

Penentuan Kadar Flavonoid Total Dan Uji Antioksidan Ekstrak Dan Fraksi N-Heksana-Etil Asetat-Air Kulit Delima Putih (*Punica Granatum L.*) Menggunakan Metode FRAP

Eny Wijayanti

Universitas Duta Bangsa Surakarta

Abstract. *In the body there are a lot of free radicals that are needed for health in a certain amount free radicals are damaging and dangerous so that there are no excess free radicals the body needs antioxidants as body protectors, so in this study a total flavonoid level test and antioxidant activity test of ethanol extract and n fraction were carried out. -hexane, ethyl acetate efraction, and water fraction using the FRAP method with the aim of knowing the secondary metabolites contained in the ethanol extract of white pomegranate peel (*Punica granatum L.*) and determining the total flavonoid content in white pomegranate peel (*Punica granatum L.*) and determine the value of antioxidant activity in the ethanol extract of white pomegranate peel (*Punica granatum L.*) using the FRAP method. The method used in this research is experimental research. The research phase started with sampling, determination of plants, manufacture of simplicia, preparation of extracts, screening of phytochemicals, preparation of test solutions, determination of flavonoid levels, testing of antioxidant activity, and data analysis. Secondary metabolite compounds in the ethanol extract of white pomegranate peel (*Punica granatum L.*) include alkaloids, flavonoids, tannins, terpenoids and saponins. The total flavonoid content of white pomegranate peel extract (*Punica granatum L.*) as seen using UV-Vis spectrophotometry was 55.3 mg QE/g. Ethanol extract, n-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction of white pomegranate peel extract (*Punica granatum L.*) had antioxidant activity with values of 2,501 mgQE/g sample, 3,125 mgQE/g sample, 3,055 mgQE/g sample, respectively, 30,516 mgQE/g sample, if you look at using the FRAP method.*

Keywords: *White Pomegranate (*Punica Granatum L.*), Flavonoids, Antioxidants, FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)*

Abstrak. Dalam tubuh terdapat banyak sekali radikal bebas yang diperlukan untuk kesehatan dalam jumlah tertentu radikal bebas bersifat merusak dan berbahaya agar tidak kelebihan radikal bebas tubuh memerlukan antioksidan sebagai pelindung tubuh maka dalam penelitian ini akan dilakukan uji kadar flavonoid total dan uji aktivitas antioksidan ekstrak etanol dan fraksi n-heksana, efraksi etil asetat, dan fraksi air menggunakan metode FRAP dengan tujuan mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) dan penentuan kadar flavonoid total pada kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) dan mengetahui nilai aktivitas antioksidan pada ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) dengan menggunakan metode FRAP. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Tahap penelitian dimulai dari pengambilan sampel, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, skrining fitokimia, pembuatan larutan uji, penetapan kadar flavonoid, pengujian aktivitas antioksidan, dan analisis data. Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin. Kadar total flavonoid ekstrak kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) yang dilihat menggunakan spektrofotometri UV-Vis yaitu 55,3 mg QE/g. Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai berturut-turut 2.501 mgQE/g sampel, 3.125 mgQE/g sampel, 3.055 mgQE/g sampel, 30.516 mgQE/g sampel, jika lihat menggunakan metode FRAP.

Kata Kunci: Delima Putih (*Punica Granatum L.*), Flavonoid, Antioksidan, FRAP (Ferric Reducing Antioxidant Power)

LATAR BELAKANG

Dalam tubuh terdapat banyak sekali radikal bebas. Radikal bebas merupakan atom atau molekul yang tidak stabil dan sangat reaktif karena mengandung satu atau lebih elektron tidak berpasangan pada orbital terluarnya (Irianti, 2021). Radikal bebas diperlukan untuk kesehatan dalam jumlah tertentu, tetapi radikal bebas bersifat merusak dan sangat berbahaya. radikal bebas dapat menyebabkan kerusakan sel dengan cara serangkaian reduksi asam lemak yang

Received Juli 03, 2023; Revised Agustus 01, 2023; Accepted September 23, 2023

* Eny Wijayanti,

disebabkan oleh peroksidasi komponen lipid dari membran sitosol yang menyebabkan kerusakan organel sel dan membran, kerusakan DNA, dan modifikasi protein (Irianti, 2021). Selain itu radikal bebas juga mengakibatkan penyakit jantung, kanker, penurunan fungsi ginjal, dan katarak (Fakriah *et al.*, 2019). Radikal bebas dapat bersumber dari dalam dan luar tubuh. Radikal bebas yang berasal dari luar tubuh dapat dihasilkan dari asap rokok, polusi, radiasi, sinar UV, obat pestisida, limbah industri, dan ozon. Mirisnya dari data IQAir 2021, Indonesia menduduki posisi ke-17 dunia dengan tingkat polusi udaranya (IQAir, 2021). Agar tidak kelebihan radikal bebas, tubuh memerlukan antioksidan sebagai pelindung.

