

Profil Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etanol Buah Delima Putih (*Punica granatum* L.)

Secondary Metabolite Profile from White Pomegranate Ethanol Extract (*Punica granatum* L.)

Tiara^{1 *}, Faisal^{2 **}, Majida Ramadhan^{3 ***}

¹²³Jurusan Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Islam Malang, Indonesia

ABSTRAK

Delima (*Punica granatum* L.) termasuk dalam kelas Magnoliophyta dan dibudidayakan sebagai tanaman hortikultura. Delima putih lebih sering digunakan sebagai tanaman obat tradisional daripada delima merah karena rasa dari buahnya yang lebih sepat. Hal ini terutama disebabkan oleh keberadaan senyawa fenol, flavonoid, dan tanin yang bekerja secara sinergis. Tujuan penelitian ini yaitu menentukan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol buah delima putih (*Punica granatum* L.) secara skrining fitokimia. Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental dekskriptif kualitatif. Analisis data uji profil metabolit sekunder menggunakan dekskriptif kualitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada uji profil metabolit ekstrak etanol buah delima putih dengan pelarut etanol 96% memiliki hasil positif adanya senyawa metabolit sekunder yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan fenolik.

Kata Kunci: buah delima putih, profil metabolit sekunder

ABSTRACT

Pomegranate (*Punica granatum* L.) belongs to the Magnoliophyta class and is cultivated as a horticultural plant. White pomegranate is more often used as a traditional medicinal plant than red pomegranate because the taste of the fruit is more astringent. This is mainly caused by the presence of phenol, flavonoid and tannin compounds which work synergistically. The aim of this research is to determine the secondary metabolite compounds contained in the ethanol extract of white pomegranate (*Punica granatum* L.) by phytochemical screening. The type of research carried out was qualitative descriptive experimental research. Analysis of secondary metabolite profile test data using qualitative descriptive. The results of the research showed that the metabolite profile test of the ethanol extract of white pomegranate with 96% ethanol solvent had positive results for the presence of secondary metabolite compounds, namely alkaloids, flavonoids, tannins and phenolics.

Keywords: white pomegranate, secondary metabolite profile

*) Tiara, Program studi Biologi FMIPA Unisma, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144. E-mail: tiaraukail@gmail.com

**) Faisal, S.Si, M.Kes., Program studi FMIPA Unisma, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144. E-mail: faisalabd@unisma.ac.id

***) Majida Ramadhan, S.Si., M.Si, Program studi FMIPA Unisma, Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144. E-mail: majida.ramadhan@unisma.ac.id

Pendahuluan

Delima (*Punica granatum* L.) termasuk dalam kelas Magnoliophyta dan dibudidayakan sebagai tanaman hortikultura. Salah satu jenis tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai obat adalah delima putih, yang dijelaskan dalam buku "Tanaman Obat Dep. Kes RI Edisi III. 1983." Buah delima sering digunakan dalam pengobatan tradisional untuk mengobati berbagai penyakit seperti diare, disentri, infeksi cacing, sakit tenggorokan, diabetes, epistaksis, dan displasia vagina [1]. Delima putih lebih sering digunakan sebagai tanaman obat tradisional daripada delima merah karena rasa dari buahnya yang lebih sepat. Dibandingkan anggur merah dan teh hijau, delima putih menonjol karena kandungan antioksidannya yang jauh lebih tinggi. Hal ini terutama disebabkan oleh keberadaan senyawa fenol, flavonoid, dan tanin yang bekerja secara sinergis.

Biji buah delima merupakan cadangan vitamin, protein, mineral, serat dan, yang terpenting, asam lemak yang kaya dengan efek menguntungkan bagi kesehatan. Menurut penelitian sebelumnya terdapat beberapa kandungan dari daging buah delima yaitu tanin, flavonoid, alkaloid, glukosa, fruktosa dan sukrosa [2]. Biji buah delima memiliki kandungan senyawa salah satunya yaitu senyawa fenolik yang dianggap sebagai jenis antioksidan yang sangat berlimpah. Menurut penelitian sebelumnya, biji buah delima mempunyai total kandungan fenolik sekitar 3,3% dari keseluruhan jumlah [3].

Metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, dan terpenoid, tidak hanya berperan sebagai pigmen atau zat beracun, tetapi juga merangsang produksi senyawa lain. Kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak tanaman dapat dianalisis secara kualitatif menggunakan skrining fitokimia. Metode ini melibatkan penggunaan berbagai pereaksi untuk mendeteksi keberadaan senyawa-senyawa seperti alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan fenolik [4]. Akar, daun, batang, buah, dan bunga tanaman sering dijadikan sampel untuk uji fitokimia guna mengidentifikasi kandungan senyawa aktif yang berpotensi sebagai obat [5].

