

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1. Pengambilan Sampel Bahan Tanaman

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun, kulit buah dan biji delima (*Punica granatum* L.) yang diperoleh dari Kecamatan Lembang, Kabupaten Bandung Barat. Determinasi dilakukan di Herbarium Universitas Padjadjaran. Hasil determinasi menunjukkan bahwa bahan tumbuhan adalah tanaman delima (*Punica granatum* L.). Hasil determinasi dapat dilihat pada

Lampiran 1.

5.2. Pembuatan Simplisia dan Serbuk Simplisia

Tanaman delima segar bagian yang diambil adalah daun, kulit buah, dan biji. Masing-masing bagian diambil secara terpisah, dicuci dan dibersihkan dari pengotor yang melekat untuk menghindari adanya kontaminasi terhadap bahan yang dapat mengganggu proses penetapan parameter-parameter simplisia maupun ekstrak. Setelah bersih dari pengotor, selanjutnya bahan dikeringkan dengan menggunakan lemari pengering, kemudian dibuat menjadi serbuk.

Tujuan dilakukan pengeringan untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik, mencegah tumbuhnya jamur agar dapat disimpan lebih lama dan tidak mudah rusak, sehingga kandungan kimianya tidak mengalami perubahan.

(Depkes RI, 1985:33)

5.3. Pemeriksaan Makroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik daun delima adalah daun tunggal, bentuk lanset, tepi rata, ujung runcing, pangkal tumpul, panjang 3-6,5 cm, lebar 1,5-1,9 cm, pertulangan daun menyirip dan permukaan hijau mengkilat. Kulit buah keras seperti kulit (“leathery”), bagian dalam terbagi atas dinding membran dan jaringan spon putih menjadi kantung-kantung yang berisi biji yang terbenam dalam masa empuk berair yang merupakan proliferasi dari kulit biji. Biji delima berbentuk bulat, keras, kecil, berwarna merah (Cronquist,1981:643-645), (Depkes, 1989), (Sudiarto dan Rifai, 1992: 270). Hasilnya dapat dilihat pada **Lampiran 2**.

5.4. Pemeriksaan Mikroskopik

Hasil pemeriksaan mikroskopik pada daun menunjukkan adanya beberapa fragmen yaitu kristal kalsium oksalat dan sel batu, pada kulit buah menunjukkan adanya fragmen yaitu sklerenkim dan parenkim. Pada biji terlihat adanya fragmen butiran minyak, berkas pembuluh berpenebalan jala, sklerenkim dan sel batu. Kehadiran kristal oksalat pada jaringan parenkim sesuai dengan pustaka (Cronquist,1981:643; Metcalfe and Chalk, 1950:659) Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 3**.

5.5. Penetapan Parameter Standar Simplisia dan Ekstrak

Penetapan parameter standar mutu simplisia meliputi penetapan susut pengeringan, penetapan kadar air, penetapan kadar abu total, penetapan kadar abu

tidak larut asam, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar sari larut etanol, penetapan bobot jenis dan organoleptik

5.5.1. Penetapan susut pengeringan

Penetapan susut pengeringan bertujuan untuk memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan senyawa yang hilang pada proses pengeringan (Depkes, 2000:13). Hasil penetapan susut pengeringan simplisia daun sebesar 19,67%, kulit buah sebesar 19,0%, dan biji sebesar 7,16%, nilai ini menunjukkan pada bagian daun jumlah senyawa-senyawa termolabil lebih banyak yang hilang dibandingkan dengan pada bagian kulit buah. Sedangkan pada bagian biji menunjukkan lebih sedikit senyawa-senyawa termolabil yang hilang, dikarenakan banyak senyawa-senyawa tahan panas yang hilang seperti air dan minyak atsiri. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 4**.