Antioksidan merupakan senyawa yang dapat mendonorkan elektron kepada molekul radikal bebas sehingga dapat menstabilkan radikal bebas dan menghentikan reaksi berantai (Irianti, 2021). Antioksidan dapat bersumber dari 2 jenis, yaitu alami dan sintetis. Salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antioksidan alami adalah buah delima (Isrul *et al.*, 2020).

Buah delima putih (*Punica granatum L.*) dikenal dengan aktivitas antioksidan kuat yang mampu mencegah atau mengobati kerusakan akibat stres oksidatif sehingga melindungi kerusakan organ melalui mekanisme antioksidan (Harling, 2019).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol yang sering ditemukan di alam dan memiliki zat warna yang bermacam-macam diantaranya merah, ungu, biru dan kuning (Sabrina, 2015). Flavonoid ini berfungsi sebagai zat pengatur tumbuh, zat antimikroba, mengatur proses fotosintesis, antivirus, anti insektisida, anti inflamasi dan antioksidan secara langsung (Sumathy, 2013). Struktur dasar dari flavonoid yaitu *2-phenyl-benzo pyrane* atau *inti flavane*, yang terbentuk dari 2 cincin benzena yang beikatan dengan cincin pyrane (Rusmaputeri, 2018). Hal ini diperkuat oleh Kholisa (2018), tanaman delima memiliki kandungan polifenol seperti antosianin, tannin, alkaloid dan flavonoid. Pada penelitian ini di uji berbagai jenis pelarut untuk fraksinasi dari kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) yang awal mulanya di ekstrak dengan pelarut etanol.

KAJIAN TEORITIS

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi (Winarsi, 2007). Antioksidan juga didefinisikan sebagai senyawa-senyawa yang melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas. Keberadaan radikal bebas di dalam tubuh manusia dapat menyebabkan reaksi oksidasi. Apabila keberadaan radikal bebas di dalam tubuh melebihi batasan maka akan menyebabkan stres oksidatif (Agarwal *et al.*, 2005).

Menurut hasil penelitian Amarowicz (2000), menyatakan penggunaan bahan sintetis meningkatkan resiko penyakit kanker. Studi epidemiologi menunjukkan bahwa adanya peningkatan konsumsi antioksidan alami yang terdapat dalam buah, sayur, bunga, dan bagian-bagian lain dari tumbuhan dapat mencegah penyakit-penyakit akibat stres oksidatif seperti kanker, jantung, peradangan ginjal dan hati. Aktivitas antioksidan menggambarkan kemampuan suatu senyawa antioksidan untuk menghambat laju reaksi pembentukan radikal bebas. Penentuan kapasitas antioksidan secara *in vitro* ditentukan secara spektroskopi UV-Vis. Eksplorasi senyawa fitokimia terutama senyawa bioaktif yang terdapat pada tanaman obat atau bukan tanaman obat secara terus menerus diteliti untuk mendapatkan senyawa antioksidan yang berfungsi untuk menjaga kesehatan tubuh manusia dari serangan suatu penyakit (Parwata, 2016).

Mekanisme antioksidan dalam menghambat reaksi oksidasi dapat disebabkan oleh empat macam mekanisme, yaitu: pelepasan hidrogen dari antioksidan, pelepasan elektron dari antioksidan, adisi asam lemak ke cincin aromatik pada antioksidan, serta pembentukan senyawa kompleks antara lemak dan cincin aromatik dari antioksidan (Sayuti dan Yenrina, 2015).

