

*Research Articles***Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat dan N-Heksan Daun Delima (*Punica Granatum*L.) Dengan Metode DPPH***Antioxidant Activity of Ethyl Acetate and N-Hexane Fractions of Pomegranate Leaves (*Punica Granatum* L.) using DPPH Method*¹Suprpto prayitno, ²Andi Armisman Edi Paturusi, ³Utami Putri Damayanti^{1,2,3} Universitas Pancasakti*Alamat korespondensi : Email : suprptopravitno@gmail.com

(Received 05 November; Accepted 25 Desember)

Abstrak

Latar Belakang: Antioksidan merupakan senyawa yang bisa mencegah atau memperlambat reaksi oksidasi yang dipicu radikal bebas, terutama pada proses oksidasi lipid, dengan cara menetralkannya melalui donor elektron. Penelitian ini bertujuan menilai aktivitas antioksidan fraksi etil asetat dan n-heksan daun delima dengan pembandingan vitamin C, serta menentukan nilai IC₅₀ terhadap radikal bebas DPPH.

Motode: Ekstraksi dilakukan menggunakan metode maserasi dengan etanol 96%, kemudian fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat dan n-heksan. Aktivitas antioksidan diuji secara kuantitatif dengan metode DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), dan absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Hasil: Hasil penelitian menunjukkan nilai IC₅₀ fraksi etil asetat 15,646 ppm, fraksi n-heksan 73,080 ppm, dan vitamin C 11,87 ppm.

Kesimpulan: Dengan demikian, fraksi etil asetat termasuk kategori sangat aktif, sedangkan fraksi n-heksan tergolong aktif sebagai antioksidan.

Kata kunci: **Daun Delima, Antioksidan, DPPH, IC50****Abstract**

background: Antioxidants are compounds that can prevent or slow oxidation reactions triggered by free radicals, particularly in lipid oxidation, by neutralizing them through electron donation. This study aimed to assess the antioxidant activity of ethyl acetate and n-hexane fractions of pomegranate leaves compared to vitamin C and to determine their IC₅₀ values against DPPH free radicals.

Method: Extraction was carried out using a maceration method with 96% ethanol, followed by fractionation using ethyl acetate and n-hexane solvents. Antioxidant activity was quantitatively assayed using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method, and absorbance was measured using a UV-Vis spectrophotometer.

Results: The results showed that the IC₅₀ values for the ethyl acetate fraction were 15.646 ppm, the n-hexane fraction 73.080 ppm, and vitamin C 11.87 ppm.

Conclusion: Thus, the ethyl acetate fraction is categorized as highly active, while the n-hexane fraction is classified as active as an antioxidant.

Keywords: **Pomegranate Leaves, Antioxidants, DPPH, IC50**

Pendahuluan

Gaya hidup manusia pada masa kini mengalami banyak perubahan seiring perkembangan jaman, salah satunya adalah Kebiasaan makan. Kebiasaan makan yang kurang sehat serta paparan zat berbahaya dalam tubuh berpotensi menimbulkan berbagai penyakit, termasuk penyakit degeneratif. Kondisi tersebut berkaitan erat dengan proses oksidasi yang berlebihan di dalam tubuh (Yuslianti, 2018). Oksidasi adalah pelepasan elektron dari atom hidrogen yang menghasilkan radikal bebas. Proses ini dapat mengakibatkan reaksi berantai yang merusak sel sehat, karena sel harus melepaskan salah satu elektronnya kepada senyawa bersifat oksidan untuk menghambat reaksi oksidatif. Antioksidan berperan penting dalam mencegah hal ini. Senyawa tersebut dapat berupa vitamin (misalnya vitamin C, vitamin A, dan vitamin E), enzim, maupun mineral tertentu. Sumber antioksidan juga banyak ditemukan pada bahan pangan alami seperti sayuran, buah-buahan, hingga oatmeal. (Sawiji & La, 2021)

Salah satu herbal yang banyak yakni delima. Ekstrak delima mengandung sejumlah anthocyanins dan hydrolysable tannins yang merupakan antioksidan kuat, agen anti inflamasi dan memiliki efek anti tumor yang telah diteliti secara lab test dan human test (Lei et al., 2007). Banyak penelitian yang menggunakan ekstrak buah dan kulit delima. Namun sedikit penelitian yang menggunakan ekstrak daun delima.

