

Analisis Kandungan Total Fenol pada Kulit Delima Putih (*Punica granatum L.*) Menggunakan Metode Folin

Analysis of Total Phenol Content in White Pomegranate Peel (*Punica granatum L.*) Using Folin Method

Ramizard Rafsanjani¹, Terra Januarista², Faisal³, Majida Ramadhan⁴
Faculty of Mathematics and Natural Science
University of Islam Malang

ABSTRAK

Dalam kelas Magnoliophyta, delima (*Punica granatum L.*) adalah tanaman hortikultura. Delima putih sering digunakan sebagai obat karena memiliki antioksidan yang lebih tinggi daripada delima merah dan ungu. Karena kulit buah delima putih mengandung senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antioksidan alami, ekstrak kulit delima putih memiliki kadar fenol yang lebih tinggi daripada ekstraknya. Hasil analisis kandungan fenol total kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*) adalah tujuan penelitian ini. Dalam penelitian ini, metode Follin Ciocalteu dan spektrofotometri UV-Vis digunakan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kulit delima putih (*Punica granatum L.*) memiliki kadar fenol total 282 gram GAE/ml.

Kata Kunci : Kulit Delima Putih, Total fenol, Antioksidan

ABSTRACT

*White pomegranate is often used as medicine because it has higher antioxidants than red and purple pomegranates. Since white pomegranate peel contains phenolic compounds that function as natural antioxidants, white pomegranate peel extract has higher phenol content than its extract. The results of analyzing the total phenol content of white pomegranate peel (*Punica granatum L.*) is the purpose of this study. In this study, Follin Ciocalteu method and UV-Vis spectrophotometry were used. The results showed that white pomegranate peel (*Punica granatum L.*) had a total phenol content of 282 grams GAE/ml.*

Keywords: *White Pomegranate Peel, Total phenolics, Antioxidant*

Pendahuluan

Delima, yang dapat tumbuh hampir di seluruh Indonesia, belum banyak diketahui oleh masyarakat Indonesia, terutama di Jawa Timur, karena tidak banyak perkebunan yang membudidayakannya. Tanaman ini biasanya tidak dibudidayakan secara khusus oleh masyarakat dan hanya ditanam sebagai tanaman hias di pekarangan rumah karena bentuknya yang indah. Tanaman delima sangat populer karena sifatnya yang kaya akan nutraceuticals dan antioksidan. [1].

Kulit buah delima mengandung tanin, yang dapat digunakan sebagai obat. Tanin ini memiliki sifat antioksidan, antibakteri, dan antijamur [2]. Dilaporkan bahwa kulit buah delima mengandung tiga puluh jenis tanin dan hidrolisisnya, seperti punicalin, ellagic acid, gallagic acid, dan ellagic acid glycosides.[3]. Menurut [4], Delima putih dapat digunakan sebagai

tanaman obat untuk mengobati tekanan darah tinggi, kanker, rematik, kurang darah, diare, keputihan, kesehatan jantung, dan kanker. [5] menemukan bahwa ekstrak kulit buah delima mengandung sejumlah fitokimia yang signifikan. Beberapa contohnya adalah tanin, steroid, fenolik, alkaloid, flavonoid, terpenoid, dan saponin. Asam p-kumarat, asam syringic, asam benzoat, asam ellagic, asam caffeic, asam sinamat, asam protocatechuic, asam isoferulic, dan asam quinic adalah sembilan unsur polifenol yang diidentifikasi dan diukur dalam ekstrak menggunakan HPLC. Kulit buah delima putih mengandung senyawa kimia fenol, yang terbagi menjadi punicalagin, asam ellagat, dan asam galat. [6]

Fenolik adalah salah satu senyawa terbesar yang berfungsi sebagai antioksidan alami tumbuhan [7]. Studi sebelumnya menunjukkan bahwa delima mengandung banyak senyawa fenol [8]. Sebagian besar, senyawa fenolat yang ditemukan dalam bahan alam memiliki korelasi yang positif dengan aktivitas antioksidan mereka [9]. Fenolik adalah jenis antioksidan dengan satu atau lebih cincin benzen aromatik. Asam fenolik, stilbenes, flavonoid, tanin, dan kumarin adalah lima bahan kimia yang membentuk grup fenolik. Flavonoid, metabolit sekunder tanaman, memberikan warna dan aroma bunga serta memiliki sifat antibakteri, antivirus, antialergi, dan antiinflamasi [10]. Selain itu, senyawa fenolik mencegah DNA rusak dan dimerisasi dengan melindungi sel dari paparan sinar UV-B dan kematian sel [11].