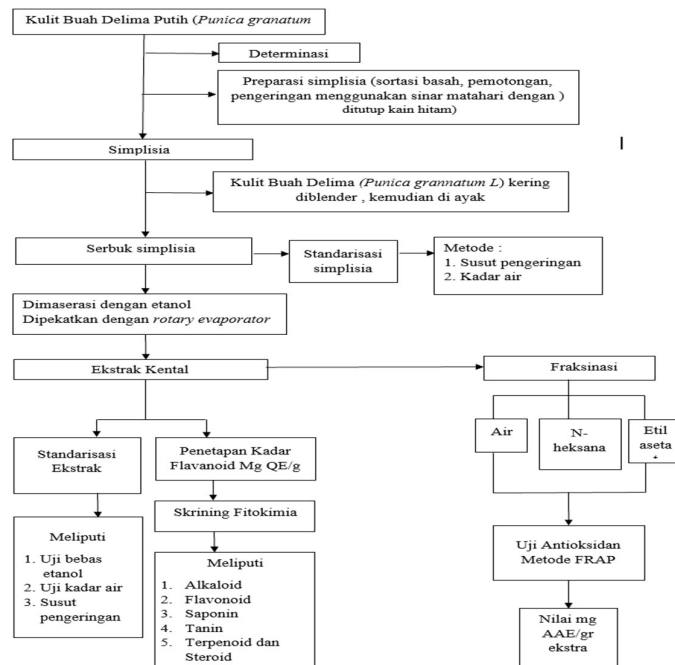
Delima Putih (*punica granatum L.*) merupakan salah satu jenis tanaman obat tradisional yang tumbuh di daerah tropis ataupun subtropis dari dataran rendah ke dataran tinggi sampai sekitar 1000 m dpl (Jayesh, 2004). Delima tergolong buah yang berasal dari Iran, Afganistan, Himalaya dan Pakistan (Deepika, 2012). Dahulu kala tanaman delima ini sering dibudidayakan di daerah Mediterania, Malaysia, Asia Tenggara, Afrika serta di seluruh kawasan India dan Afrika tropis (Khasanah, 2011).

Tumbuhan delima memiliki fungsi dan kandungan zat fenolik yang tinggi sehingga menyebabkan dominannya antioksidan (Ahad, 2018). Aktivitas antioksidan di dalam tubuh manusia memiliki peran di berbagai kegiatan farmakologi diantaranya, antibakteri (Hasan, 2018). Antioksidan merupakan bahan yang bekerja dengan menghambat atau mencegah keruntuhan sel akibat dari proses oksidasi yang berasal dari radikal bebas. Antioksidan bekerja dengan menyalurkan salah satu elektronnya kepada senyawa yang bersifat oksidan sehingga senyawa oksidan tersebut dapat dihambat aktivitasnya (Winarsi, 2007).

Tanaman delima memiliki varian warna yang berbeda sehingga dikelompokkan menjadi tiga variasi diantaranya delima merah, delima hitam dan bervariasi delima putih (Thulasiram, 2013). Buah delima mengandung kandungan flavonoid lebih banyak sebanyak 3 kali lipat jika dibandingkan dengan tanaman teh hijau, jeruk dan wine. Flavonoid berperan sebagai radikal bebas di dalam tubuh sehingga mampu memperbaiki sel-sel yang sudah rusak dan memberikan perlindungan pada kulit (Madhawati, 2012). Berdasarkan Penelitian di UPT Laboratorium

Analitik Universitas Udayana menyatakan bahwa kulit buah delima memiliki kandungan kadar total flavonoid sebesar 1148,52 mg/100gram. Sedangkan, kandungan polifenol pada buah delima sebesar 1,56 mg/ml. Kandungan senyawa flavonoid khususnya polifenol pada biji buah delima sebanyak 14,5 % dan kulit buah delima sebanyak 31,5% (Li Y., 2006).

Flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa fenol yang sering ditemukan di alam dan memiliki zat warna yang bermacam-macam diantaranya merah, ungu, biru dan kuning (Sabrina, 2015). Flavonoid ini berfungsi sebagai zat pengatur tubuh, zat anti mikroba, mengatur proses fotosintesis, antivirus, anti insektisida, antiinflamasi dan antioksidan secara langsung (Sumathy, 2013).



METODE PENELITIAN

Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah penelitian eksperimental. Penelitian ini bertujuan untuk menetapkan kadar flavonoid dalam ekstrak etanol dan uji antioksidan ekstrak etanol serta fraksi kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) menggunakan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant power*). Tahap penelitian dimulai dari pengambilan sampel, determinasi tumbuhan, pembuatan simplisia, pembuatan ekstrak, skrining fitokimia, pembuatan larutan uji, penetapan kadar flavonoid, pengujian aktivitas antioksidan, dan analisis data.