5.5.2. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air pada simplisia dilakukan dengan metode destilasi azeotroph. Penetapan kadar air bertujuan untuk menentukan jumlah air dan memberikan batasan maksimal atau rentang besarnya kandungan air di dalam simplisia (Depkes RI, 2000:14). Hasil penetapan kadar air yang diperoleh dari simplisia tanaman delima yaitu bagian daun sebesar 7,40%, kulit buah sebesar 7,80%, dan biji sebesar 7,60%, hasil selengkapnya dapat di lihat pada **Lampiran 5**. Jumlah air harus dibatasi karena air bisa menjadi sumber pertumbuhan mikroorganisme dan reaksi enzimatik yang dapat merusak kualitas simplisia. Nilai tersebut memenuhi persyaratan kadar air secara umum pada simplisia yaitu kurang dari 10% b/b.

5.5.3. Penetapan kadar abu total

Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar abu total pada simplisia tanaman delima yaitu bagian daun sebesar 6,67%, kulit buah sebesar 4,67%, dan biji sebesar 3,33% hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 6**. Penetapan kadar abu total bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal pembuatan simplisia hingga terbentuknya serbuk simplisia. Kadar abu total dapat berasal dari senyawa mineral maupun anorganik yang terdapat dari tumbuhan itu sendiri (internal) ataupun berasal dari luar (eksternal) seperti adanya pasir atau kotoran yang lain menempel pada simplisia (Depkes RI, 2000:17). Pada bagian daun menunjukkan hasil paling tinggi kandungan mineral internal maupun eksternal dibandingkan bagian kulit buah dan biji.

5.5.4. Penetapan kadar abu tidak larut asam

Penetapan kadar abu tidak larut asam bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral maupun anorganik yang terdapat dari luar tumbuhan itu sendiri (eksternal), yang berasal dari proses awal pembuatan simplisia hingga terbentuknya serbuk simplisia (Depkes RI, 2000:17). Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar abu tidak larut asam pada simplisia tanaman delima yaitu bagian daun sebesar 1,75%, kulit buah sebesar 2%, dan biji sebesar 1,75%. Hal ini menunjukkan kandungan mineral anorganik eksternal yang terdapat paling besar adalah pada bagian kulit buah, hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 7**.

5.5.5. Penetapan bobot jenis

Hasil yang diperoleh dari penetapan bobot jenis pada ekstrak tanaman delima dengan dua metode ekstraksi yaitu infusa dan dekokta. Untuk ekstraksi dengan metode infusa hasil bobot jenis ekstrak yang diperoleh pada bagian daun sebesar 1,00g/mL, kulit buah sebesar 1,01g/mL, dan biji sebesar 1,01g/mL, untuk ekstraksi dengan metode dekokta hasil bobot jenis ekstrak yang diperoleh pada bagian daun sebesar 1,00 g/ml, kulit buah sebesar 1,01 g/ml dan biji sebesar 1,01 g/ml. Hasil pengukuran terhadap bobot jenis keenam ekstrak menunjukkan bahwa perbedaan metoda ekstraksi yang digunakan (infusa maupun dekokta) menghasilkan ekstrak dengan bobot jenis yang sama pada masing-masing bagian simplisia delima. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 8**.

Penetapan bobot jenis bertujuan untuk memberikan batasan tentang besarnya massa per satuan volume yang merupakan parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak pekat (kental) yang masih dapat dituang dan memberikan gambaran kandungan kimia yang terlarut (Depkes RI, 2000:13).

5.5.6. Penetapan kadar sari larut air

Penetapan kadar sari bertujuan untuk memberikan gambaran awal mengenai jumlah kandungan senyawa yang dapat tersari oleh pelarut yaitu air (Depkes RI, 2000:31). Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar sari larut air pada simplisia tanaman delima yaitu bagian daun sebesar 9,37%, kulit buah sebesar 7,17%, dan biji sebesar 9,87%, hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang bersifat polar paling tinggi terdapat pada biji dibandingkan pada bagian daun, dikarenakan pada bagian biji banyak kandungan senyawa yang larut

dalam air. Sedangkan pada bagian kulit buah menunjukkan lebih sedikit kandungan senyawa yang larut dalam air. Hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 9**.