Hasil screening fitokimia terhadap ekstrak etanol dan simplisia daun delima menunjukkan adanya kandungan metabolit sekunder berupa flavonoid, alkaloid, steroid, saponn, serta terpenoid. Flavonoid yang terdapat pada daun delima berperan dalam menekan stres oksidatif pada sel serta memiliki potensi terapeutik terhadap berbagai penyakit, di antaranya kanker, peradangan, gangguan kardiovaskular, infeksi bakteri, tumor, alergi, hingga diabetes. Penelitian mengenai aktivitas antioksidan ekstrak daun delima juga melaporkan nilai IC_{50} sebesar 10,052 ppm, yang mengindikasikan bahwa ekstrak tersebut masuk dalam kategori sangat aktif sebagai antioksidan. (Boggula & Peddapalli, 2017)

Pengukuran kapasitas antioksidan dapat dilakukan dengan cara yang sederhana, cepat, dan ekonomis melalui pemanfaatan radikal bebas 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH). Metode ini banyak difungsikan untuk menilai kemampuan suatu unsur dalam bertindak sebagai penangkal radikal bebas maupun sebagai donor hidrogen, sekaligus mengevaluasi tingkat aktivitas antioksidannya (Tailor & Goyal, 2014). Berdasarkan hal tersebut, penulis terdorong untuk meneliti aktivitas antioksidan dari berbagai fraksi dengan perbedaan tingkat kepolaran.

Uji potensi antioksidan pada fraksi n-heksana dan etil asetat dari ekstrak etanol daun delima (*Punica granatum L.*) dijalankan menerapkan teknik penangkapan radikal bebas DPPH, yang hasilnya dinyatakan dalam nilai IC_{50} . Nilai IC_{50} menggambarkan konsentrasi fraksi uji yang mampu menghambat atau mereduksi 50% jumlah radikal bebas.

Metode Penelitian

Lokasi dan rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan di laboratorium Farmakognosi Fitokimia Universitas Pancasakti Makassar. Jenis penelitian yang digunakan merupakan eksperimental laboratorium.

Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh tanaman Delima yang tumbuh diatas permukaan tanah yang berada di Kelurahan Sudiang, Kecamatan Biringkanaya, Kota Makassar. Sampel yang

digunakan adalah daun delima yang berwarna hijau tua yang dikumpulkan pada pagi hari, saat proses fotosintesis berlangsung.

Alat dan Bahan

Peranti yang dipergunakan meliputi berbagai perlengkapan gelas lab, kertas aluminium, pengaduk, cawan penguap, corong pisah, kertas filtrat, labu ukur, neraca analitic (Mettler Toledo), pipet tetes, rotary evaporator, spektrofotometer UV-Vis, wadah maserasi, vial, serta waterbath. Bahan-bahan yang dipergunakan meliputi : air suling, asam askorbat 2,2-Diphenyl-1Picrylhidrazyl (DPPH), ekstrak Daun Delima (*Punica granatum L.*) , etanol 96%, etil acetate, n-hexan.

Pembuatan Simplisia

Setelah sampel terkumpul, daun ditimbang sebanyak 500 gram lalu dilakukan sortasi basah dengan membersihkan kotoran yang menempel, kemudian ditiriskan. Selanjutnya, daun delima dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena paparan langsung cahaya matahari, lalu ditimbang kembali dan dilanjutkan ke proses ekstraksi.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Delima

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi, yaitu sebanyak 150 gram simplisia dimasukkan kedalam Wadah maserasi, dan larutkan dengan etanol sebanyak 1,5L kemudian ditutup dengan kertas aluminium, dibiarkan selama 3hari,dan terkadang diaduk. Setelah itu disaring. Kemudian filtrat yang dihasilkan dipekatkan dan diuapkan di hingga diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan Fraksi

Fraksinasi ekstrak etanol daun delima dilakukan dengan menimbang 5 gram ekstrak hasil maserasi, kemudian dilarutkan dalam 50 mL air dan dimasukkan pada corpis. pelarut n-heksan ditambahkan sebanyak 50 mL, diulang tiga kali, lalu fase n-heksan yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan sehingga diperoleh fraksi n-heksan. Proses yang sama dilakukan dengan pelarut etil asetat (3×50 mL), dan fraksi etil asetat yang didapatkan juga dipekatkan menggunakan waterbath.