Waktu dan tempat

Penelitian dilakukan di Laboratorium Bahan Alam Farmasi Prodi S1 Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Duta Bangsa Surakarta dan Laboratorium Farmasetika Universitas Muhammadiyah Surakarta. Penelitian ini dilakukan dari bulan Mei sampai bulan Juli tahun 2023. Determinasi dan Identifikasi dan determinasi buah delima putih dilakukan di Laboratorium Pembelajaran Biologi Fakultas Sains dan Teknologi Terapan Universitas Ahmad Dahlan, Banguntapan, Bantul, Yogyakarta.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Standarisasi Serbuk Simplisia Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Standarisasi Serbuk Simplisia kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) dilakukan dengan standarisasi terlebih dahulu. Standarisasi simplisia dilakukan dengan harapan dapat menjamin kualitas sampel yang digunakan dalam penelitian. Standarisasi serbuk simplisia meliputi penetapan susut pengeringan dan penetapan kadar air.

1. Susut Pengeringan Serbuk

Tabel 1.1 Susut Pengeringan Serbuk

Replikasi	Berat sampel	Berat krus kosong	Berat sampel sebelum pemanasan	Berat sampel setelah pemanasan	Nilai susut pengeringan
Replikasi 1	2	31,735	33,760	33,570	8,25 %
Replikasi 2	2	31,735	33,760	33,565	8,5 %
Replikasi 3	2	31,735	33,760	33,565	8,5 %

2. Penetapan Kadar Air Serbuk

Uji penetapan kadar air suatu serbuk bertujuan untuk melihat kandungan air yang terkandung dalam serbuk. Kadar air dalam serbuk harus seminimal mungkin karena jika kadar air yang terkandung dalam serbuk terlalu tinggi maka dapat menyebabkan bahan rentan ditumbuhi mikroba yang dapat mempengaruhi kandungan dalam bahan. Struktur kimia yang terkandung pada senyawa aktif yang terkandung dalam serbuk halus akan terpengaruh oleh air yang terkandung. Penetapan kadar air serbuk simplisia kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) menggunakan alat *Moisture Balance*. Hasil penetapan kadar air dalam serbuk simplisia kulit delima putih (*Punica granatum L.*) sebanyak 2,30 (% b/b). Dari hasil penetapan kadar air tersebut dapat disimpulkan bahwa kadar air yang terkandung dalam serbuk simplisia kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) sudah memenuhi syarat.

Pembuatan Ekstrak Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Pembuatan ekstrak kulit delima putih (*Punica granatum L.*) dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Sebanyak 300gram serbuk kulit delima putih (*Punica granatum L.*) diekstraksi dengan etanol sebanyak 3000 ml. Metode maserasi dipilih karena proses yang mudah, tidak menggunakan suhu tinggi yang mungkin dapat merusak senyawa kimia yang memiliki aktivitas antioksidan dalam kulit delima putih (*Punica granatum L.*), serta tidak memakan biaya yang mahal. Pelarut etanol 96% digunakan karena etanol merupakan pelarut yang bersifat universal yang dapat melarutkan analit yang bersifat polar, semi polar, dan non polar. Maserasi dilakukan selama 3 x 24 jam dengan beberapa kali pengadukan untuk menarik zat aktif yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*). Setelah 3 x 24 jam dilakukan penyaringan. Residu penyaringan maserasi kemudian dilakukan remaserasi dengan menggunakan etanol 96% sebanyak 1.000 ml selama 1 x 24 jam. Hasil remaserasi kemudian disaring dan disatukan dengan hasil maserasi awal dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40 - 60°C dan dipanaskan diatas *waterbath* untuk mendapatkan ekstrak kental. Hasil bobot serbuk diperoleh sebanyak 300 gram dan bobot ekstrak yang diperoleh sebanyak 117,77 gram hasil rendemen yang diperoleh dari proses maserasi dan remaserasi didapatkan hasil 39,25 % dapat dilihat pada tabel 1.2

Tabel 1.2 Rendemen Ekstrak Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Bobot Serbuk (g)	Bobot Ekstrak (g)	Randemen %
300	117,77	39, 25 %

Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Mengidentifikasi kandungan senyawa kimia dalam sampel bertujuan untuk mengetahui senyawa kimia yang terdapat dalam ekstrak kulit delima putih (*Punica granatum L.*). Identifikasi senyawa kimia atau skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*). Metabolit sekunder yang diuji secara kualitatif ini adalah flavonoid, alkaloid, saponin, terpenoid, dan tanin. Skrining fitokimia dapat dilakukan dengan 2 metode, yaitu metode uji tabung (kompleks warna) dan uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis). Hasil uji tabung ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) dapat dilihat pada tabel 1.3

Tabel 1.3 Hasil Uji Fitokimia Uji Tabung Ekstrak Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Senyawa	Pereaksi	Tanda positif	Hasil pengamatan	Kesimpulan
---------	----------	---------------	------------------	------------

Alkaloid	Mayer	Tidak terbentuk endapan putih	Tidak terbentuk endapan putih kekuningan (Yuda <i>et al.</i> , 2017)	
	Dragendrof	Terbentuk endapan jingga / merah coklat	Terbentuk endapan merah kecoklatan Yuda <i>et al.</i> , 2017)	(+)
	Burchard	Terbentuk endapan coklat	Terbentuk endapan coklat kehitaman (Yuda <i>et al.</i> , 2017)	
Flavonoid	Mg + HCl p	Perubahan warna kuning, orange, merah jingga sampai keunguan	Terjadi perubahan warna menjadi merah keunguan (Yuda <i>et al.</i> , 2017)	(+)
Saponin	Air Suling	Terbentuk busa Stabil	Terbentuk busa Stabil (Yuda <i>et al.</i> , 2017)	(+)
Tanin	FeCl ₃ 5%	Terbentuk warna biru tua, hijau kehitaman atau hitam	Terjadi perubahan warna menjadi hijau gelap / kehitaman (Yuda <i>et al.</i> , 2017)	(+)
Triterpenoid	Liebermann-Burchard	Terbentuk cincin Kecoklatan	Terdapat warna merah kecoklatan (Yuda <i>et al.</i> , 2017)	(+)

Berdasarkan uji tabung dalam uji fitokimia ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) dapat diketahui bahwa senyawa fitokimia yang terkandung dalam daun bayam merah yaitu alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid.

Pengujian skrining fitokimia yang selanjutnya yaitu menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Dalam pengujian KLT fase diam yang digunakan yaitu plat silika gel yang telah diaktivasi sebanyak 5 plat. Fase gerak yang digunakan pada penelitian ini yaitu kloroform dan metanol dengan perbandingan (9 : 1). Skrining fitokimia dilakukan pada fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dari ekstrak kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) di dapatkan hasil skrining fitokimia yang dapat dilihat pada tabel 1.4

Tabel 1.4 Hasil Uji KLT Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Senyawa	Peraksi	Hasil Pengamatan	Nilai Rf	Referensi
Alkaloid	Sitoborat	Positif, terdapat bercak bewarna jingga pada UV 366.	0,47	(Ihwan, 2011)
Flavonoid	Dragendroff	Positif, terdapat bercak bewarna kuning kehijauan pada UV 366.	0,75	(Wagner, 2016)
Tanin	FeCl ₃ 5 %	Positif, terdapat bercak coklat kehitaman pada UV 366.	0,67	(Khaerati, 2011)
Terpenoid	H ₂ SO ₄ 10 %	Positif, terdapat warna ungu kemerahan pada UV 366.	0,85	(Bintoro, 2017)
Saponin	Liberman Burchad	Positif, terdapat warna hijau muda kekuningan pada UV 366.	0,45	(Bintoro, 2017)

Pada pengujian alkaloid dengan fase gerak n-butanol dan amonia dengan perbandingan (5 : 0,5). Setelah dilakukan penyemprotan dengan pereaksi dragendroff terlihat adanya noda berwarna jingga, bercak berada pada jarak 5,4 cm. Dari data tersebut dapat dihitung nilai Rf 0,47 Berdasarkan data tersebut diduga senyawa yang diuji merupakan senyawa alkaloid.

Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Fase kedua menggunakan pelarut etil asetat yang memiliki berat jenis 0,902 gram. Etil asetat memiliki sifat pelarut semi polar, pelarut yang digunakan untuk pelarut senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid. Fase etil asetat berada diatas karena berat jenis etil asetat lebih kecil dari fase etanol air. Kedua fase dipisahkan dan dilakukan fraksinasi ulang pada fase etanol air sebanyak dua kali. Hasil fraksinasi dari kedua fase dipisahkan dan dipekatkan diatas

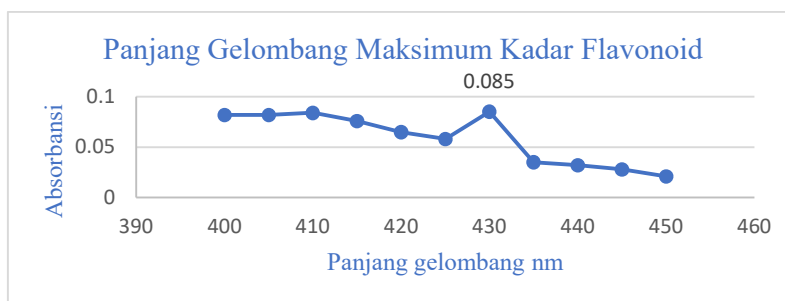
waterbath hingga terbentuk hasil yang pekat. Hasil rendemen fraksinasi dapat dilihat pada tabel 1.5.

**Tabel 1.5 Hasil Fraksinasi Ekstrak Kulit Buah Delima Putih
(*Punica granatum L.*)**

Bobot Ekstrak (g)	Pelarut Fraksi	Bobot Fraksi (g)	Randemen (%) b/b
10	N-Heksana	3,3	33 %
10	Etil Asetat	1,52	15,2 %
10	Air	1,2	12 %

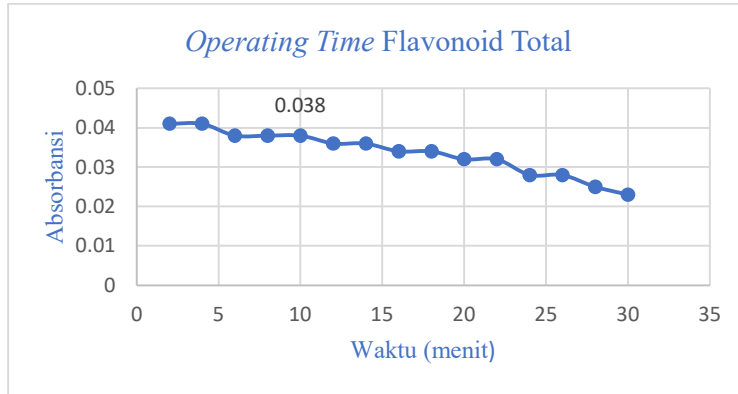
Penetapan Kadar Total Flavonoid

Tahap penetapan kadar flavonoid dimulai dari penetapan panjang gelombang maksimum, *operating time* dan pembuatan kurva baku kuersetin dapat dilakukan terlebih dahulu sebelum melakukan penetapan kadar total flavonoid pada ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*). Dilakukannya penetapan panjang gelombang maksimum memiliki tujuan untuk menentukan panjang gelombang pengukuran dimana kompleks antara kuersetin dengan $AlCl_3$ memberikan absorbansi yang optimum dan memberikan kepekaan tinggi (Suharyanto dan Prima, 2020). Penetapan panjang gelombang maksimum dilakukan pada panjang gelombang 400-450 nm. Dari penetapan panjang gelombang maksimum diperoleh 430 nm dengan absorbansi 0,085. Hasil penetapan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 1.6



Gambar 1.6 Penetapan Panjang Gelombang Maksimum Flavonoid

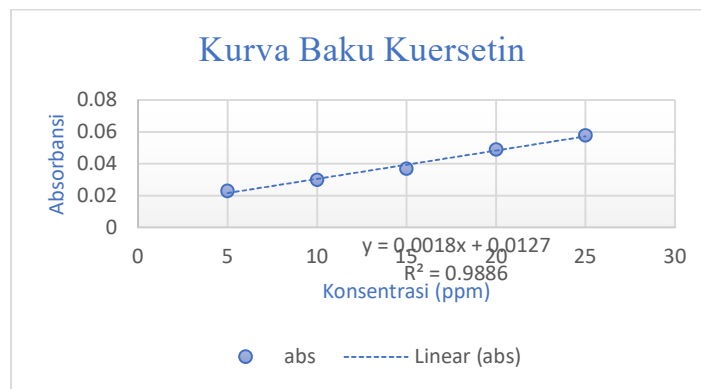
Pengukuran pada panjang gelombang maksimum akan memberikan perubahan absorbansi paling besar untuk setiap satuan kadar, sehingga jika dibuat menjadi beberapa replikasi akan meminimalkan terjadinya kesalahan pengukuran. Panjang gelombang maksimum kuersetin yang telah diperoleh kemudian digunakan untuk menentukan *operating time*. *Operating Time* perlu dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui waktu paling stabil dalam pengukuran suatu senyawa yang diperoleh saat absorbansi.



