

AKTIVITAS ANTIOKSIDAN EKSTRAK KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum L.*) DARI DUA METODE EKSTRAKSI

ANTIOXIDANT ACTIVITY OF POMEGRANATE RIND EXTRACTS (*Punica granatum L.*) FROM DIFFERENT EXTRACTION METHOD

Tantriska Wijanti, Eva Pahlani, Rizky Kartika Lestari
Program Studi Farmasi, Politeknik Kesehatan TNI AU Ciumbuleuit
Jl. Ciumbuleuit No.203 Bandung, Indonesia
Email : tantriska_w@gmail.com

ABSTRACT

Pomegranate (Punica granatum L.) is a fruit that has many properties and benefits, including the rind. However, so far people have only consumed the seeds and discarded the rind. Pomegranate rind contains compounds that have antioxidant activity. The aims of this study is comparing the antioxidant activity of pomegranate rind extract from two different extraction methods with the DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) method. Pomegranate rind simplicia was extracted by a hot method using the soxhlet method and cold method by maceration method. The solvent used is 70% ethanol. The extract then concentrated using a rotary vacuum evaporator and compared to its profile. From the maceration method, extracts were obtained with a yield of 33.4615%; water content 13.79%; and specific gravity of 0.8591 g/mL (5%). Meanwhile, from the soxhlet method, extracts were obtained with a yield of 32.8087%; water content of 13.50% and specific gravity of 0.8574 g/mL (5%). Examination by thin layer chromatography showed that both extracts contained gallic acid as the identity compound. The results of the phytochemical screening showed that both extracts contained alkaloids, monoterpenoids/sesquiterpenoids, flavonoids, tannins, and quinones. Meanwhile, saponin group compounds are only contained in macerated extracts. Antioxidant activity testing was carried out using the UV-Vis spectrophotometry method. The test results showed that the IC₅₀ values of macerated and soxhlet extracts were 12.51 and 10.91 ppm, respectively. These results indicate that both extracts are classified as very strong antioxidants. However, this antioxidant activity is weaker compared to gallic acid (IC₅₀ : 8.93 ppm).

Keywords: Pomegranate; Antioxidant; DPPH

Diterima: 26 Januari 2023

Direview: 4 Maret 2023

Diterbitkan: Agustus 2023

ABSTRAK

Delima (*Punica granatum L.*) merupakan buah yang memiliki banyak khasiat dan manfaat, termasuk kulit buahnya. Namun, selama ini masyarakat hanya mengonsumsi bijinya dan membuang kulitnya. Kulit buah delima mengandung senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan. Tujuan penelitian ini adalah membandingkan aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah delima dari dua metode ekstraksi yang berbeda dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil). Siplisia kulit buah delima diekstraksi dengan cara panas dengan metode sokhlet dan dengan cara dingin dengan metode maserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70%. Selanjutnya, ekstrak dipekatkan dengan *rotary evaporator* dan dibandingkan profilnya. Dari metode maserasi diperoleh ekstrak dengan rendemen 33,4615%; kadar air 13,79%; dan bobot jenis 0,8591 g/mL (5%). Sedangkan dari metode sokhlet diperoleh ekstrak dengan rendemen 32,8087%; kadar air 13,50% dan bobot jenis 0,8574 g/mL (5%). Pemeriksaan dengan metode kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa kedua ekstrak mengandung asam galat sebagai senyawa identitas. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa kedua ekstrak mengandung senyawa golongan alkaloid, monoterpenoid/seskuiterpenoid, flavonoid, tanin, dan kuinon. Sedangkan senyawa golongan saponin hanya terkandung pada ekstrak hasil maserasi. Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Hasil pengujian menunjukkan bahwa nilai IC₅₀ ekstrak hasil maserasi dan sokhlet berturut-turut adalah 12,51 dan 10,91 ppm. Hasil ini menunjukkan kedua ekstrak tergolong antioksidan yang sangat kuat. Namun, aktivitas antioksidan ini lebih lemah jika dibandingkan dengan asam galat (IC₅₀ : 8,93 ppm).