Etanol memiliki kemampuan untuk menembus struktur dinding sel, menarik senyawa bioaktif, dan mempercepat proses difusi zat-zat tersebut keluar dari sel [6]. Etanol 96% memiliki kemampuan pelarutan yang luas, baik untuk senyawa nonpolar maupun polar. Kemampuan etanol untuk membentuk ikatan hidrogen dengan senyawa fenolik meningkatkan kelarutan senyawa tersebut dalam pelarut etanol. Metode meserasi, yang merupakan perendaman bahan dalam pelarut, merupakan metode ekstraksi yang umum digunakan karena tidak melibatkan panas yang dapat merusak senyawa metabolit sekunder yang sensitif.

Material dan Metode

Bahan dan Alat

Bahan-bahan yang digunakan antara lain: simplisia buah delima putih (*Punica granatum* L.), etanol teknis 96%, aquadest, pereaksi Burchard, reagen Mayer, reagen Wagner, reagen Dragendroff, asam klorida (HCl), asam sulfat pekat (H₂SO₄), NaOH 10%, magnesium klorida (FeCl₃), asam asetat glasial (CH₃COOH) Smart-lab dan ammonium hidroksida (NH₄OH).

Alat yang digunakan pada penelitian ini, antara lain timbangan analitik DURASCALE DAB-E223, oven, ayakan 100 mesh, labu erlenmeyer, gelas beker, aluminium foil, corong pemisah, spatula, kertas saring, rotary evaporator IKA RV 10 digital, cawan porselen, tabung reaksi, pipet tetes, kertas label, labu ukur, pipet ukur, blender, pisau, kaki tiga, desikator, plastic wrap, tanur, shaker DLAB SK-L330-Pro, tang krusibel dan bunsen.

Pengambilan Sampel

Sampel yang digunakan adalah simplisia buah delima putih (*Punica granatum* L.) yang terdapat di daerah Tulungagung, Jawa Timur.

Penyiapan Sampel

Sebanyak 2 kg buah delima putih dipotong dan daging buahnya diambil. Setelah itu, dicuci bersih, ditempatkan dalam wadah, dan dibiarkan mengering di udara terbuka, jauh dari paparan sinar matahari langsung. Setelah pengeringan awal di udara terbuka, simplisia kemudian dikeringkan lebih lanjut dalam oven pada suhu 60°C selama 48 jam. Setelah proses dehidrasi dalam oven hingga mencapai titik rapuh, sampel buah digerus atau dihaluskan menggunakan blender hingga bertekstur bubuk. Bubuk hasil penggilingan kemudian diayak dengan ayakan 100 mesh untuk mendapatkan partikel yang seragam.

Pengecekan Kadar Air

Pengukuran kadar air simplisia dilakukan dengan menimbang 2 gram sampel serbuk simplisia, kemudian sampel tersebut dianalisis menggunakan Moisture Analyzer selama 10 menit. Batas atas kadar air yang ditetapkan untuk menjaga mutu simplisia adalah $\leq 10\%$ [7].

Analisis Kadar Abu (AOAC 2005)

Pengujian kadar abu diawali dengan persiapan cawan porselen yang telah dikeringkan menggunakan oven dan ditimbang hingga mencapai berat yang konstan (A) Sampel seberat ± 2 g ditempatkan kedalam cawan (B) dan dibakar dalam tanur pada suhu 400-600°C selama 4-6 jam. hingga hingga diperoleh abu yang stabil dan mencapai berat konstan. Setelah proses pengabuan selesai dan cawan didinginkan, cawan beserta abunya ditimbang kembali (C). Untuk menghitung kadar abu, dapat digunakan dua rumus berikut:

$$\% \text{ kadar abu} = \frac{C - A}{B} \times 100 \%$$

dengan: A = berat cawan konstan (g)
B = berat sampel (g)
C = berat abu + cawan (g)

Uji Profil Metabolit Sekunder

Pengujian profil metabolit sekunder dilakukan dengan menggunakan hasil dari rendemen ekstrak etanol buah delima putih sebanyak 31,835 %.