Berdasarkan hasil penentuan *operating time* kuersetin yang diperoleh dapat diketahui bahwa nilai absorbansi yang stabil terletak pada menit ke 6 - 10. Pengukuran absorbansi dilakukan pada menit ke-10 diperoleh nilai absorbansi stabil pada angka 0,038. Hasil *operating time* yang diperoleh digunakan sebagai waktu perlakuan inkubasi larutan sebelum pengukuran, yang bertujuan untuk membuat reaksi berjalan sempurna sehingga memberikan intensitas warna yang maksimal. Pada penentuan kurva baku kuersetin didapatkan persamaan regresi linier antara konsentrasi kuersetin (sumbu x) versus absorbansi (sumbu y) dan didapat kan persamaan $y = 0,0018x + 0,0127$ dengan nilai koefisien korelasi (r) = 0,9886.

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata
	1	2	3	
5	0,022	0,024	0,024	0,023
10	0,031	0,030	0,030	0,030
15	0,037	0,036	0,039	0,037
20	0,051	0,047	0,049	0,049
25	0,060	0,057	0,058	0,058

Hasil kurva baku kuersetin dapat dilihat pada gambar 1.7.

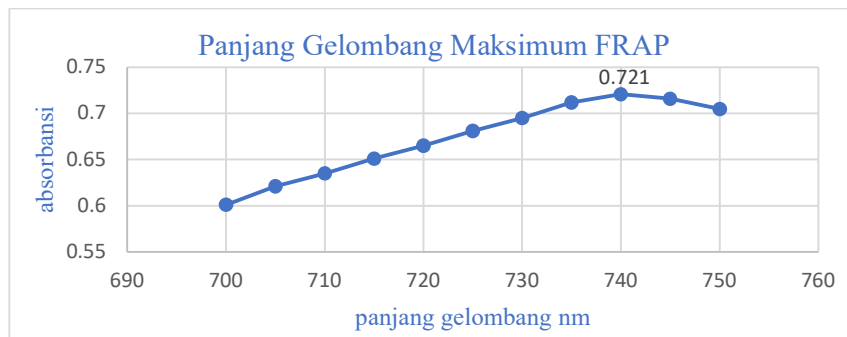


Gambar 1.8 Penentuan Kurva Baku Kuersetin

Penetapan kadar flavonoid dilakukan pada ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum* L) dengan konsentrasi 1000 ppm didapatkan nilai x 5,17 ppm, 6,28 ppm, 4,61 ppm, pada perhitungan kadar flavonoid total didapatkan nilai 51,7 mg QE/g, 62,8 mg QE/g, 46,1 mg QE/g dengan rata-rata kadar total flavonoid sebesar 55,3 mg QE/g.

Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum* L.) dengan Metode FRAP

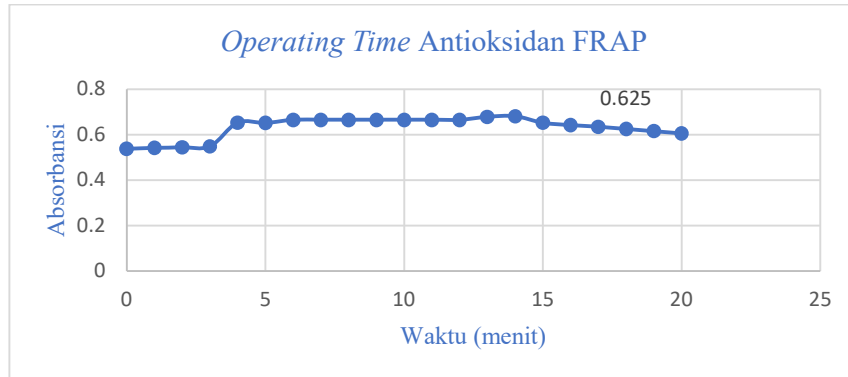
Pengujian aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi n-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi etanol air dari kulit buah delima putih (*Punica granatum* L). Prinsip metode FRAP adalah didasarkan pada kemampuan senyawa antioksidan untuk mereduksi ion Fe^{3+} menjadi Fe^{2+} sehingga daya antioksidan suatu senyawa dianalogikan dengan kemampuannya kurangi itu. Penambahan larutan TCA berfungsi untuk mengendapkan kompleks kalium ferrosianida. Sedangkan penambahan $FeCl_3$ berfungsi untuk membentuk kompleks hijau ke biru (biru berlin). Jadi pengurangan kemampuan dapat ditentukan dengan mengukur kompleks warna pada 721 nm. Senyawa yang memiliki kekuatan untuk mengurangi cenderung bertindak sebagai antioksidan karena mereka dapat menstabilkan radikal dengan mendonor elektron atau atom hidrogen sehingga senyawa radikal menjadi lebih stabil. Sebelum dilakukan pengujian aktivitas antioksidan pada sampel kulit buah delima putih (*Punica granatum* L) , terlebih dahulu dilakukan penetapan panjang gelombang maksimum. Pengukuran panjang gelombang maksimum menggunakan kuersetin pada konsentrasi 20 ppm. Pengukuran panjang gelombang maksimum dilakukan pada panjang gelombang 700-750 nm. Hasil penentuan panjang gelombang maksimum dapat dilihat pada gambar 1.9