5.5.7. Penetapan kadar sari larut etanol

Penetapan kadar sari larut etanol bertujuan untuk memberikan gambaran awal mengenai jumlah kandungan senyawa yang dapat tersari oleh pelarut etanol (Depkes RI, 2000:31). Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar sari larut etanol pada simplisia tanaman delima yaitu bagian daun sebesar 3,86%, kulit buah sebesar 5,51%, dan biji sebesar 3,85%, hal ini menunjukkan bahwa kandungan senyawa yang bersifat kurang polar paling tinggi terdapat pada bagian kulit buah, dibandingkan dengan bagian daun dan biji. Hasil selengkapnya dapat di lihat pada **Lampiran 9**.

5.5.8. Organoleptik

Hasil pengujian organoleptik pada ekstrak dari tanaman delima dari ke 5 responden yaitu bagian daun warna coklat, bau aromatik, rasa agak pahit, kulit buah berwarna coklat muda, bau aromatik dan rasa agak pahit, dan biji berwarna coklat tua, bau aromatik, rasa agak pahit.

5.6. Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia pada serbuk simplisia dan ekstrak dari tanaman delima yaitu bagian daun, kulit buah, dan biji dapat dilihat pada **Tabel V.1**.

Tabel V.1 Hasil Penapisan Fitokimia

Golongan Senyawa	Identifikasi								
	Daun			Kulit Buah			Biji		
	Simplisia	Infusa	Dekokta	Simplisia	Infusa	Dekokta	Simplisia	Infusa	Dekokta
Alkaloid	(+)			(+)			(+)		
Polifenolat	(+)			(+)			(+)		
Flavonoid	(+)			(+)			(+)		
Saponin	(-)			(-)			(-)		
Tanin	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Kuinon	(+)			(+)			(+)		
Monoterpenoid dan Sesquiterpenoid	(+)			(+)			(+)		
Triterpenoid	(+)			(+)			(+)		
Steroid	(+)			(+)			(+)		

Keterangan: (+) terdeteksi, (-) tidak terdeteksi

Skrining fitokimia infusa dan dekokta hanya dilakukan terhadap senyawa golongan tanin

Penapisan fitokimia merupakan tahapan awal dalam mengidentifikasi kandungan kimia yang terdapat dalam tumbuhan. Hasil penapisan fitokimia serbuk simplisia dari tanaman delima yaitu bagian daun, kulit buah, dan biji terdapat keseragaman kandungan senyawa fitokimia. Keseragaman antara simplisia ditunjukkan oleh adanya senyawa alkaloid, polifenolat, flavanoid, kuinon, tanin, monoterpen-sesquiterpen, steroid dan tidak adanya senyawa saponin.

Hasil yang diperoleh dari penapisan alkaloid pada simplisia daun, kulit buah dan biji menunjukkan hasil positif yaitu terdapat endapan putih dan jingga. Identifikasi adanya alkaloid dengan menggunakan reagen Dragendorf dan reagen Mayer yang bereaksi dengan gugus nitrogen alkaloid yaitu akan menimbulkan endapan gugus nitrogen dengan logam berat yang menunjukkan terdapat endapan

berwarna putih dan jingga (Farnsworth, 1966:258). Hasil dari pengujian alkaloid pada ketiga bagian tanaman delima memberikan hasil positif mengandung senyawa alkaloid.

Hasil yang diperoleh dari penapisan polifenolat simplisia dari tanaman delima pada bagian daun, kulit buah dan biji memberikan hasil positif yaitu terdapat endapan coklat. Penapisan polifenolat dengan mereaksikan sampel menggunakan besi (III) klorida memberikan adanya reaksi warna dan terbentuk adanya endapan. Reaksi yang terjadi yaitu gugus fenol dari senyawa polifenolat bereaksi dengan besi (III) klorida sehingga menghasilkan warna hijau atau biru hijau, merah ungu, biru-hitam hingga hitam menandakan positif fenolat atau timbul endapan coklat menandakan adanya polifenolat (Farnsworth, 1966:255). Hasil penapisan polifenolat dari ketiga bagian tanaman delima memberikan hasil positif mengandung senyawa polifenolat.

