

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Ekstrak Kulit Batang Delima (*Punica granatum L.*)

Pada penelitian ini sampel kulit batang delima yang digunakan diperoleh dari Desa Yehembang Kangin, Kecamatan Mendoyo, Kabupaten Jembrana. Sampel kulit batang delima yang diperoleh diambil dari 3 pohon delima yang berbeda dan mendapatkan sampel kulit batang delima sebanyak 3 kg. Lokasi pengambilan dari sampel tersebut berada di dataran rendah, dengan perawatan pohon delima yang dibiarkan hidup tanpa dipupuk dan dirawat. Didapatkan sampel kulit batang delima yang secara kasat mata terlihat berwarna hijau kecoklatan, dengan tekstur kulit batang yang sedikit kasar. Kemudian sampel dikeringkan, setelah dikeringkan menggunakan oven, sampel berubah warna menjadi berwarna coklat.



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Gambar 5. Kulit Batang Delima



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Gambar 6. Simplisia Kulit Batang Delima

Simplisia tersebut kemudian dihaluskan menggunakan blender dan dilakukan proses perendaman dalam etanol 96% selama 7 hari (proses maserasi). Ekstrak yang diperoleh dari proses perendaman tersebut selanjutnya dilakukan proses pengentalan ekstrak dengan menggunakan alat *rotary evaporator* dengan suhu 50°C. Hasil dari proses ini adalah diperoleh ekstrak kental.



Sumber : Dokumentasi Pribadi

Gambar 7. Ekstrak Kental Kulit Batang Delima

Hasil rendemen ekstrak diperoleh dari proses pengentalan ekstrak etanol kulit batang delima. Berikut merupakan hasil rendemen ekstrak yang diperoleh melalui proses ekstraksi etanol menggunakan sampel kulit batang delima segar dengan berat 3 kg, yang kemudian menghasilkan berat simplisia 1.665gr dan menghasilkan ekstrak kental 108gr. Berdasarkan perhitungan rendemen ekstrak didapatkan hasil sebesar 6,4% dengan warna hijau kehitaman.

2. Skrining Fitokimia

Hasil pengujian kualitatif fitokimia ekstrak etanol kulit batang delima (*Punica granatum L.*) adalah sebagai berikut.

Tabel 5.

Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Kulit Batang Delima

No	Senyawa Fitokimia	Hasil	Perubahan yang terjadi
1.	Alkaloid	Positif (+)	adanya endapan atau kekeruhan
2.	Flavonoid	Positif (+)	berwarna jingga
3.	Saponin	Positif (+)	adanya busa yang stabil
4.	Tanin	Positif (+)	berwarna hijau kecoklatan/ hitam kebiruan
5.	Steroid	Negatif (-)	tidak terjadi perubahan warna biru kehijauan
6.	Terpenoid	Negatif (-)	tidak terjadi perubahan warna merah kecoklatan/ cincin pink kecoklatan

Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia di atas menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang delima mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, akan tetapi, pengujian terhadap steroid, terpenoid menunjukkan hasil negatif, yang berarti tidak terdeteksi keberadaan terpenoid dan steroid dalam ekstrak tersebut.

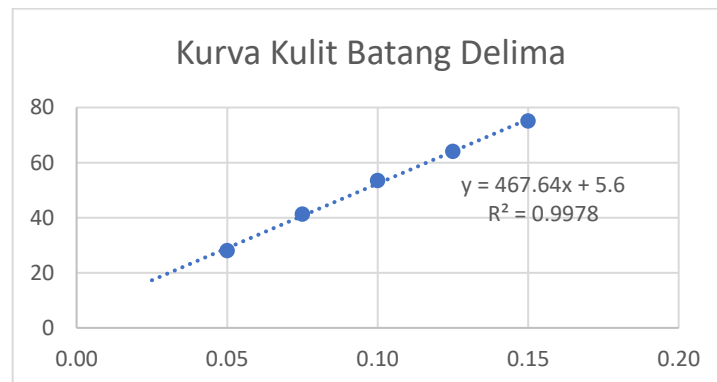
3. Uji Antioksidan

Pada pengujian aktivitas antioksidan ekstrak kulit batang delima adalah sebagai berikut :

Tabel. 6
Hasil Uji Aktivitas Antioksidan

No	Konsentrasi Ekstrak (ppm)	Absorbansi Sampel (517 nm)	% Inhibisi
1.	50	0.396	28 %
2.	75	0.323	41.27 %
3.	100	0.256	53.45 %
4.	125	0.198	64 %
5.	150	0.137	75.09 %

Berdasarkan pada tabel tersebut uji aktivitas antioksidan dilanjutkan dengan membuat kurva regresi linier sebagai berikut :



Gambar 8. Kurva Regresi Linier Kulit Batang Delima

Berdasarkan hasil perhitungan (ditunjukkan pada Lampiran 6.) persamaan regresi linier $y = 467,64x + 5,6$ mendapatkan hasil $x = 0,09494$ atau nilai $IC_{50} = 94,94$ ppm. Diketahui konsentrasi DPPH sebesar 40 ppm, dengan hasil uji aktivitas antioksidan (AAI) ekstrak etanol kulit batang delima adalah 0,4213 masuk dalam kategori lemah.