Uji Alkaloid

- Pereaksi mayer
Tambahkan dua tetes reagen Mayer ke sisi tabung reaksi. Kehadiran alkaloid terindikasi dengan terbentuknya endapan putih atau kuning keruh.
- Pereaksi wagner
Teteskan reagen Wagner melalui dinding tabung reaksi yang mengandung sedikit filtrat ekstrak. Warna coklat kemerahan menandakan adanya alkaloid.
- Pereaksi dragendroff
Teteskan reagen Dragendroff ke sisi dinding tabung reaksi. Warna kuning kecoklatan atau jingga dengan latar belakang kuning menunjukkan hasil positif.
- Pereaksi bouchardat
Tambahkan beberapa tetes pereaksi Bouchardat ke sisi tabung reaksi. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan coklat.

Uji Flavonoid

- Pereaksi shinoda
Sejumlah 1 mg ekstrak ditambahkan 10 tetes etanol, Selanjutnya ditambahkan serbuk Mg dan HCl pekat 4 tetes. Timbulnya warna kuning, biru, jingga, merah atau merah muda menunjukkan hasil positif
- Pereaksi natrium hidroksida 10%

Sebanyak 1 mL ekstrak ditambahkan natrium hidroksida (NaOH) 10% sebanyak 2 tetes dan dikocok kuat. Sampel positif bila larutan berubah warna menjadi kuning atau jingga.

Uji Tanin

a) Uji braimer's

Dengan penambahan FeCl_3 , endapan biru-hitam akan terbentuk pada tanin yang terhidrolisis, sementara endapan hitam kehijauan muncul pada tanin yang terkondensasi.

b) Uji larutan basa

Menambahkan NH_4OH untuk menentukan adanya tanin jika terbentuk warna kuning berpendar.

Uji Saponin

Metode Forth diterapkan dengan mencampurkan 0,5 gram ekstrak dalam air panas dan mengocoknya selama 10 detik untuk menghasilkan busa.

Uji Terpenoid

a) Uji Salkowski

Ekstrak ditambah kloroform, kemudian beberapa tetes asam sulfat pekat ditambahkan ke filtrat tersebut. Adanya cincin cokelat yang terbentuk menunjukkan adanya triterpenoid.

b) Uji Lieberman bucard

Tambahkan 1 mL kloroform pada ekstrak dan 1 mL asam asetat glacial, kemudian tambahkan 1 tetes asam sulfat pekat. Jika terbentuk warna biru kehijauan, ini menandakan adanya sterol, sementara warna merah muda, merah, atau ungu menunjukkan keberadaan terpenoid.

Uji Fenolik

1 mg sampel ditambahkan 10 tetes etanol. Setelah itu 6 tetes larutan FeCl_3 5% ditambahkan.

Warna biru, hijau, ungu, atau kemerah-kemerahan menunjukkan hasil positif.

Analisis Data

Analisis data uji profil metabolit sekunder menggunakan dekskriptif kualitatif berupa gambar dan tabel.

Hasil dan Diskusi

Karakteristik Simplisia dan Ekstrak Etanol Buah Delima Putih (*Punica granatum* L.)

Kadar Air

Pada pengecekan kadar air didapatkan 4,71 % hasil tersebut sudah sesuai dengan baku mutu simplisia. Menurut standar yang berlaku, kadar air minimum untuk simplisia adalah 10% [8] Penentuan kadar air pada simplisia bertujuan untuk memberi batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air dalam simplisia.

Kadar Abu

Berdasarkan tiga kali pengulangan pengujian, diperoleh nilai rata-rata kadar abu sebesar 4%. Hasil ini memenuhi parameter standart kadar abu yaitu 16,6% (Depkes, 2008). Pengujian kadar abu bertujuan untuk mengidentifikasi kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal hingga pembentukan serbuk simplisia.

Hasil Uji Profil Metabolit Sekunder Ekstrak Etanol Buah Delima

Senyawa Alkaloid

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia senyawa alkaloid buah delima putih

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil
1	Alkaloid	Mayer	+
		Wagner	++

Dragendorff	+
Bouchardat	++

Keterangan: (-) tidak ada senyawa
(+) ada senyawa tetapi lemah
(++) ada senyawa kuat