Hasil yang diperoleh penapisan flavonoid simplisia dari tanaman delima pada bagian daun, kulit buah dan biji memberikan hasil positif yaitu terbentuknya lapisan berwarna merah jingga. Penapisan flavonoid dilakukan dengan menyari sampel simplisia dengan air kemudian direaksikan dengan penambahan serbuk magnesium dan asam klorida dan amil alkohol. Serbuk magnesium ditambahkan untuk bereaksi dengan flavonoid dengan membentuk reaksi warna merah jingga sampai merah ungu (Farnsworth, 1966:263).

Hasil yang diperoleh penapisan saponin simplisia dari tanaman delima pada bagian daun, kulit buah dan biji memberikan hasil negatif dengan tidak adanya busa yang memiliki tinggi 1cm dan bersifat stabil setelah pengocokan. Penapisan saponin dapat menghasilkan busa dalam air. Penapisan saponin dilakukan dengan menyari sampel simplisia dengan air. Penambahan asam klorida

pada larutan sampel untuk menyakinkan bahwa busa yang muncul ditimbulkan dari saponin.

Hasil yang diperoleh dari penapisan tanin pada simplisia daun, kulit buah dan biji delima menunjukkan hasil positif dengan adanya endapan putih ketika ditambahkan gelatin 1% dan memberikan warna biru tua ketika ditambahkan besi (III) klorida .

Selanjutnya untuk mengidentifikasi jenis tanin yang terkandung dalam sampel, dilakukan pengujian lanjutan dengan menambahkan 15 ml pereaksi Steasny dan memanaskan larutan tersebut, hasil yang diperoleh dari ketiga ekstrak bagian daun, kulit buah dan biji delima menunjukkan pada ekstrak infusa kulit buah dan dekokta kulit buah adalah positif termasuk tanin katekat, karena terbentuk endapan merah muda pada larutan. Kemudian dilakukan pengujian lanjutan dengan menambahkan natrium asetat dan besi (III) klorida 1% memberikan biru tua menandakan positif tanin galat. Hasil yang diperoleh dari ketiga ekstrak bagian daun, kulit buah dan biji delima menunjukkan pada ekstrak infusa daun dan infusa biji serta dekokta daun dan dekokta biji adalah positif termasuk tanin galat, karena terbentuk endapan biru tua pada larutan.

Hasil yang diperoleh penapisan kuinon simplisia dari tanaman delima pada bagian daun, kulit buah dan biji memberikan hasil positif terbentuknya warna jingga. Penapisan senyawa kuinon dilakukan berdasarkan reaksi warna yang terjadi antara kuinon dan natrium hidroksida. Reaksi akan memberikan warna merah hingga jingga yang menandakan positif kuinon (Farnsworth, 1966:265).

Hasil penapisan kuinon dari ketiga bagian tanaman delima memberikan hasil positif mengandung senyawa kuinon.

Hasil yang diperoleh pada penapisan monoterpenoid dan seskuiterpenoid pada simplisia daun, kulit buah dan biji delima menunjukkan hasil positif berupa terbentuknya warna merah muda dan hijau. Penapisan monoterpenoid dan seskuiterpenoid dilakukan dengan menyari senyawa menggunakan eter secara penggerusan, agar memperluas kontak permukaan simplisia dan merusak dinding sel-sel tumbuhan dengan cairan penyari sehingga memperoleh ekstrak. Kemudian dilakukan penguapan dari ekstrak yang diperoleh untuk menghilangkan pelarut pada sampel yang diuji. Setelah itu dilakukan penambahan vanilin dan asam sulfat pekat untuk menghasilkan reaksi warna yang menunjukkan adanya senyawa monoterpenoid dan seskuiterpenoid. Hasil penapisan monoterpenoid dan seskuiterpenoid dari ketiga bagian tanaman delima memberikan hasil positif mengandung senyawa monoterpenoid dan seskuiterpenoid dengan terbentuknya warna merah muda dan hijau.