Karena asam galat sangat stabil, sensitif, dan murah, standar yang digunakan untuk menganalisis kandungan fenol adalah asam galat. Kandungan fenoliknya ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu. Reagen Folin-Ciocalteu (FC) sangat populer dalam spektrofotometri karena banyaknya keunggulannya. Ada metode yang sederhana (simple), sensitif, dapat diulang, dan akurat. Selain itu, mereka umumnya digunakan untuk mengukur antioksidan fenolik dan tidak membutuhkan peralatan khusus dan canggih [12].

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan antara lain: Kulit buah delima putih (*Punica granatum L.*), aquadest, Etanol 96%, Asam Galat, Reagen Folin–Ciocalteu, Natrium Karbonat p.a (SmartLab).

Alat yang digunakan adalah: kertas saring, cawan penguap, labu ukur, plat tetes, pipet ukur, mikropipet (Eppendorf), spatel, aluminium foil, desikator, labu Erlenmeyer, kaca arloji, gelas ukur (pyrex), corong pisah, tabung reaksi (pyrex), blender, timbangan digital, Moisture

Analyzer, Shaker, *Rotary Evaporator*, seperangkat alat spektrofotometer UV- Vis (Thermo Scientific).

Cara Kerja

Persiapan Sampel

Simplisia buah delima putih (*Punica granatum L.*), yang tumbuh di wilayah Bumiaji Batu, Jawa Timur, adalah sampel yang digunakan. Pertama, sampel disortasi dan kulit dan buah delima dipisahkan. Sampel kulit delima dianginkan di oven pada suhu 60oC selama dua kali dua puluh empat jam setelah dianginkan. Setelah itu, gunakan blender untuk menghaluskannya sampai terbentuk simplisia. Kemudian simplisia diayak hingga ukuran serbuk 100 mesh. Sekitar 3 gram air simplisia diambil dan dimasukkan ke Moisture Analyzer dan ditunggu selama 10 menit. Kadar air simplisia tidak boleh lebih dari 10% agar tidak mudah menjamur.

Ekstrasi Metode Maserasi

Setelah menimbang simplisia 60 gram, pelarut etanol 96% ditambahkan sebanyak 600 mililiter. Simplisia harus terendam sepenuhnya dengan perbandingan 1:10 selama lima kali dua puluh empat jam, terlindung dari cahaya, dan pengadukan dilakukan dua kali setiap dua jam menggunakan shaker. Kemudian disaring dengan kertas saring dan didapatkan maserat. Untuk menghasilkan ekstrak kental Etanol Delima Putih, maserat diuapkan dengan evaporator rotasi pada suhu 70-85°C [14].

Pembuatan Kurva Kalibrasi Asam Galat

10 mg serbuk asam galat dilarutkan ke dalam 10 mL aquadest menghasilkan larutan induk 100 g/ml. Konsentrasi ini dipipet ke 10 mL, 8 mL, 6 mL, 4 mL, dan 2 mL secara berturut-turut. Konsentrasi asam galat masing-masing 100, 80, 60, 40, dan 20 g/ml setelah aquades diencerkan sampai volume akhir 10 mL [15]. Dipipet 0,1 mL dari masing-masing konsentrasi larutan asam galat, kemudian ditambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu, dan dikocok sampai homogen. Kemudian ditambahkan 1 mL larutan Na₂CO₃ 7,5 persen, dan dikocok sampai homogen. Kemudian didiamkan selama 90 menit pada suhu kamar. Setelah mengukur serapan pada panjang gelombang serapan maksimum 766 nm, kurva kalibrasi dibuat untuk menunjukkan korelasi antara serapan dan konsentrasi asam galat (g/ml).

Penetapan Kandungan Total Fenol

Untuk membuat larutan induk 1000 µg/ml, 50 mg ekstrak kental kulit delima putih dicampur dengan 50 mL aquadest dari larutan induk yang dipipet 0,1 mL. Kemudian,

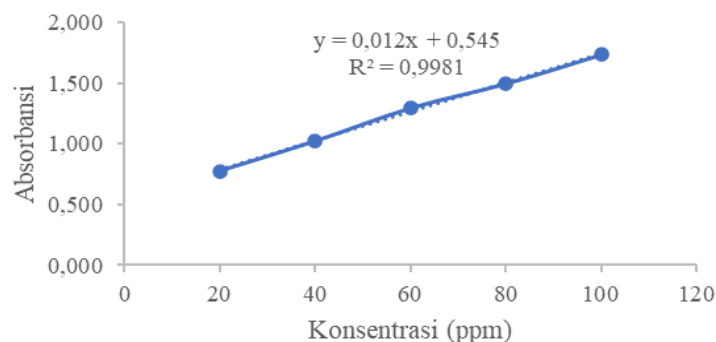
ditambahkan 1 mL reagen Folin-Ciocalteu dan dikocok sampai homogen dan didiamkan selama 5 menit. Selanjutnya, ditambahkan 1 mL larutan Na₂CO₃ 7,5 persen dan didiamkan selama 90 menit pada suhu kamar. Serapan diukur tiga kali pada panjang gelombang serapan 766 nm [16].