B. Pembahasan

1. Ekstrak Kulit Batang Delima (*Punica granatum L.*)

Ekstrak adalah sediaan kering, kental, atau cair yang dihasilkan dari simplisia hewani atau nabati dengan cara yang tepat di luar cahaya matahari. (Febriani dkk, 2014). Simplisia adalah suatu bentuk produk bahan alami yang sering digunakan sebagai obat yang diproses melalui pengeringan (Sembiring, dkk 2022).

Proses pengeringan diperlukan untuk pengolahan simplisia. Ini dapat dilakukan dalam dua cara: secara alami (dengan bantuan sinar matahari dan angin-anginkan) atau dengan penggunaan pengeringan bantuan (seperti oven, uap panas, atau alat lainnya). Suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, lamanya pengeringan, dan luas permukaan bahan adalah hal-hal yang harus diperhatikan selama proses pengeringan (Riyani dkk., 2022).

Suhu pengeringan simplisia bervariasi tergantung pada bahan simplisia dan metode pengeringannya; umumnya, proses pengeringan buatan menghasilkan simplisia dengan kualitas yang baik karena pengeringannya yang lebih merata dalam waktu yang relatif cepat dan tidak terpengaruh oleh cuaca. Asalkan senyawa aktifnya stabil, proses pengeringan juga dapat dipersingkat menjadi beberapa jam (Fahmi dkk., 2019).

Metode ekstraksi yang digunakan untuk menghasilkan ekstrak etanol 96% kulit batang delima pada penelitian ini adalah maserasi dan remaserasi, pemilihan metode ini dikarenakan selain pengerjaannya yang lebih mudah, peralatan yang digunakan cukup sederhana. Proses maserasi juga dilakukan tanpa pemanasan sehingga tidak terjadi kerusakan pada senyawa metabolit sekunder yang akan di analisis. Proses selanjutnya yaitu evaporasi, mengevaporasi filtrat kulit batang

delima dengan suhu 50°C menggunakan alat *rotary evaporato*. Tujuan dari Evaporasi ini yaitu untuk memisahkan ekstrak kulit batang delima dengan pelarut etanol 96% agar didapatkan ekstrak kental etanol (Pratiwi dkk., 2017).

Pelarut etanol 96 persen digunakan dalam penelitian ini. Ini dipilih karena merupakan pelarut yang selektif, tidak toksik, absorbansinya baik, dan memiliki kapasitas penyarian yang cukup tinggi untuk mengambil senyawa non-polar, semi-polar, dan polar. Pelarut etanol 96 persen lebih mudah berpenetrasi ke dalam dinding sel sampel daripada pelarut etanol dengan konsentrasi yang lebih rendah, yang menghasilkan ekstrak yang pekat (Wendersteyt dkk., 2021). Selain itu, etanol mempunyai struktur C₂H₅OH, mudah menguap, tidak berwarna, serta polar maka dipakai sebagai pelarut berbagai senyawa (Ratih & Habibah, 2022).

Hasil rendemen pada ekstrak etanol 96% kulit batang delima, yaitu 6,4%, dengan warna ekstrak kental yaitu hijau kehitaman. Adapun factor yang mempengaruhi warna dari ekstrak kental tersebut yaitu disebabkan oleh kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak kulit batang delima. Faktor yang dapat mempengaruhi hasil ekstrak yang diperoleh kurang baik adalah lamanya waktu ekstraksi. Selain faktor waktu ekstraksi terdapat faktor lainnya yang mempengaruhi hasil ekstrak yang didapatkan yaitu metode ekstraksi yang digunakan, banyaknya sampel, waktu serta keadaan penyimpanan, perbandingan jumlah sampel dengan jumlah pelarut (Sayuti, 2017).

2. Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia merupakan tahapan awal dalam suatu penelitian fitokimia yang memiliki tujuan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit batang delima (*Punica granatum L.*).

Senyawa fitokimia tersebut adalah senyawa *flavonoid*, *alkaloid*, *saponin*, *tanin*, *terpenoid*, *steroid*.

Pada penelitian ini, uji skrining fitokimia dilakukan secara kualitatif dengan cara melihat perubahan warna yang terjadi setelah ditambahkan reagen pereaksi yang sesuai. Pada ekstrak etanol kulit batang delima terdapat kandungan senyawa metabolit sekunder yang menunjukkan hasil positif terdiri dari *flavonoid*, *alkaloid*, *saponin*, dan *tanin*, hal tersebut menunjukkan adanya aktivitas antioksidan.