Penapisan triterpenoid-steroid dilakukan dengan penambahan reagen Liebermann Burchard memberikan reaksi warna yang spesifik terhadap triterpenoid maupun steroid. Reaksi warna yang terjadi berbeda sesuai dengan kandungannya. Warna ungu menandakan positif triterpenoid, sedangkan warna hijau-biru menandakan positif steroid. Hasil yang diperoleh penapisan triterpenoid-steroid simplisia dari tanaman delima pada bagian daun, kulit buah dan biji memberikan hasil positif.

Hasil penapisan fitokimia terkait adanya alkaloid , triterpen dan tannin sesuai dengan pustaka bahwa suku Punicaceae menghasilkan alkaloid, triterpen, tannin, asam elagit dan asam galat (Cronquist,1981:643), (Sudiarto dan Rifai, 1992:270) juga menyebutkan bahwa kulit buah delima kaya akan tannin.

5.7. Ekstraksi

Metode ekstraksi yang digunakan adalah infusa dan dekokta. Masing-masing serbuk simplisia dari tanaman delima pada bagian daun, kulit buah, dan biji sebanyak 300 gram diekstraksi secara infusa dan dekokta dengan menggunakan pelarut air sebanyak 3L, untuk pengujian dengan metode infusa menggunakan suhu 96- 98°C dengan waktu pemanasan selama 15 menit dan pengujian dengan metode dekokta menggunakan suhu 100°C dengan waktu pemanasan selama 30 menit ekstraksi yang diperoleh ketiga bagian dari tanaman delima berupa ekstrak cair. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dikeringkan dengan *freeze dryer* hingga diperoleh ekstrak kering. Dikarenakan kandungan senyawa yang diambil yaitu tanin bersifat larut dalam air.

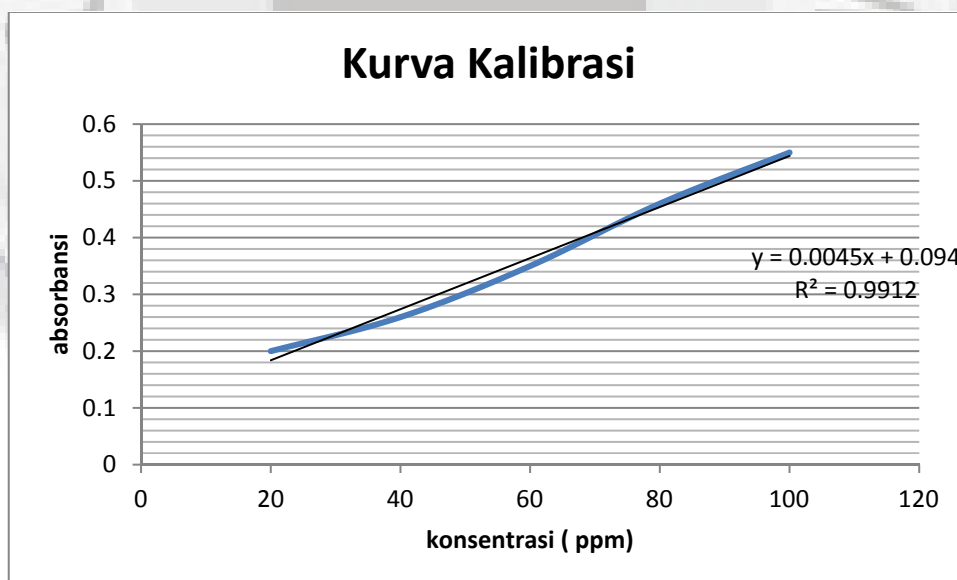
Rendemen masing-masing ekstrak didapatkan dari perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan simplisia awal (Depkes RI, 2000:10). Untuk metode infusa rendemen pada bagian daun sebesar 13,33%, kulit buah 23,20%, biji 16,30% dan dengan menggunakan metode dekokta rendemen yang didapatkan sebesar 13,93%, kulit buah 21,66% dan biji 20,00%, hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 10**.