Kata Kunci: Delima; Antioksidan; DPPH

PENDAHULUAN / INTRODUCING

Kehidupan manusia saat ini hampir tidak bisa bebas dari polusi. Polusi tersebut menghasilkan banyak radikal bebas yang berdampak negatif terhadap kesehatan. Radikal bebas merupakan senyawa yang sangat reaktif yang dapat bereaksi dan menyebabkan kerusakan pada senyawa makromolekul seperti DNA, lipid, dan protein. Antioksidan merupakan senyawa yang dapat menetralkan radikal bebas. Senyawa ini dapat berupa molekul yang kompleks maupun berupa senyawa sederhana. Contoh senyawa antioksidan adalah glutathion, vitamin (A, C, dan E,) dan senyawa fenolik (flavonoid, kuinon, fenilpropana, kumarin, tanin, dan lainnya) (Leboe W, 2020).

Di dalam tubuh terdapat senyawa yang berperan aktif dalam menanggulangi radikal bebas seperti enzim superoksida dismutase, glutathion, dan katalase. Namun jumlah enzim tersebut tidak mencukupi sehingga diperlukan asupan antioksidan dari luar tubuh, baik dalam bentuk minuman, makanan, atau suplemen kesehatan.

Buah delima merupakan salah satu buah yang banyak digemari oleh masyarakat karena bentuknya yang menarik dan rasanya yang enak. Buah delima memiliki berbagai khasiat dan manfaat, termasuk kulit buahnya. Kulit buah delima kaya akan flavonoid, asam fenolat, tanin, antosianidin, asam ellegat, kuersetin, asam galat, katekin dan vitamin C yang mempunyai khasiat

sebagai antioksidan. (Nazliniwaty, Laila, dan Wahyuni, 2015). Manfaat ini belum banyak diketahui oleh masyarakat sehingga kulit buah delima umumnya tidak dimanfaatkan dan dibuang.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah delima yang dihasilkan dua metode ekstraksi yaitu cara panas dan cara dingin. Dengan demikian, pada pemanfaatan hasil penelitian di masyarakat dapat dipilih cara ekstraksi yang lebih baik.

METODE/METHOD

Alat

Alat yang digunakan antara lain maserator, seperangkat alat sokhlet, *vacuum rotary evaporator* (Exre-1002), piknometer, *moisture analyzer* (AEADAM), plat KLT GF₂₅₄, bejana KLT, pipa kapiler, penyemprot bercak, lampu UV A 254 nm dan UV A 366 nm, timbangan analitik (Pioneer PX 224/E), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1900I), kuvet, dan beberapa alat gelas yang umum di Laboratorium Farmakognosi/Fitokimia.

Bahan

Bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah simplisia kulit buah delima, etanol 96%, gelatin, pereaksi Mayer, Pereaksi Dragendorff, Pereaksi Steasny, Pereaksi Liebermann-Bourchad, heksana (Merck), amonia (JT Baker), kloroform (JT Baker), HCl (Merck), serbuk Mg (Merck), FeCl₃ (Merck), DPPH (Merck),

vanilin sulfat, amil alkohol (JT Baker), natrium hidroksida (Macron), natrium asetat, asam galat, asam format, etil asetat (Merck), dan n-butanol (Merck).

Penyiapan Bahan

Bahan tanaman yang digunakan adalah kulit buah delima yang diambil dari Kebun Percobaan Manoko, Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung Barat. Tanaman segar selanjutnya diproses sehingga menjadi simplisia dari penyortiran basah hingga penyortiran kering. Bahan tanaman dideterminasi di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Jurusan Biologi FMIPA Universitas Padjajaran. Hasil determinasi No.45/HB/03/2022 menunjukkan bahwa bahan tanaman yang dideterminasi adalah *Punica granatum L.*

Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dan sokhlet, masing-masing menggunakan simplisia kulit buah delima sebanyak 150 gr dan pelarut etanol 70%. Maserasi dilakukan dalam maserator tertutup, terlindung dari cahaya, dengan perendaman selama 3 x 24 jam, pengadukan tiap 8 jam sekali dan remaserasi. Ekstraksi dengan metode sokhlet dilakukan sebanyak 23 siklus sehingga diperoleh ekstrak berwarna bening.

