 279.
- Moningka, Mirabella V., Douglas N. Pareta, Hariyadi Hariyadi, and Nerni Potalangi. 2020. "Formulasi Dan Uji Aktivitas Antibakteri Sediaan Sabun Cair Ekstrak Daun

- Pala *Myristica Fragrans* Houtt.” *Biofarmasetikal Tropis* 3(2): 17–26.
- Tanendri Arrizqiyani , Sri Sumiati, Mila Meliansyah. 2018. “JVK.” (36): 26–29.
- Tiana, Dewi Rina, Andi Nur, Rusman, and Zam Zam. 2023. “Activity Test Of Ethanol Extract Of Java Wood Leaf ( *Lannea Coromandalica* ( Houtt .) Merr ) from Bone District On Streptozotocin Induced Diabetic Rats.” 2(01): 1–9.
- Ahmad Najib, 2018. Ekstraksi Senyawa Bahan Alam. Yogyakarta: CV Budi Utama.
- Arrizqiyani, T., Sri, S. & Mila, M. 2018. Aktivitas antibakteri daging buah dan daun pala (*Myristica Fragrans*) terhadap *Escherichia Coli*. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 4(2), 91-94.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia. 2010. Acuan sediaan herbal (Vol 5) (Edisi 1). Jakarta: Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Direktorat Jenderal Perkebunan Kementerian Pertanian. 2018. Statistik Perkebunan Indonesia (Tree Croop Estate Statistics of Indonesia).
- Harborne J. B., 1987. Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan. Alih bahasa: K.Padmawinata ITB Press: Bandung
- Niwale, A., U. Panita, & Samal, R. R. 2020. Determination of Total Phenolic Content of Nutmeg Leaf (*Myristica fragrans* Houtt.) Ethanol Extract By Uv-Vis Spectrophotometry. *Jurnal Kesehatan Amanah*. Vol. 4, No 2.
- Rismunandar, 1992. Budidaya dan Tataniaga Pala. PT. Penebar Swadaya. Jakarta. The Integrated Taxonomic Informaion System, 2015. Catalogue Of Life. Annual Checklis (Internet). Spesies 2000 IT IS
- Tempomona, Y. Rorong, A, J. dan Wuntu, D. 2015. Fotoreduksi Besi Fe<sup>3+</sup> Menggunakan Ekstrak Limbah Daun, Kulit, dan Cangkang Biji Pala (*Myristica fragrans*). *Jurnal MIPA Unsrat* 4 (1) 46-50.
- Ulung, Y.A., Susanti R., dan Sri R.I.2018 Ebook Metabolit Sekunder dari Tanaman: Aplikasi dan Produksi. FMIPA Universitas Semarang.
- Usman, U. dan Fifiiani, 2017. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Pengusaha pada Usaha Tanaman Pala (Studi kasus : Desa Panjupain dan Desa Lhok Rukam Kecamatan Tapaktuan). *Jurnal Ekonomi Pertanian Unimal* 01(02) : 40-46.
- Widya Lusye, Legoh Samuel Runtuuwu, Sesilia Wanget. 2020. Karakterisasi Pala (*Myristica Fragrans* L.) di Kabupaten Kepulauan Sangihe Berdasarkan Morfologi Buah dan Daun Volume 16 Nomor 2, Mei 2020 : 279 – 290, unsrat