Uji Aktivitas Antioksidan Daun Delima (*Punica granatum L.*)

Pembuatan Larutan DPPH

Serbuk DPPH diambil sejumlah 5 mg, dilarutkan dalam etanol 96% sampai 100 ml, sehingga didapat larutan dengan konsentrasi 50 ppm

Pembuatan Larutan Blanko

Larutan DPPH diambil sejumlah 3 ml, lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan etanol 96% sebanyak 2 ml

Pembuatan Larutan Stok dan Seri Vitamin C

Vitamin C diambil sejumlah 10 mg dan dilarutkan memakai etanol 96% sebanyak 100 ml, sehingga didapat larutan berkonsentrasi 100 ppm, kemudian dibuat larutan seri (Konsentrasi 2, 4, 6,

8, 10 ppm. Pada konsentrasi tersebut masing-masing dipipet sebanyak 1ml, 2ml, 3ml, 4ml, 5ml kemudian masing-masing ditambah dengan etanol 96% ad 50 ml.

Pembuatan Larutan Stok dan Seri Fraksi N-Heksan Daun Delima

Fraksi N-Heksan Daun Delima sebanyak 25 mg diambil dan dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 250 ml. Larutan disaring menggunakan kertas saring kemudian dibuat larutan seri (konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80 ppm) Pada konsentrasi tersebut masing-masing dipipet sebanyak 20 ml, 25ml, 30ml, 35ml, 40ml kemudian masing-masing ditambah dengan etanol 96% ad 50 ml.

Pembuatan Larutan Induk dan Seri Fraksi Etil Asetat Daun Delima

Fraksi Etil Asetat Daun Delima sebanyak 25 mg diambil dan dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 250 ml. Larutan disaring menggunakan kertas saring kemudian dibuat larutan seri (konsentrasi 40, 50, 60, 70, 80 ppm) Pada konsentrasi tersebut masing-masing dipipet sebanyak 20 ml, 25ml, 30ml, 35ml, 40ml ditambah dengan etanol 96% ad 50 ml.

Pengukuran Absorbansi

Pengukuran Absorbansi Larutan Blanko

Dipipet 3ml larutan DPPH dan ditambahkan etanol 96% hingga ad 5ml dengan menggunakan vial dan dihomogenkan diinkubasi pada suhu ruang, kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang 400-600nm menggunakan spektrofotometri uv-vis untuk didapatkan nilai absorbansi.

Pengukuran Absorbansi Larutan Vitamin C

Dipipet 2ml larutan vitamin C pada konsentrasi (2, 4, 6, 8, 10ppm) kedalam vial, ditambahkan larutan DPPH 3ml dan dihomogenkan kemudian diinkubasi. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 518 dengan alat spektrofotometri uv-vis untuk didapatkan nilai absorbansi.

Pengukuran Absorbansi Larutan Seri Fraksi Etil Asetat Daun Delima

Dipipet 2ml larutan uji fraksi etil asetat daun delima pada masing-masing konsentrasi (40, 50, 60, 70, 80ppm) kedalam vial, ditambahkan larutan DPPH 3ml dan dihomogenkan kemudian diinkubasi. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 518 pada alat spektrofotometri uv-vis untuk didapatkan nilai absorbansi.

Pengukuran Absorbansi Larutan Seri Fraksi N-Heksan Daun Delima

Dipipet 2ml larutan uji fraksi N-Heksan daun delima pada masing-masing konsentrasi (40, 50, 60, 70, 80ppm) kedalam vial, ditambahkan larutan DPPH 3ml dan dihomogenkan kemudian diinkubasi. Selanjutnya larutan tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang 518 pada alat spektrofotometri uv-vis untuk didapatkan nilai absorbansi.

Analisis Data

Setelah didapatkan nilai absorbansi kemudian dimasukkan ke rumus %inhibisi Kemudian dibuat grafik antara Log konsentrasi sampel (x) dengan probit persen penghambat (y). Nilai IC_{50} dijumlah berlandaskan rumus persamaan regresi ($y = a + bx$).