Berdasarkan hasil uji penelitian sebelumnya terdapat persamaan kandungan metabolit sekunder antara bagian tumbuhan delima lainnya yaitu berdasarkan hasil pengujian fitokimia daun dan kulit buah delima yang dilakukan oleh Lestari (2021) positif mengandung *saponin*, *tanin*, *steroid terpenoid* dan *kuinon*. Penelitian lainnya yang dilakukan oleh wahyudi dkk (2022) yaitu uji aktivitas antioksidan sari buah delima putih (*Punica granatum* L.) menunjukkan bahwa hasil uji skrining fitokimia sari buah delima putih positif mengandung *alkaloid*, *flavonoid fenol*, *tanin* dan *terpenoid*.

Hasil uji kualitatif tersebut menunjukkan adanya senyawa positif, diduga senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri yang ditunjukkan dengan terdapatnya senyawa *flavonoid* dan *tanin* (Jirna dkk., 2020). Kandungan senyawa metabolit sekunder tersebut dapat dipengaruhi oleh spesiesnya, serta kadar senyawanya tergantung pada lingkungan hidup tanaman tersebut (Dewi dkk, 2019).

Flavonoid sebagai salah satu kelompok senyawa fenolik yang banyak terdapat pada jaringan tanaman dapat berperan sebagai antioksidan. Aktivitas antioksidatif *flavonoid* bersumber pada kemampuan mendominasi atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengikat logam. Pada pengujian *flavonoid* dapat diuji

keberadaannya dengan menggunakan Mg dan HCL pekat, menghasilkan senyawa *flavonoid* yang berwarna kuning atau jingga ketika tereduksi dengan Mg dan HCL. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya perubahan warna kuning yang berarti menunjukkan bahwa terdapat senyawa *flavonoid* pada ekstrak kulit batang delima.

Alkaloid adalah salah satu metabolit sekunder yang terdapat pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada tumbuhan, yang bisa dijumpai pada bagian daun, ranting, biji, dan kulit batang. *Alkaloid* memiliki efek dalam bidang Kesehatan berupa pemicu sistem saraf, menaikkan tekanan darah, mengurangi rasa sakit, antimikroba, obat penenang, obat penyakit jantung serta lainnya (Aksara dkk., 2013). Pada pengujian *alkaloid* dengan menggunakan pereaksi Mayer menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya endapan berwarna putih kekuningan. Perubahan tersebut terjadi karena penambahan asam klorida yang bertujuan untuk mengekstrak *alkaloid* yang bersifat basa dengan menggunakan larutan asam. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya endapan, yang berarti menunjukkan bahwa terdapat senyawa *alkaloid* pada ekstrak kulit batang delima.

Senyawa saponin mempunyai aktivitas sebagai antioksidan karena dapat meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hiperoksida sehingga mampu mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas (Hasan dkk., 2022). Pada pengujian *saponin* dengan menggunakan aquadest yang telah dipanaskan, kemudian ditambahkan dengan HCL 2N. *Saponin* positif pada ekstrak yang diuji ditandai dengan terbentuknya busa setinggi 1-10cm dengan selang waktu kurang lebih 10 menit. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya busa setinggi 1-10cm dengan selang waktu kurang lebih 10 menit, yang menunjukkan berarti terdapat senyawa *saponin* pada ekstrak kulit batang delima.

Tanin adalah senyawa aktif metabolit sekunder golongan polifenol yang terdiri dari gugus hidroksi dan beberapa gugus terkait seperti karboksil yang dihasilkan oleh tanaman (Hersila dkk., 2023). Tanin memiliki sifat astringen, polifenol, serta memiliki rasa pahit. Tanin biasanya dipakai untuk pengobatan penyakit kulit, antibakteri, pengobatan diare, hemostatik (menghentikan perdarahan) serta wasir (Jirna & Ratih, 2021). Pada pengujian *tanin* dilakukan dengan penambahan FeCl_3 . Senyawa tanin merupakan senyawa yang bersifat polar karena adanya gugus OH, etika ditambahkan FeCl_3 akan terjadi perubahan warna seperti biru tua atau hijau kehitaman yang menandakan adanya senyawa tanin. Hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya perubahan warna biru tua atau biru kehitaman, yang berarti menunjukkan bahwa terdapat senyawa *tanin* pada ekstrak kulit batang delima.

3. Uji Antioksidan

Metode pengujian yang digunakan untuk uji aktivitas antioksidan pada ekstrak kulit batang delima adalah metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*). Metode DPPH ini dipilih karena metode yang sederhana, mudah, cepat, serta peka dan hanya memerlukan sedikit sampel untuk evaluasi aktivitas antioksidan dari senyawa bahan alam sehingga digunakan secara luas untuk menguji kemampuan senyawa yang berperan sebagai pendonor elektron.