Gambar 1.9 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum FRAP

Berdasarkan grafik hasil panjang gelombang maksimum dapat diketahui bahwa panjang gelombang maksimum FRAP yang diperoleh adalah 740 nm dengan nilai absorbansi 0,721. Setelah didapatkan panjang gelombang maksimum, selanjutnya menentukan *operating time*. Penentuan *operating time* dilakukan untuk mengukur kestabilan reaksi antara larutan

FRAP dengan kuersetin. Penentuan *operating time* dilakukan dengan interval waktu 2 menit selama 20 menit pada panjang gelombang maksimum 740 nm.



Penentuan aktivitas antioksidan terhadap kuersetin sebagai baku pembandingan dan sampel menggunakan ekstrak etanol, fraksi etanol air, fraksi nheksana, dan fraksi etil asetat dari kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) dengan deret konsentrasi 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 25 ppm, 50 ppm, dan 100 ppm. Penentuan aktivitas antioksidan dengan metode FRAP dapat dilihat pada tabel 1.10.

Tabel 1.10 Penentuan Aktivitas Antioksidan dengan Metode FRAP

Sampel	Absorbansi	Aktivitas (mgQE/g sampel)	Rata-rata (mgQE/g sampel)
ekstrak etanol	0,638	2.504,2	2.500
	0,636	2.483,2	
	0,639	2.514,7	
fraksi n-heksana	0,696	3.114,7	3.125
	0,697	3.125,3	
	0,698	3.135,8	
fraksi etil asetat	0,710	3.262,1	3.055
	0,671	2.851,6	
	0,690	3.051,6	
fraksi air	0,685	2.998,9	3.024
	0,687	3.020,0	
	0,690	3.051,6	

Berdasarkan nilai aktivitas antioksidan yang diperoleh dapat diketahui bahwa rata-rata nilai aktivitas antioksidan ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) adalah 2.500 mgQE/g sampel, fraksi n-heksana 3.125 mgQE/g sampel, fraksi etil asetat 3.055 mgQE/g sampel, fraksi air 3.024 mgQE/g sampel.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

1. Senyawa metabolit sekunder pada ekstrak etanol kulit buah delima putih (*Punica granatum* L.) meliputi alkaloid, flavonoid, tanin, terpenoid dan saponin.
2. Kadar total flavonoid ekstrak kulit buah delima putih (*Punica granatum* L) yang dilihat menggunakan spektrofotometri UV-Vis yaitu 55,3 mg QE/g.
3. Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air ekstrak kulit buah delima putih (*Punica granatum* L) memiliki nilai aktivitas antioksidan dengan rata rata nilai 2.500 mg QE/g sampel, 3.125 mg QE/g sampel, 3.055 mg QE/g sampel, 3.024 mg QE/g sampel jika dilihat menggunakan metode FRAP.

Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, penulis menyarankan perlu dilakukan isolasi untuk mengetahui senyawa senyawa aktif pada ekstrak kulit buah delima putih (*Punica granatum* L) yang dapat berperan dalam aktivitas antioksidan.

DAFTAR REFERENSI

- Departemen Kesehatan, & Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan.
- Sabrina, G. A., & Probosari, N. (2015). Daya Antibakteri Fraksi n-butanol Kulit Buah Delima Putih (*Granati fructus cortex*) terhadap *Streptococcus mutans*. *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(3), 536–541.