Hasil dan Diskusi

Hasil Penelitian

Uji kandungan fenol total dilakukan untuk mengetahui jumlah fenol yang ada pada sampel. Metode Follin-Ciocalteu digunakan untuk menghitung kandungan fenol secara keseluruhan, dan metode spektrofotometri sinar tampak digunakan untuk menghitung total fenol.

Pengukuran Asam Galat yang terbentuk selanjutnya dibuat kurva kalibrasi asam galat untuk Metode ini menggunakan senyawa fenolik untuk menghancurkan senyawa fosfomolibdat-fosfotungstat dalam suasana basa. Hasilnya adalah senyawa kompleks berwarna biru. Larutan serbuk asam galat biasanya digunakan untuk menguji kadar fenol total dalam konsentrasi 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Setelah mengukur absorbansi masing-masing konsentrasi, persamaan regresi linier digunakan untuk menghitung total kadar fenol dalam sampel kulit delima putih untuk menentukan garis persamaan kurva linier. Gambar dibawah merupakan hasil dari pengukuran asam galat sebagai pembanding dari sampel. Dari hasil pengukuran absorbansi menggunakan asam galat didapatkan persamaan regresi linier $y = 0,012x + 0,545$ hasil pengukuran dapat dilihat pada Gambar dibawah ini.



Gambar . Kurva Kalibrasi Asam Galat

Grafik ini menunjukkan hubungan antara konsentrasi asam galat dalam ppm dan absorbansi. Terlihat bahwa semakin tinggi konsentrasi asam galat, semakin tinggi absorbansi

yang terukur. Hal ini menunjukkan adanya hubungan positif antara konsentrasi dan absorbansi. Grafik ini juga menampilkan garis trend yang melalui titik-titik data. Persamaan garis tren $y = 0,012x + 0,545$. Koefisien determinasi (R^2) yang tinggi, yaitu 0,9981, menunjukkan bahwa garis tren sangat cocok dengan data titik. Penjelasan [17] menunjukkan bahwa semakin tinggi nilai R^2 atau R Square mendekati 1 maka variabel bebas dapat memberikan pengaruh yang signifikan terhadap variabel terikat, dan jika semakin mendekati nol maka pengaruh yang diberikan oleh variabel bebas cukup terbatas.

Sehingga hasil nilai R^2 pada grafik absorbansi asam galat ini menunjukkan bahwa asam galat adalah fenol yang kuat, sehingga dapat dijadikan sebagai kurva standar untuk membandingkan hasil absorbansi. Setelah didapatkan persamaan linier regresi dengan $R^2 = 0,9981$ maka dilanjutkan dengan pengukuran pada sampel kulit delima putih sebagai berikut.

Tabel 6. Hasil pengukuran Sampel Kulit Delima Putih

| Replikasi | Absorbansi | Rata-rata (Y) | Konsentrasi Fenolik Awal ($\mu\text{g GAE/ml sampel}$) | Kandungan Total Fenol ($\mu\text{g GAE/ml sampel}$) |
|-----------|------------|---------------|--|---|
| 1 | 3,92 | | | |
| 2 | 3,90 | 3,93 | 282,02 | 282,02 |
| 3 | 3,98 | | | |

Kadar fenol ekstrak kulit delima putih tergolong tinggi, senyawa fenol ini adalah bagian yang paling penting dari ekstrak. Studi sebelumnya [18] menemukan bahwa kandungan fenolik biji lebih rendah daripada kulit delima, yang menempati 60% dari berat buah delima. Temuan ini hampir sama dengan penelitian sebelumnya [19], di mana semua bagian buah delima memiliki kandungan senyawa fenolik tertinggi sebesar 67% (27,47 mg GAE/g). Namun, jus biji delima mengandung hampir sepuluh kali lebih banyak fenolik daripada ekstrak pulpnya, atau daging buahnya, dan jus buahnya mengandung 29,7% fenolik, menunjukkan bahwa ekstrak kulit buah delima memiliki tingkat antioksidan yang lebih tinggi daripada ekstrak daging buahnya [20].

Kesimpulan

Hasil penelitian terkait analisis kadar total fenol pada kulit delima putih (*Punica granatum L.*) didapatkan sebesar 282 $\mu\text{g GAE/ml}$.