Pada ekstrak etanol 96% sampel uji menggunakan pereaksi mayer terdapat sedikit endapan berwarna putih. Adanya endapan putih atau kuning keruh pada ekstrak menunjukkan keberadaan alkaloid. Terbentuknya endapan ini menandakan bahwa senyawa alkaloid memberikan respons positif terhadap pereaksi Mayer. Pengujian senyawa alkaloid pada ekstrak etanol 96% menggunakan pereaksi Wagner menunjukkan terbentuknya endapan coklat. Warna coklat kemerahan menandakan adanya alkaloid [4]. Pengujian senyawa alkaloid pada ekstrak etanol 96% dengan menggunakan pereaksi Dragendorff menghasilkan pembentukan warna menjadi kuning kecoklatan. Terbentuknya endapan dengan warna coklat muda hingga kuning jingga menandakan hasil positif untuk alkaloid pada uji Dragendorff. Senyawa alkaloid pada ekstrak etanol 96% dengan pereaksi Bouchardat menghasilkan perubahan warna menjadi coklat. Munculnya endapan coklat menunjukkan hasil positif pada uji Bouchardat [10]

Senyawa Flavonoid

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia senyawa flavonoid buah delima putih

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil
1.	Flavonoid	Shinoda	++
		Natrium hidroksida 10 %	+

Pengujian senyawa flavonoid pada ekstrak etanol 96% dengan pereaksi Shinoda, yang melibatkan penambahan serbuk magnesium dan HCl, menunjukkan hasil positif. Pengujian ini menghasilkan warna jingga atau orange pada setelah menambahkan serbuk ekstrak dengan HCl pekat dan potongan pita magnesium. Penambahan serbuk Mg dan HCl bertujuan untuk mengurangi inti benzopiron dalam struktur flavonoid, menghasilkan garam flavilium yang berwarna merah hingga jingga [11]. Pada pengujian senyawa flavonoid yang menggunakan pereaksi Natrium Hidroksida 10% hasilnya positif ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga dan munculnya sedikit busa. Hasil uji flavonoid mencakup terbentuknya sedikit busa dan perubahan warna filtrat dari jingga menjadi merah [12].

Senyawa Tanin

Tabel 3. Hasil uji skrining fitokimia senyawa tanin buah delima putih

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil
1.	Tanin	Braimer's	++
		Larutan basa	-

Dalam uji Braimer, senyawa tanin diuji dengan menambahkan larutan FeCl_3 ke dalam sampel ekstrak etanol 96%. Perubahan warna sampel menjadi hijau kehitaman menunjukkan terbentuknya senyawa kompleks antara tanin dan ion Fe^{3+} . FeCl_3 berfungsi menghidrolisis tanin, yang menghasilkan warna hijau kehitaman serta tanin yang terkondensasi. Sedangkan pada pengujian senyawa tanin menggunakan larutan basa NH_4OH (Amonium hidroksida) pada ekstrak etanol 96% tidak memperlihatkan perubahan warna menjadi kuning berpadar.

Senyawa Saponin

Tabel 4. Hasil uji skrining fitokimia senyawa saponin buah delima putih

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil
1.	Saponin	Air panas	–

Pada pengujian senyawa saponin dengan menggunakan metode “Forth” ekstrak etanol dari buah delima putih sebanyak 0,5 gram dilarutkan dalam air panas selama 10 detik, dan kemudian diamati pembentukan busa. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% tidak menghasilkan busa. Pembentukan busa pada uji saponin disebabkan oleh sifat surfaktan dari glikosida yang terkandung di dalamnya [13]

Senyawa Terpenoid

Tabel 5. Hasil uji skrining fitokimia senyawa terpenoid buah delima putih

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil
1.	Terpenoid	Salkowski Lieberman bucard	– –

Pada pengujian terpenoid terdapat 2 bentuk uji yaitu menggunakan uji Salkowski dan uji Lieberman Bouchard, uji terpenoid dengan menggunakan uji Salkowski positif apabila terdapat cincin coklat mengindikasikan adanya steroid. Pada sampel uji ekstrak etanol 96% tidak terdapat cincin berwarna coklat yang mengindikasikan tidak adanya steroid. Dalam uji senyawa terpenoid menggunakan reagen Liebermann-Bouchard, warna hijau atau biru menandakan keberadaan steroid, sementara warna ungu atau merah menunjukkan adanya senyawa terpenoid. Pada sampel uji ekstrak etanol 96% tidak terdapat adanya pembentukan warna.

Senyawa Fenolik

Tabel 6. Hasil uji skrining fitokimia senyawa fenolik buah delima putih

No	Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil
1.	Fenolik	FeCl ₃	+

Pada pengujian senyawa fenolik dengan menggunakan FeCl₃ hasil positif jika terjadi perubahan warna menjadi biru, hijau, ungu atau kemerahan (Suyani, 1991). Pada sampel uji ekstrak etanol 96% menunjukkan pembentukan warna hijau kehitaman, yang menandakan adanya senyawa fenol dalam sampel. Warna hijau kehitaman yang terbentuk disebabkan oleh reaksi senyawa fenol dengan ion Fe³⁺ yang membentuk kompleks [14]

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian uji profil metabolit ekstrak etanol buah delima putih dengan pelarut etanol 96 % mengandung 4 senyawa metabolit sekunder yang positif dari 6 senyawa yang diuji yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan fenolik.