Evaluasi Ekstrak

Evaluasi ekstrak kental dilakukan dengan uji organoleptik, rendemen, kadar air dan bobot jenis. Pengujian bobot jenis

dilakukan terhadap ekstrak dengan konsentrasi 5%.

Penapisan fitokimia

Penapisan fitokimia terhadap ekstrak dilakukan berdasarkan Farnsworth (1996) yang meliputi pemeriksaan senyawa golongan alkaloid, flavonoid, tanin dan polifenol, kuinon, saponin, monoterpenoid-seskuiterpenoid, steroid dan triterpenoid.

Identifikasi senyawa identitas dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi senyawa identitas dilakukan menurut prosedur pada Farmakope Herbal Edisi II (2017) terhadap ekstrak hasil maserasi dan sokhlet. Larutan ekstrak ditotolkan secara berdampingan larutan asam galat sebagai pembanding pada plat KLT silica gel F₂₅₄. Selanjutnya plat dielusi/dikembangkan di dalam bejana yang telah dijenuhkan dengan kloroform P-etil asetat P-n-butanol P-asam format P (5:2:2:1) sebagai fase gerak. Bercak diamati secara visual menggunakan lampu UV 254 nm dan UV 366 nm lalu dilakukan penyemprotan dengan penampak bercak FeCl₃.

Pengujian Aktivitas Antioksidan dengan Spektrofotometri UV-Vis

Pembuatan larutan DPPH 50 µm

Sebanyak 4,925 mg DPPH dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 250 mL. Larutan ini kemudian diukur serapannya dari panjang gelombang 450 nm – 550 nm hingga diketahui panjang gelombang maksimumnya.

Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Ekstrak

Ekstrak hasil sokhlet dan maserasi masing-masing sebanyak 25 mg dilarutkan dengan etanol dalam labu ukur 25 ml. Selanjutnya ekstrak dipipet sebanyak 1,0; 1,5; dan 2,0 mL untuk diencerkan dalam labu ukur 100 mL untuk memperoleh konsentrasi 10 ppm, 15 ppm, dan 20 ppm.

Pengukuran Serapan dengan Spektrofotometri UV-Vis.

Masing-masing larutan ekstrak dipipet sebanyak 0,2 mL, ditambahkan 3,8 mL larutan DPPH 50 μ M, dikocok sampai homogen kemudian diinkubasi hingga 30 menit di tempat gelap. Serapan diukur dengan Spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang maksimum DPPH.

Analisis Data

Hasil dari uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diinterpretasikan dengan nilai IC₅₀. Nilai IC₅₀ ditentukan dari data persen penghambatan radikal bebas/inhibisi dari pengujian yang dilakukan. Perhitungan persen inhibisi serapan DPPH dihitung menggunakan rumus berikut.

$$\%Inhibisi = \frac{Abs\ blanko - Abs\ sampel}{Abs\ blanko} \times 100$$

Keterangan :

Abs. Blanko : Absorban DPPH 50 μ M

Abs. Sampel : Absorbansi Sampel Uji

Nilai IC₅₀ masing-masing larutan ekstrak dihitung dengan rumus persamaan regresi linier yang menunjukkan korelasi konsentrasi fraksi antioksidan sebagai sumbu x dengan % inhibisi sebagai sumbu y dari seri pengulangan pengukuran.