Hasil

Tabel 1.
Hasil Rendamen Ekstraksi Daun Delima

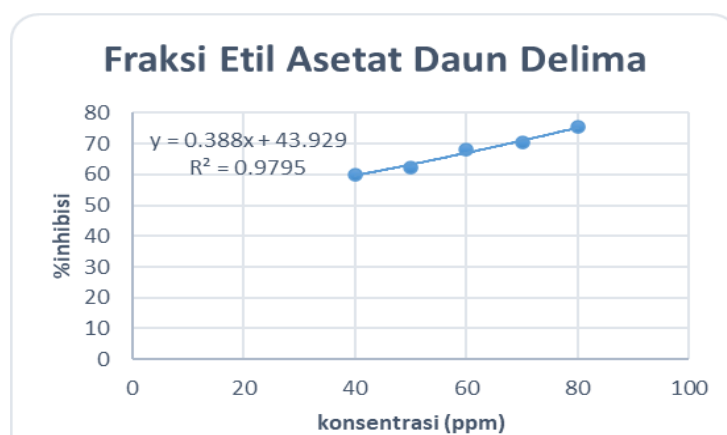
Sampel	Berat Simplisia (g)	Berat Ekstrak (g)	Rendemen
Daun Delima	150g	43,857 g	29,238%

Sumber

Daun delima diekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode perendaman maserasi lalu dilakukan pemekatan dan didapatkan ekstrak kental, dilihat dari tabel 1 diperoleh ekstrak kental sebanyak 43,857gram dan hasil Persen rendemen yang diperoleh dari ekstraksi simplisia daun delima (*Punica granatum* L.) menggunakan pelarut etanol sebesar 29,238%. Nilai ini menunjukkan bahwa proses ekstraksi berlangsung secara efektif dan efisien.

Tabel 2.
Hasil pengukuran aktivitas antioksidan fraksi Etil Asetat daun delima pada spektrofotometri Uv-Vis

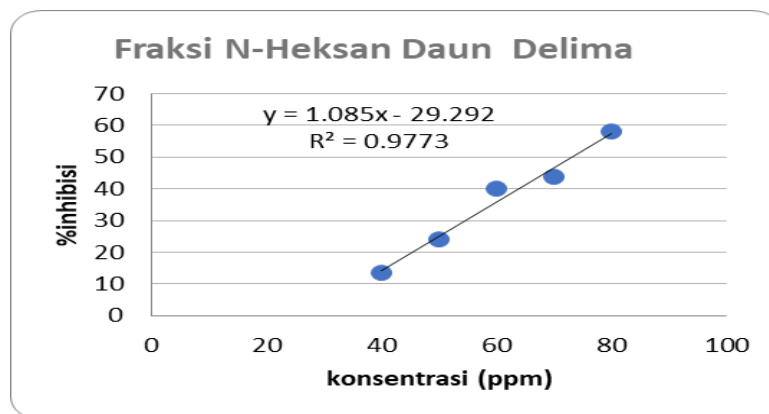
Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Nilai IC_{50}
Fraksi Etil Asetat daun delima	40	0,300	59,946	15,646
	50	0,283	62,216	
	60	0,238	68,224	
	70	0,222	70,360	
	80	0,185	75,300	



Tabel 3.

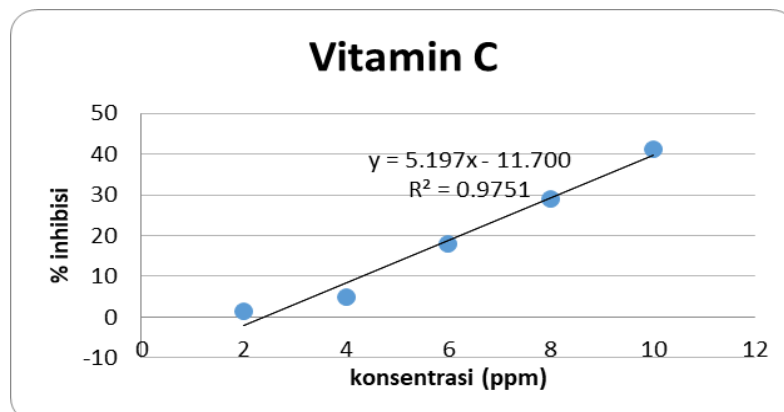
Hasil pengukuran aktivitas antioksidan fraksi N-Heksan daun delima pada spektrofotometri Uv-Vis