Ucapan Terima Kasih

Penelitian ini dapat terselesaikan dengan baik berkat dukungan teknis yang luar biasa dari Laboratorium Biokimia, Universitas Islam Malang. Penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya atas segala bantuannya.

Daftar Pustaka

- [1] Eghbali, S., Askari, S. F., Avan, R., & Sahebkar, A. 2021. "Therapeutic effects of Punica granatum (pomegranate): an updated review of clinical trials," J Nutr Metab, vol. 2021, no. 1, p. 5297162.
- [2] Ismail T., Sestili P., Akhtar S., 2012. "Pomegranate peel and fruit extracts: a review of potential anti-inflammatory and anti-infective effects," J Ethnopharmacol, vol. 143, no. 2, pp. 397–405.
- [3] Gözlekçi, Ş., Saraçoğlu, O., Onursal, E., & Özgen, M. 2019. "Total phenolic distribution of juice, peel, and seed extracts of four pomegranate cultivars," Pharmacogn Mag, vol. 7, no. 26, p.
- [4] Putri, D. B. Y. Mubarakati, N. J., Ramadhan, M. 2023. "Skrining Fitokimia Metabolit Sekunder Pada Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) Dengan Perbandingan Pelarut Tunggal Dan Pelarut Ganda Menggunakan Metode Maserasi,"
- [5] Agustina, S., Ruslan, R., & Wiraningtyas, A. 2016. "Skrining fitokimia tanaman obat di kabupaten Bima," Cakra kimia, vol. 4, no. 1, pp. 71–76.
- [6] Yulianti, W., Ayuningtyas, G., Martini, R., & Resmeiliana, I. 2021. "Pengaruh Metode Ekstraksi dan Polaritas Pelarut Terhadap Kadar Fenolik Total Daun Kersen (*Muntingia calabura* L)," Jurnal Sains Terapan: Wahana Informasi dan Alih Teknologi Pertanian, vol. 10, no. 2, pp. 41–49.
- [7] Wijaya, A., & Noviana, N. 2022. "Penetapan Kadar Air Simplisia Daun Kemangi (*Ocimum basilicum* L.) Berdasarkan Perbedaan Metode Pengeringan"Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia, vol. 4, no. 2, pp. 185–194.
- [8] Januarista, T., Mubarakati, N. J., Ramadhan, M. 2024. "Investigasi Kandungan Total Fenol pada Ekstrak Daun Delima Merah (*Punica granatum* L.),". Jurnal Smart Bioprospecting dan Teknologi. Vol 05 No 01.
- [9] Nugrahani, R., Andayani, Y., & Hakim, A. 2016. "Skrining fitokimia dari ekstrak buah buncis (*Phaseolus vulgaris* L.) dalam sediaan serbuk," Jurnal penelitian pendidikan ipa, vol. 2, no. 1.
- [10] Sulistyarini, I., Sari, D. A., & Wicaksono, T. A. 2020. "Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Batang Buah Naga (*Hylocereus polyrhizus*)," Cendekia Eksakta, vol. 5, no. 1.
- [11] Nuryanti, S. and Pursitasari, D. 2014. "Uji kualitatif senyawa metabolit sekunder pada daun palado (*Agave angustifolia*) yang diekstraksi dengan pelarut air dan etanol," Jurnal Akademika Kimia, vol. 3, no. 3, pp. 165–172.
- [12] Meigaria, K. M., Mudianta, I. W., & Martiningsih, N. W. 2016. "Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan ekstrak aseton daun kelor (*Moringa oleifera*)," Wahana Matematika dan Sains: Jurnal Matematika, Sains, dan Pembelajarannya, vol. 10, no. 2, pp. 1–11.
- [13] Ningsih. D.R., Zufahair, Kartika. D. 2016. "Identification of secondary metabolites compounds and antibacterial activities on the extract of soursop leaf," Molekul, vol. 11, no. 1, pp. 101–111.
- [14] Setyowati, W.A. Eko, Aiani, S.R. Sri, Ashadi, Mulyani, B, Rahmawati, C. 2014. "Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Aktivitas Antioksidan Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus* Murr) Varietas Petruk," in Seminar Nasional Pendidikan Sains IV. ISBN : 979363174-0.