Daftar Pustaka

- [1] Ahad, S., Tanveer, S., Malik, T. A., & Nawchoo, I. A. (2018). Anticoccidial activity of fruit peel of *Punica granatum* L. *Microbial pathogenesis*, 116, 78-83.
- [2] Mansur, S. A., Deroyeen, A. F., Indriyanti, M. N., Annisak, A. K., Fajriati, D. R., & Amiruddin, M. (2022). Kandungan Buah Delima (*Punica granatum* L.) Dalam Perspektif al-Qur'an, Sunnah, Dan Sains. *Proceedings of International Pharmacy Ulul Albab Conference and Seminar (PLANAR)*, 2, 69.
- [3] Fischer, U. A., Dettmann, J. S., Carle, R., & Kammerer, D. R. (2011). Impact of processing and storage on the phenolic profiles and contents of pomegranate (*Punica granatum* L.) juices. *European Food Research and Technology*, 233, 797-816.
- [4] Ramadhani, S., Haryati, H., & Ginting, J. (2015). Pengaruh Perlakuan Pematangan Dormansi Secara Kimia Terhadap Viabilitas Benih Delima (*Punica granatum* L.). *Jurnal Agroekoteknologi Universitas Sumatera Utara*, 3(2), 104-160.
- [5] El-Hamamsy, S. M. A., and El-Khamissi, H. A. Z. (2020). Phytochemicals, antioxidant activity and identification of phenolic compounds by HPLC of pomegranate (*Punica granatum* L.) Peel extracts. *Journal of Agricultural chemistry and biotechnology*, 11(4), 79-84.
- [6] Husna, N. (2017). Isolation and Identification Endophytic Fungi of Peel of White Pomegranate (*Punica granatum* L.). *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*, 2(1).
- [7] Dhurhania, C. E., & Novianto, A. (2018). Uji Kandungan Fenolik Total dan Pengaruhnya terhadap Aktivitas Antioksidan dari Berbagai Bentuk Sediaan Sarang Semut (*Mymecodia pendens*). *Jurnal Farmasi dan Ilmu Kefarmasian Indonesia*, 5(2), 62-63.
- [8] Hala, Y., & Ali, A. (2020). Kandungan Total Fenol dan Kapasitas Antioksidan Buah Lokal Indonesia Sebelum dan Setelah Pencampuran. *Prosiding Seminar Nasional Biologi FMIPA UNM Inovasi Penelitian Biologi dan Pembelajarannya di Era Merdeka Belajar*. ISBN: 978-602-52965-8.
- [9] Marinova, G., & Batcharov, V. (2011). Evaluation The Method Determination of The Free Radical Scavenging Activity By DPPH. *Journal of Agricultural Science*, 17(1), 11-24.
- [10] Abotaleb, M., Samuel, S. M., Varghese, E., Varghese, S., Kubatka, P., Liskova, A., & Busselberg, D. (2018). Flavonoids in Cancer and Apoptosis. *Cancers (Basel)*, 11(1), 28.

- [11] Hanin, N. N. F., & R. Pratiwi. (2017). Kandungan Fenolik, Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Paku Laut (*Acrostichum aureum* L.) Fertil dan Steril, *Journal of Tropical Biodiversity and Biotechnology*, 2, 51-56.
- [12] Yusnawan, E., & Utomo, J. S. (2017). Mikroanalisis kandungan senyawa fenolik total ekstrak biji kedelai dengan reagen folin-ciocalteu.
- [13] Huliselan, Y. M., Runtuwene, M. R. J., & Wewengkang, D. S. (2015). Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol, Etil, Asetat, dan n-heksan dari Daun Sesewanua (*Clerodendron squamatum* Vahl.). *Jurnal Ilmiah Farmasi* 4 (3): 155-163.
- [14] Waterhouse, A. (1999). Folin-Ciocalteu micro method for total phenol in wine, Department of Viticulture & Enology University of California, Davis: 152-1.
- [15] Orak, H. (2006). Total antioxidant activities, phenolics, anthocyanins, polyphenoloxidase activities in red grape varieties. *Electronic Journal of Polish Agricultural University Food Science and Technology*, 9, 117 – 11.
- [16] Ghozali, Imam. (2016). *Aplikasi Analisis Multivariete Dengan Program IBM SPSS 23* (Edisi 8). Cetakan ke VIII. Semarang : Badan Penerbit Universitas Diponegoro.
- [17] Cahyaningtyas, I. D. A. I. (2021). Uji kadar total Fenol dan aktivitas Antioksidan kombinasi ekstrak anggur (*Vitis Vinifera* L.) dan delima (*Punica granatum*) dengan metode FRAP (*Ferric Reducing Antioxidant Power*) (Doctoral dissertation, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim).
- [18] Gozlekci, S., Saracoglu, O., Onursal, E., & Ozgen, M. (2021). Total phenolic distribution of juice, peel, and seed extracts of four pomegranate cultivars. *Pharmacognosy Magazine*. 7(26).
- [19] Cahyani, I. W. (2019). Pengaruh Ekstrak Kulit Buah Delima (*Punica granatum* L.) terhadap Denyut Jantung dan Edema Perikadium Embrio Ikan Zebra (*Danio rerio*) yang Terpapar Kafein secara In vitro (Doctoral dissertation, Universitas Brawijaya).