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Nilai IC ₅₀
Fraksi N-Heksan daun delima	40	0,648	13,484	73,080
	50	0,569	24,032	
	60	0,450	39,919	
	70	0,422	43,658	
	80	0,315	57,943	

**Tabel 4.**

Hasil pengukuran aktivitas antioksidan Pembanding Vitamin C Pada spektrofotometri Uv-Vis

Sample	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	% Inhibisi	Nilai IC ₅₀
Vitamin C	2	0,739	1,353	11,87
	4	0,713	4,806	
	6	0,613	17,890	
	8	0,531	29,105	
	10	0,440	41,255	



Pembahasan

Sample Pada penelitian ini menggunakan daun Delima muda, yang dipilih berdasarkan pertimbangan kandungan senyawa bioaktif yang lebih tinggi dibandingkan daun tua, hal ini didukung oleh penelitian Al-Jarallah et al. 2021 yang melaporkan bahwa daun delima muda memiliki Kadar total fenolik dan flavonoid lebih tinggi, disertai aktivitas antioksidan yang tinggi, jika dibandingkan dengan daun yang sudah tua (Al-Jarallah et al., 2021). Selanjutnya, daun delima akan melalui proses sortasi basah untuk menghilangkan pengotor serta material asing, selanjutnya daun tersebut dipotong-potong (dirajang), di cuci dan dikeringkan sehingga didapatkan 150 gram Daun delima , lalu dilanjutkan dengan proses ekstrasi.

Analisis aktivitas antioksidan Fraksi Etil Asetat Dan N-Heksan Daun Delima (*Punica Granatum* L) Metode DPPH digunakan dengan Vitamin C sebagai kontrol positif, dimana parameter utama yang diukur adalah nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi sampel yang mampu menghambat 50% aktivitas radikal bebas. Pada metode ini, DPPH berperan sebagai senyawa radikal bebas yang akan dinetralkan oleh senyawa uji. (Aryani. 2021).

Hasil penelitian pada Tabel 2 menunjukkan bahwa nilai IC_{50} fraksi etil asetat daun delima sebesar 15,646 ppm, sedangkan pada Tabel 3 nilai IC_{50} fraksi n-heksan daun delima sebesar 73,080 ppm. Sementara itu, pada Tabel 4 ditampilkan bahwa kontrol positif berupa vitamin C memiliki nilai IC_{50} sebesar 11,87 ppm. Berdasarkan klasifikasi yang dikemukakan oleh Blois (1958) dan diperkuat oleh Molyneux (2004), aktivitas antioxidant dapat dibagi menjadi empat kategori berdasarkan nilai IC_{50} , yaitu: sangat aktif jika $IC_{50} < 50$ ppm, aktif jika IC_{50} antara 50–100 ppm, sedang jika IC_{50} antara 101–250 ppm, dan lemah jika IC_{50} antara 250–500 ppm.

Berdasarkan klasifikasi tersebut, fraksi etil asetat daun delima termasuk dalam kategori sangat aktif, dengan nilai IC_{50} mendekati kontrol positif vitamin C. Sementara itu, fraksi n-heksan dikategorikan sebagai antioksidan aktif, meskipun nilai IC_{50} -nya jauh lebih tinggi dibandingkan etil acetate maupun vitamin C, yang menunjukkan bahwa efektivitas peredaman radikal bebasnya lebih rendah.

Perbedaan ini dapat dijelaskan melalui pengaruh kepolaran pelarut. Etil asetat selaku pelarut polar aprotik yang bisa melarutkan senyawa fenolic dan flavonoid secara efisien dua kelompok senyawa yang diketahui memiliki aktivitas antioksidan tinggi. Sebaliknya, n-heksane adalah pelarut nonpolar yang lebih mengarah melarutkan unsur lipofilik seperti minyak dan hidrokarbon yang kontribusinya terhadap aktivitas antioksidan relatif kecil (Kedare & Singh, 2021; Mamoona et al., 2024). Oleh karena itu, fraksi ethyl acetate menunjukkan potensi antioksidan yang lebih aktif dibanding fraksi n-heksan.