5.8. Penetapan Kadar Tanin

Penetapan kadar tanin dilakukan terhadap infusa dan dekokta daun, kulit buah dan biji delima menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak, dengan asam tanat sebagai pembanding. Hasil pengukuran absorbansi senyawa pembanding asam tanat dapat dilihat pada **Tabel V.2**.

Kadar tanin pada tiap infusa dan dekokta ditetapkan dengan metode dan perlakuan yang sama dengan pembanding asam tanat. Untuk perhitungan kadar tanin total pada konsentrasi 200 ppm dan 5000 ppm dapat dilihat pada **Lampiran 13** dan hasil pengukuran kadar tanin infusa dan dekokta dapat dilihat pada **Tabel V.3**

Kurva kalibrasi asam tanat dapat dilihat pada (Gambar V.1) dimana dihasilkan persamaan regresi linier $y = 0.0045x + 0.094$ dengan $r^2 = 0.9912$.



Gambar V.1 Kurva kalibrasi asam tanat

Tabel V.2 Hasil pengukuran absorbansi asam.tanat

Pembanding	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
Asam tanat	20	0,20
Asam tanat	40	0,26
Asam tanat	60	0,35
Asam tanat	80	0,46
Asam tanat	100	0,55

Tabel V.3 Hasil penetapan kadar tanin

Ekstrak tanaman delima	Absorbansi	Konsentrasi sampel (mg/L) dalam 200 ppm	Konsentrasi sampel (mg/L) dalam 5000 ppm	Kadar tanin (%)
Infusa daun	0,334	53,33	133,32	3,53 %
Infusa kulit buah	0,321	50,44	126,10	5,85 %
Infusa biji	0,330	52,45	52,45	2,02 %
Dekokta daun	0,265	38,07	95,17	2,64 %
Dekokta kulit buah	0,499	90,00	225,00	9,72 %
Dekokta biji	0,330	52,44	52,44	2,09 %

Dari tabel V.3 dan hasil analisis data semua sampel yaitu infusa daun, infusa kulit buah, infusa biji delima dan dekokta daun, dekokta kulit buah, dekokta biji delima menunjukkan bahwa kadar tanin total tertinggi dimiliki oleh dekokta kulit buah delima, yaitu sebesar 9,72%. Jika dibandingkan di antara kelompok infusa, infusa kulit buah juga memiliki kadar paling tinggi yaitu sebesar 5,85%. Hal ini menunjukkan bahwa bagian kulit buah delima memiliki kandungan tanin total yang paling tinggi.

5.9. Analisis Data

Untuk melihat ada atau tidaknya perbedaan bermakna dari kadar kandungan tanin dalam ekstrak tanaman delima yaitu daun, kulit buah dan biji,

maka dilakukan uji statistik yaitu dengan Metode *one way ANOVA*, hasil selengkapnya dapat dilihat pada **Lampiran 14**.

Berdasarkan hipotesis (H) :

H_0 : Tidak ada perbedaan kadar tanin yang bermakna antara ekstrak daun, kulit buah dan biji.

H_1 : Terdapat perbedaan kadar tanin yang bermakna antara ekstrak daun, kulit buah dan biji.

Maka dipilih kriteria : Tolak H_0 jika $P\text{-value} < \alpha$.

$P\text{-value}$ memiliki nilai 0,001 sedangkan nilai $\alpha = 0,05$, sehingga dapat dikatakan bahwa kandungan tanin dari ekstrak daun, kulit buah dan biji yang berbeda memiliki kadar yang sangat berbeda secara bermakna karena $P\text{-value} < \alpha$. (Sudjana, 2005).