HASIL DAN PEMBAHASAN / RESULTS AND DISCUSSION

Determinasi merupakan tahapan pertama dalam penelitian tanaman obat. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran identitas suatu tanaman sehingga tidak terjadi kesalahan penggunaan sampel penelitian. Berdasarkan Lembar Hasil Identifikasi Tumbuhan No.45/HB/03/2022 diketahui bahwa simplisia yang diperoleh dari Kebun Manoko Bandung Kecamatan Lembang adalah kulit buah delima (*Punica granatum L.*). Hasil pengamatan terhadap simplisia menunjukkan bahwa simplisia berupa potongan kulit buah, permukaan luar kulit buah agak kasar, bekas patahan kulit buah tidak rata, permukaan luar kuning kecoklatan atau coklat kehitaman, terdapat bercak-bercak yang agak menonjol berwarna kehitaman, permukaan dalam berwarna kuning sampai kuning kecoklatan, tidak berbau, rasa agak pahit, dan sangat kelat/kesat. Hasil pengamatan ini sesuai dengan pemerian pada monografi simplisia kulit buah delima di Farmakope Herbal Indonesia Edisi II tahun 2017.

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi (cara dingin) dan sokhlet (cara

panas). Pada ekstraksi digunakan etanol 70% sebagai pelarut. Etanol memiliki sifat polar sehingga kemampuan melarutkannya tidak spesifik. Walaupun yang akan larut pada etanol sebagian besar adalah senyawa yang bersifat polar, namun etanol juga dapat melarutkan senyawa semipolar dan non polar.

Pada pengamatan organoleptik terhadap ekstrak, menunjukkan kedua ekstrak berupa ekstrak kental, berwarna coklat pekat, berbau khas, dan rasanya pahit. Selanjutnya terhadap ekstrak dilakukan evaluasi rendemen, kadar air, dan bobot jenis. Hasil evaluasi terhadap ekstrak tercantum pada Tabel I.

Tabel 1. Hasil Evaluasi Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*)

Parameter Uji	Ekstrak Hasil Maserasi	Ekstrak Sokhlet	Hasil
Rendemen ekstrak (%)	33,46	32,81	
Kadar air (%)	13,79	13,50	
Bobot jenis ekstrak 5% (g/mL)	0,8591	0,8574	

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa rendemen ekstrak dengan metode maserasi dan sokhlet relatif sama. Rendemen ekstrak tersebut memenuhi persyaratan rendemen ekstrak pada Farmakope Herbal Indonesia yaitu tidak kurang dari 19,9%. Hal ini menunjukkan bahwa kedua metode tersebut efektif.

Pada parameter kadar air dan bobot jenis ekstrak hasil maserasi dan sokhlet juga relatif tidak berbeda jauh. Pemeriksaan kadar air bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak tidak mengandung air yang melebihi persyaratan. Kadar air yang terlalu tinggi menyebabkan ekstrak mudah ditumbuhi oleh mikroba. Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa kadar air yang terkandung pada ekstrak memenuhi persyaratan Farmakope Herbal untuk

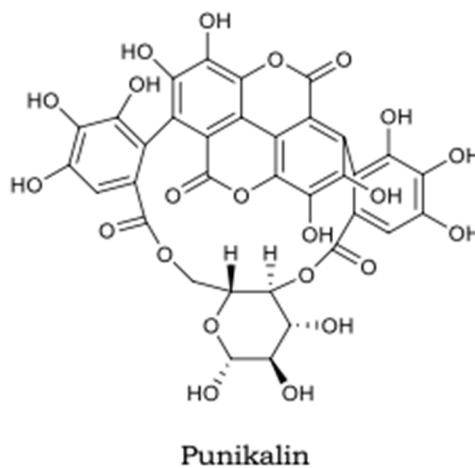
ekstrak kulit buah delima yaitu tidak lebih dari 17,8%. Bobot jenis ekstrak menunjukkan kandungan senyawa yang terlarut. Ekstrak hasil maserasi memiliki bobot jenis yang relatif sama dengan ekstrak hasil sokhlet. Namun, pada ekstrak hasil sokhlet tidak terkandung senyawa yang bersifat termolabil sebagaimana yang terdapat pada ekstrak hasil maserasi. Hal ini terjadi karena pemanasan yang panjang pada metode sokhlet menyebabkan degradasi senyawa yang bersifat termolabil (Pandey&Tripathi, 2014).