Selain itu, kontrol positif berupa vitamin C memiliki nilai IC_{50} paling rendah, yang menegaskan statusnya sebagai antioksidan murni dengan kapasitas reduksi tinggi. Meskipun fraksi etil asetat tidak seefektif vitamin C, nilai IC_{50} -nya yang berada dalam kategori sangat aktif menunjukkan bahwa fraksi ini mempunyai kemampuan signifikan sebagai antioksidan alami terutama dalam pengembangan produk farmasi, kosmetik, atau pangan fungsional.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang diamati, maka diketahui bahwa fraksi etil asetat daun delima menunjukkan aktivitas antioksidan dengan nilai ic_{50} sebesar 15,646 ppm, sedangkan fraksi n-heksan daun delima memiliki nilai ic_{50} sebesar 73,080 ppm.potensi antioksidan farksi etil asetat daun

delima dikategorikan sangat aktif, sedangkan fraksi N-Heksan daun delima dikategorikan sebagai aktif.

Referensi

- Al-Jarallah, S., Al-Suwayeh, S., & Al-Dhudhairi, A. (2021). Variation in phytochemical and antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum* L.) leaves at different maturity stages. *Journal of Applied Research on Medicinal Plants*, 19, 100281.
- Aryani. (2021). Pengujian Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Ulin (*Eusideroxylon zwageri*) dengan Menggunakan Metode DPPH. *Buletin Loupe*, 17(01), 21–27.
- Blois, M. S. (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181, 1199–1200.
- Boggula, N., & Peddapalli, H. (2017). Phytochemical Analysis and Evaluation of In Vitro Anti Oxidant Activity of *Punica Granatum* Leaves. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(08).
- Carlos, O.S. et al. (2022) ‘Potential Mechanisms of the Improvement of Glucose Homeostasis in Type 2 Diabetes by Pomegranate Juice’, *Antioxidants*, 11(3), pp.1–13.
- Cheurfa, M. et al. (2020) ‘Antioxidant and anti-diabetic activity of pomegranate (pomegranate) plant extracts: A review’, *Biomedicine and Pharmacotherapy*, (*Punica granatum* L.) leaves extracts’, *Foods and Raw Materials*, 8(2), pp.153(July)
- De Oliveira, S., De Souza, G. A., Eckert, C. R., Silva, A., Sobral, S., Fávero, O. A., José, M., Ferreira, P., Romoff, P., & Baader, W. J.. 2014. *Evaluation Of Antiradical Assays Used In Determining The Antioxidant Capacity Of Pure Compounds And Plant Extracts*. *Quim. Nova*, 37(3), 497–503.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI). 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan. Jakarta.
- Fidrianny, I., Windyaswari, A. S., & Wirasutisna, K. R. 2013. *Antioxidant capacities of various leaves extract from five colors varieties of sweet potatoes tubers using ABTS, DPPH assays and correlation with total flavonoid, phenolic, carotenoid content*. *Research Journal of Medicinal Plant*, 7(3), 130–140.
- Foudubun, O. A. 2019. *Toksistas Ekstrak Etanol Daun Sirsak Gunung (*Annona montana*) Terhadap Larva *Artemia salina* Menggunakan Metode BSLT (Brine Shrimp Lethality Test)* .Doctoral dissertation. Akademi Farmasi Putra Indonesia Malang.
- Ghozaly, M. R., & Safitri, E. B. (2016). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak N-Heksan, Etil Asetat Dan Metanol Dari Varietas Umbi Wortel (*Daucus Carota* L.) Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil) (Vol. 9, Issue 2).
- Hanani, E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Keokteran EGC.