Metode uji aktivitas antioksidan memiliki prinsip yaitu pengukuran aktivitas antioksidan secara kuantitatif dengan melakukan pengukuran penangkapan radikal DPPH oleh suatu senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dengan memakai spektrofotometer UV-Vis sehingga dengan demikian akan diketahui nilai aktivitas perendaman radikal bebas yang dinyatakan dengan nilai IC_{50} (*Inhibitory Concentration*). Nilai IC_{50} merupakan besarnya konsentrasi senyawa uji yang bisa

meredam radikal bebas sebanyak 50%. Semakin kecil nilai IC_{50} maka aktivitas peredaman radikal bebas semakin tinggi (Ridho, 2013). Metode DPPH diukur dengan alat spektrofotometri UV-Vis, pengukuran menggunakan instrument ini dipilih karena dapat menetapkan kualitas zat yang sangat kecil dan hasil yang diperoleh cukup akurat, dimana angka digital maupun grafik yang sudah diregresikan (Sari & Hastuti, 2020).

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH (*1,1-difenil-2-pikrilhidrazil*) pada ekstrak etanol kulit batang delima, memperoleh hasil yang disajikan pada gambar 8. Pada gambar tersebut, terlihat bahwa persentase inhibisi mengalami peningkatan seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak. Hal ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh (Damanis dkk., 2020) yang mengatakan bahwa peningkatan persen inhibisi ini pada ekstrak menandakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula persen inhibisi yang dihasilkan. Diperoleh hasil R^2 pada kurva hubungan konsentrasi dengan % inhibisi pada sampel kulit batang delima diatas yaitu 0,9978 menunjukkan bahwa kurva tersebut linier.

Pada penelitian ini, uji aktivitas antioksidan menggunakan parameter *Inhibitory Concentration* (IC_{50}) untuk mendefinisikan suatu hasil pengujian dengan DPPH. Nilai IC_{50} adalah nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi senyawa uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50%. Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit batang delima memperoleh nilai IC_{50} sebesar 94.94 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai *Antioxidant Activity Index* (AAI) didapatkan hasil 0,42 ppm (<0,5 ppm). Ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit batang delima termasuk dalam kategori lemah. Hal tersebut menunjukkan bahwa kemampuan menangkap radikal

bebas dari ekstrak etanol kulit batang delima termasuk dalam golongan kategori lemah.

Hasil ini didukung oleh penelitian yang dilakukan oleh Lestari (2021) pada pengujian skrining fitoimia dan uji aktivitas antioksidan dari daun dan kulit buah tiga macam tanaman delima (*Punica granatim* L.) dengan hasil uji aktivitas antioksidan dari daun dan kulit buah masuk dalam kategori sedang, serta didukung oleh penelitian lainnya yang dilakukan oleh Wahyudi dkk (2022) yaitu uji aktivitas antioksidan sari buah delima putih (*Punica granatum* L.) menggunakan metode dpph yang di formulasikan menjadi permen jelly memiliki aktivitas antioksidan yang termasuk kategori sedang. Hasil tersebut menunjukkan adanya perbedaan hasil aktivitas antioksidan yang terdapat pada bagian daun, kulit buah, sari buah, kulit batang delima. Hal ini disebabkan oleh perbedaan jumlah kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada bagian daun, kulit buah, dan sari buah delima.

Pada bagian daun dan kulit buah mengandung *saponin, kuinon, tannin, dan steroid terpenoid.*, sedangkan pada sari buah mengandung senyawa metabolit sekunder berupa *Alkaloid, flavonoid, fenol, tannin, dan terpenoid.* Perbedaan lainnya pada ekstrak kulit batang delima adalah tidak terkandung senyawa metabolit sekunder, *steroid, terpenoid.*

Terpenoid, senywa steroid, juga berfungsi sebagai antioksidan alami dan dapat memengaruhi aktivitas antioksidan, menurut Aljaber (2011) (Zuraida dkk., 2017). Aktivitas antioksidan tidak selalu dikorelasiakn dengan kadar *fenol* dan *flavonoid*, hal tersebut disebabkan karena terdapat beberapa faktor eksternal seperti suhu dan waktu pengeringan, metode pengeringan, metode analisis yang berbeda, perbedaan

asal bahan baku, tempat tumbuh, iklim, kondisi lingkungan, dan cara budidaya yang berbeda sehingga standar baku yang dipakai juga berbeda (Handayani & Sriherfyna, 2016). Perbedaan dari kandungan kimia suatu tanaman dapat juga disebabkan oleh perbedaan letak geografisnya. Kandungan kimia yang berbeda dapat menyebabkan perbedaan aktivitas farmakologi tanaman, dimana salah satunya yaitu aktivitas antioksidan (Martiningsih dkk., 2016).