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak. Hasil penapisan fitokimia ekstrak menunjukkan bahwa baik ekstrak hasil maserasi maupun sokhlet mengandung senyawa golongan alkaloid,

flavonoid, tanin, kuinon, dan monoterpenoid/seskuiterpenoid. Sedangkan senyawa golongan saponin hanya terkandung pada ekstrak hasil maserasi. Senyawa golongan steroid/triterpenoid tidak terkandung pada kedua ekstrak. Proses ekstraksi dilakukan dengan etanol yang merupakan pelarut yang bersifat polar. Senyawa golongan steroid adalah senyawa yang bersifat non polar sehingga hanya sangat sedikit terekstraksi oleh etanol. Wulandari S. (2017) yang melakukan

penapisan fitokimia pada ekstrak hasil maserasi dan refluks kulit buah delima menunjukkan hasil yang serupa.

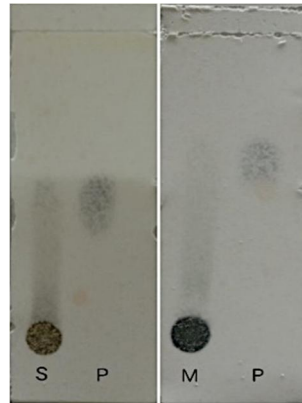
Evaluasi ekstrak selanjutnya adalah pemeriksaan senyawa identitas dengan metode KLT. Pemeriksaan senyawa identitas dilakukan sebagai pemastian mutu ekstrak bahwa bahwa kedua metode ekstraksi dapat mengekstrak punikalin sebagai senyawa identitas kulit buah delima. Struktur punikalin dapat dilihat pada Gambar 1 berikut.



Gambar 1. Struktur Punikalin (Farmakope Herbal Indonesia edisi II/2017)

Hasil KLT menunjukkan bahwa kedua ekstrak memiliki bercak yang identik dengan bercak asam galat sebagai senyawa pembanding sesuai prosedur Farmakope

Herbal Indonesia untuk pemeriksaan senyawa identitas kulit buah delima. Hasil KLT dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil KLT Ekstrak Kulit Buah Delima pada Plat KLT Silica GF₂₅₄ dengan Pengembang kloroform-etil asetat-n-butanol-asam format (5:2:2:1)

Keterangan : S = ekstrak hasil sokhlet; M = ekstrak hasil maserasi; P = asam galat

Pengujian aktivitas antioksidan terhadap kedua ekstrak dilakukan dengan metode DPPH. Larutan ekstrak dicampur dengan DPPH dalam jumlah berlebih kemudian diinkubasi di tempat gelap. Hal ini bertujuan agar reaksi berlangsung sempurna tanpa menyebabkan penguraian DPPH oleh cahaya.

Nilai persentase inhibisi yang diperoleh dari hasil perhitungan dibuat kurva dengan

konsentrasi ekstrak. Nilai R² hasil regresi linier pada kurva ekstrak hasil maserasi adalah 0,9332 dan pada hasil sokhlet adalah 0,9848. Nilai ini menunjukkan bahwa hubungan antara persentase inhibisi dengan konsentrasi adalah linear sehingga dapat digunakan untuk perhitungan IC₅₀. Nilai IC₅₀ masing-masing ekstrak tercantum pada tabel berikut.

Tabel 2. IC₅₀ Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum L.*)

Sampel	IC ₅₀	Keterangan
Ekstrak hasil maserasi	12,51	Sangat kuat
Ekstrak hasil sokhlet	10,91	Sangat kuat

Dari tabel di atas dapat diketahui bahwa ekstrak hasil maserasi dan sokhlet memiliki aktivitas antioksidan yang sangat kuat ($IC_{50} < 50\text{ppm}$). Aktivitas antioksidan ekstrak hasil sokhlet sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan ekstrak hasil maserasi.

Aktivitas antioksidan kulit buah delima dapat disebabkan karena ekstrak kulit buah delima mengandung banyak senyawa polifenol, salah satunya adalah punikalin sebagai senyawa identitas dari kulit buah delima. Punikalin merupakan senyawa jenis ellagitannin yang strukturnya mengandung banyak gugus fenol. Punikalin yang diisolasi dari kulit buah delima diketahui secara *in vitro* dan *in vivo* memiliki aktivitas antioksidan yang kuat. (Yu-qing *et al.*, 2017). Diperlukan penelitian lebih lanjut sehingga dapat diketahui senyawa lain yang memberikan aktivitas antioksidan pada kulit buah delima.