- Hanani, E., Im, A., Sekarini, R., & Kefarmasian, M. (2005). Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam spons *Callyspongia sp* dari Kepulauan Seribu. 127–133.
- Kedare, S. B., & Singh, R. P. (2021). Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. *Food Research International*, 141, 110615.
- Khasanah, N. (2016). Kandungan Buah-Buahan Dalam Alqur'an: Buah Tin (*Ficus carica L*), Zaitun (*Olea europea L*), Delima (*Punica granatum L*), Anggur (*Vitis vinivera L*), Dan Kurma (*Phoenix dactylifera L*) Untuk Kesehatan. *Jurnal Pendidikan MIPA* (Vol. 1, Issue 1).
- Lei, F. et al. (2007). Evidence of anti-obesity effects of the pomegranate leaf extract in high-fat diet induced obese mice. *International Journal of Obesity*, 31(6), pp. 1023–1029.
- Mamoon, A., Imran, M., Arshad, M. U., & Rehman, H. U. (2024). Comparative assessment of solvent polarity on antioxidant potential and phenolic content from plant extracts. *Biomass Conversion and Biorefinery*, 14, 1–10. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-06368-6>
- Mansur, S., Deroyeen, A., Indriyanti, M., Annisak, A., Fajriati, D., & 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, 69-76.
- Maphetu, N. et al. (2022) 'Medicinal uses, pharmacological activities, phytochemistry, and the molecular mechanisms of *Punica granatum L.* (pomegranate) plant extracts: A review', *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 153(July), p. 113256.
- Martin, A., Bustamante, P. and Chun, A.H.C.1993. *Physical Pharmacy*, Fourth Edition, 331-336, Lea & Febiger, Philadelphia, London.
- Maulana, A. K., Abidin, Z., Sadjidin, S., & Naid, T. (2019). Analisis Kadar Vitamin C Pada Buah Delima (*Punica granatum L.*) Merah Dan Putih Secara Spektrofotometri UV-VIS K. *Jurnal Kesehatan*, 2(2).
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 26(2), 211–219.
- Mutiasari, I.R. 2012. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Jamur *Pleurotus ostreatus* dengan Metode DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa dari Fraksi Teraktif. Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Depok.
- Negi, H. et al. (2021). Medicinal Plants and Natural Products: More Effective and Safer Pharmacological Treatment for the Management of Obesity. *Current Drug Metabolism*, 22(12), pp. 918–930.
- Ramadhan, E., & Sudarsono. 2013. *Radicals Arrest Of 2,2-Diphenyl-1-Pycryl Hydrazyl (Dpph) in Ripe and Raw Papaya Fruit (Carica Papaya L.* *Majalah Obat Tradisional*, 18
- Rohman, A. 2013. *Analisis komponen makanan* . Graha Ilmu.
- Sani, A., Bello, I., & Musa, A. (2020). Phytochemical and antioxidant analysis of *Punica granatum*

leaf extract. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*.

- Sawiji, R. T., & La, E. O. J. (2021). Uji Aktivitas Antioksidan Body Butter Ekstrak Etanol Kulit Buah Naga Merah dengan Metode DPPH: Antioxidant Activity of Red Dragon Fruit Extract Body Butter Using DPPH Method. *Jurnal Surya Medika (JSM)*, 6(2), 178–184.
- Sayuti, K., & Yenrina, R. 2015. *Natural and Synthetic Antioxidants*. Andalas University Press.
- Singh, R., Chidambara Murthy, K. N., & Jayaprakasha, G. K. (2016). Chemical analysis of *Punica granatum* peel and its in vitro and in vivo biological properties. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 12.
- Suharti, B., Kartika, T., & Sugiyanta, S. (2021). Culture and social: herbal medicine as health communication to build urban community empowerment. *Jurnal Studi Komunikasi*
- Syamsuni. 2006. *Ilmu Resep*. Penerbit Buku Keokteran EGC.
- Tailor, C. S., & Goyal, A. (2014). Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of *Ageratum conyzoides*. *Orient*, 1(4), 244–249.
- Tanjung, T. Y. (2021). Pengaruh Penggunaan Zpt Alami Dan Buatan Terhadap Pertumbuhan Setek Tanaman Delima (*Punica granatum L.*). *Jurnal Hortuscoler*, 2(01), 6–13.
- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan alami dan radikal bebas: Potensi dan aplikasi dalam kesehatan*. Yogyakarta: Kanisius.
- Wulandari, Sekar (2021) *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Dan Fraksi Etil Asetat Dari Ekstrak Daun Jarak Pagar (Jatropha Curcas L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus*. Other Thesis, Stikes Bhakti Husada Mulia.
- Yuslianti, E. R. (2018). *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Deepublish.
- Zinina, O., Dyrkheeva, N., & Musayeva, R. (2020). Extraction of biologically active substances from pomegranate leaves (*Punica granatum L.*). *Journal of Food Research and Management*, 5(3), 215–223.