KESIMPULAN / CONCLUSION

Berdasarkan hasil penelitian kulit buah delima dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol hasil sokhlet memberikan aktivitas antioksidan yang lebih besar dibandingkan ekstrak etanol hasil maserasi dengan IC_{50} berturut-turut adalah 10,91 dan 12,51 ppm. Dengan demikian, metode sokhlet lebih disarankan untuk ekstraksi kulit buah delima dibandingkan metode maserasi untuk memperoleh ekstrak dengan aktivitas antioksidan yang lebih baik .

DAFTAR PUSTAKA / REFERENCE

- Djajadisastra, J. dan J. A. (2012). Uji Stabilitas Fisik dan Aktivitas Antioksidan Formula Krim yang Mengandung Ekstrak Kulit Buah Delima. *Majalah Ilmu Kefarmasian*, 9(2). 75 - 86 .
- Fathoniyah, A. A. (2021). *PENGARUH EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH (Punica granatum L.) TERHADAP JUMLAH FOLIKEL OVARIUM MENCIT BETINA YANG DIBERI PAPARAN FORMALDEHID*. Skripsi : UIN Maulana Malik Ibrahim
- Hikmawanti, N. P. E., Fatmawati, S., Arifin, Z., & . V. (2021). Pengaruh Variasi Metode Ekstraksi Terhadap Perolehan Senyawa Antioksidan Pada Daun Katuk (*Sauropus androgynus (L.) Merr*). *Jurnal Farmasi Udayana*. 10(1), 01 – 12.
- Kang Sing Lung, J., Pramita Destiani, D. (2017). *Review Artikel : Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin A, C, E dengan metode DPPH*. *Suplemen Farmaka*, 15(1), 53 – 62.
- Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. (2017). *FARMAKOPE HERBAL INDONESIA EDISI II*.
- Kholisa. (2018). *POTENSI EKSTRAK BUAH DELIMA MERAH (Punica granatum Linn) TERHADAP PENURUNAN JUMLAH KOLONI BAKTERI Streptococcus mutans*. Skripsi : Universitas Jember

- Kristina Gultom, D., Saraswati, I., & Sasikirana, W. (2021). Determination of Total Phenolic Content and Antioxidant Activity of Ethyl Acetate Fraction Extract Ethanolic Red Cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata* L). *In Generics : Journal of Research in Pharmacy*. 1(2), 79 – 87.
- Lestari, R., Kencana, U. B., & Farmasi, F. (2021). *Uji Aktivitas Antioksidan dari Daun dan Kulit Buah Tiga Macam Delima (Punica granatum L.)*. Laporan Tugas Akhir : UBK
- Muthmainnah, B. (2019). Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima (*Punica granatum L.*) dengan Metode Uji Warna. *Media Farmasi*, 13(2), 23 – 28.
- Pandey, A., & Tripathi, S. (2014). Concept of standardization, extraction and pre phytochemical screening strategies for herbal drug. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 2(5), 115–119.
- Purwanto, D., Bahri, S., & Ridhay, A. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Buah Purnajiwa (*Kopsia arborea Blume.*) dengan Berbagai Pelarut. *Kovalen*, 3(1), 24–32.
- Suharyanto, Anisa Dinda Ramadhani. (2020). Penetapan Kadar Flavonoid Jus Buah Delima (*Punica granatum L.*) yang Berpotensi Sebagai Hepatoprotektor dengan Metode Spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. 6(2), 192 -198.
- Yang, T., Wang, Q., Qu, Y., Liu, Y., Feng, C., Wang, Y., Sun, W., Sun, Z., & Zhu, Y. (2021). Punicalin Alleviates OGD/R-Triggered Cell Injury via TGF- β -Mediated Oxidative Stress and Cell Cycle in Neuroblastoma Cells SH-SY5Y. *Hindawi : Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1 – 11