

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi Daun Jarak Merah

Dalam penelitian ini, sampel diperoleh melalui proses ekstraksi simplisia dari daun jarak merah (*Jatropha gossypifolia* L.). Tahapan ekstraksi diawali dengan pengumpulan daun yang telah mencapai kematangan optimal, ditandai dengan warna hijau tua kemerahan. Daun kemudian menjalani sortasi basah untuk memisahkan bagian yang tidak diperlukan seperti batang dan ranting. Setelah itu, daun dicuci bersih guna menghilangkan tanah dan kotoran yang menempel. Untuk menghindari paparan matahari langsung, proses pengeringan dilakukan dengan diangin-anginkan, bertujuan menurunkan kadar air dan mencegah reaksi enzimatik yang dapat menurunkan kualitas bahan. Daun yang telah kering kemudian diserbukkan untuk memaksimalkan interaksi antara permukaan sampel dan pelarut pada tahap ekstraksi.

Pada tahap ekstraksi, digunakan rasio simplisia dan pelarut sebanyak 1 bagian serbuk terhadap 10 bagian pelarut, yang dilakukan dalam dua tahap, yaitu maserasi dan remaserasi. Pada tahap maserasi, serbuk simplisia direndam dengan 1.875 mL etanol 95%, yang merupakan 75% dari total volume pelarut yang digunakan. Sebanyak 250 g serbuk dimaserasi selama lima hari, dengan pengadukan berkala untuk meningkatkan efisiensi ekstraksi. Setelah 5 hari, hasil maserasi disaring dan filtrat dikumpulkan dalam wadah terpisah, ampas serbuk hasil penyaringan diperas untuk mengambil

sisanya ekstrak, lalu dilanjutkan pada tahap remaserasi dengan sisa pelarut etanol 95% sebanyak 625 mL atau 25% dari total pelarut. Proses remaserasi berlangsung selama dua hari. Fitrat hasil remaserasi dikumpulkan bersama hasil maserasi sebelumnya. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan *Rotary evaporator* pada suhu 55 °C untuk memisahkan pelarut dari ekstrak. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan menggunakan *Waterbath* pada suhu 55 °C hingga mendapat ekstrak kental. Berat ekstrak kental yang diperoleh adalah 48,75 g, dengan rendemen 19,5%.

B. Fraksinasi Ekstrak Daun Jarak Merah

Sebagai langkah awal fraksinasi, sebanyak 10 gram ekstrak kental ditimbang terlebih dahulu, kemudian dilarutkan dengan 50 mL air panas. Ke dalam corong pisah dimasukkan larutan tersebut dan ditambahkan 50 mL *n*-heksan, lalu digojok. Setelah itu, larutan dibiarkan hingga terbentuk dua fase, dikeluarkan fase atas, yaitu fase *n*-heksan, karena *n*-heksan memiliki massa jenis lebih rendah dari air. Partisi dengan *n*-heksan dilakukan sebanyak lima kali untuk memperoleh fraksi secara maksimal. Setelah fraksi *n*-heksan selesai, proses dilanjutkan dengan menambahkan 50 mL kloroform ke fase air yang tersisa dalam corong pisah. Campuran digojok, dan setelah terbentuk dua fase, diambil lapisan bawah, yaitu fraksi kloroform, karena kloroform memiliki massa jenis lebih tinggi dari air. Proses partisi ini juga dilakukan lima kali. Fraksi hasil pemisahan dan dipekatkan dengan bantuan *waterbath* diatur pada suhu 55 °C hingga fraksi mengental.

C. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi kloroform Daun Jarak Merah

Uji kandungan metabolit sekunder dilakukan pada fraksi kloroform daun jarak merah untuk mengidentifikasi jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam dalam fraksi. Pemeriksaan ini dilakukan melalui metode skrining fitokimia. Hasil identifikasi fitokimia dari fraksi kloroform daun jarak merah tercantum dalam Tabel 2.

Tabel 2. Hasil skrining fitokimia fraksi kloroform daun jarak merah

Metabolit sekunder	Pereaksi	Hasil	Ket
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+
	Bouchardat	Larutan jingga	+
	Dragendrof	Larutan jingga	+
Flavonoid	H ₂ SO ₄	Larutan kuning kecoklatan	+
	NaOH 2 N	Larutan kuning	+
Tanin	FeCl ₃ 1%	Hujau kehitaman	+
Saponin	Uji busa	Terbentuk busa stabil	+

Menurut data hasil skrining fitokimia yang ditampilkan pada Tabel 2, fraksi kloroform daun jarak merah teridentifikasi memiliki berbagai jenis senyawa fitokimia, yakni alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Kandungan senyawa flavonoid dan tanin, yang diketahui memiliki kemampuan dalam menangkal radikal bebas, menunjukkan bahwa fraksi kloroform tersebut berpotensi sebagai antioksidan. Temuan ini dapat menjadi dasar awal untuk mendukung penelitian lanjutan terkait aktivitas antioksidannya.

Kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid memiliki aktivitas sebagai antioksidan disebabkan keberadaan atom nitrogen dalam strukturnya yang mengandung elektron bebas, sehingga dapat mendonorkan satu elektron

untuk meredam radikal bebas (Artati *dkk.*, 2021). Flavonoid berfungsi sebagai antioksidan dengan mekanisme mendonorkan elektron atau atom hidrogen dari gugus hidroksil (-OH) yang melekat pada cincin aromatiknya guna menetralkan radikal bebas (Oktaviani *dkk.*, 2021). Tanin, sebagai senyawa polifenol, juga mendonorkan elektron dan berperan sebagai antioksidan sekunder melalui kemampuan mengkelat logam seperti ion Fe (Oktaviani *dkk.*, 2021). Saponin menetralkan radikal superoksida dengan membentuk senyawa intermediet (hiperoksida) yang membantu menstabilkan radikal tersebut (Hasan *dkk.*, 2022).

D. Hasil Uji Antioksidan Fraksi Kloroform Daun Jarak Merah

Metode DPPH (2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl) digunakan dalam uji aktivitas antioksidan dengan bantuan spektrofotometer UV-Vis. Tahapan awal yaitu menentukan panjang gelombang serapan maksimum (λ maks) dari larutan DPPH dengan mencampurkan 1 mL larutan DPPH 200 ppm dan 4 mL etanol 95%, lalu diukur pada rentang 510–520 nm. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa λ maks berada pada 517,5 nm dan digunakan sebagai acuan dalam analisis selanjutnya.

Sampel uji berasal dari larutan stok 1000 ppm yang kemudian diencerkan hingga mencapai konsentrasi 25, 50, 75, 100, dan 125 ppm. Sebanyak 4 mL larutan diambil dari setiap konsentrasi dan dicampur dengan 1 mL DPPH 200 ppm, diaduk hingga merata kemudian dibiarkan selama 30 menit pada suhu ruang. Perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning menjadi indikator adanya aktivitas antioksidan, ini menandakan adanya reduksi radikal bebas

oleh senyawa dalam sampel (Widyasanti *dkk.*, 2016). Setelah 30 menit inkubasi, dan dianalisis menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 517,5 nm. Data hasil pengukuran ditampilkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil pembacaan absorbansi sampel fraksi kloroform daun jarak merah

No	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi		
		Pengukuran 1	Pengukuran 2	Pengukuran 3
1	125	0,4227	0,3509	0,5485
2	100	0,4625	0,4052	0,5617
3	75	0,5411	0,4939	0,6618
4	50	0,5627	0,5732	0,6694
5	25	0,6051	0,6620	0,7181

Berdasarkan data absorbansi pada Tabel 2, Regresi linear dibuat dengan menggunakan konsentrasi fraksi sebagai variabel pada sumbu x dan persentase peredaman sebagai variabel pada sumbu y. Persamaan ini digunakan untuk menggambarkan hubungan linier serta menentukan nilai IC_{50} , yaitu konsentrasi efektif (IC_{50}) dalam menetralkan 50% radikal bebas. Hasil dari perhitungan persen inhibisi dan pada Tabel 4 ditampilkan hasil analisis regresi.

Tabel 4. Hasil peredaman DPPH oleh fraksi kloroform daun jarak merah

Konsentrasi (ppm)	Persen Peredaman (%)			Rata-rata persen peredaman (%) ± SD	Persamaan regresi linear
	1	2	3		
125	41,152	54,534	30,375	42,021 ± 12,103	$y = 0,2985x + 5,3353$ $r^2 = 0,9828$
100	35,611	47,499	28,700	37,270 ± 9,508	
75	24,669	36,006	15,993	25,556 ± 10,035	
50	21,662	25,732	15,029	20,807 ± 5,402	
25	15,759	14,226	8,847	12,944 ± 3,629	

Data pada Tabel 4 menunjukkan persentase peredaman (%) dari fraksi kloroform daun jarak merah, dengan persamaan regresi linear $y = 0,2985x +$

5,3353 dan nilai koefisien korelasi $r^2 = 0,9828$. Semakin dekat nilai r^2 dengan 1 mengindikasikan adanya hubungan yang sangat kuat antara konsentrasi fraksi (x) dan persen peredaman (y). Koefisien korelasi yang positif menunjukkan arah hubungan yang sejalan, atau dapat dikatakan peningkatan konsentrasi fraksi sebanding dengan meningkatnya aktivitas penghambatan terhadap radikal bebas. Nilai IC_{50} (Inhibition Concentration) merupakan parameter penting dalam mengevaluasi kekuatan antioksidan. Semakin rendah nilai IC_{50} , semakin besar kemampuan senyawa atau fraksi dalam menetralkan radikal bebas (Abriyani *dkk.*, 2023). Hasil perhitungan nilai x menunjukkan besarnya IC_{50} . Hasil perhitungan nilai IC_{50} ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Nilai IC_{50} fraksi kloroform daun jarak merah

Nilai IC_{50}			Rata-rata $IC_{50} \pm SD$
1	2	3	
160,871	110,171	208,148	159,730 \pm 48,998

Mengacu pada Tabel 5, fraksi kloroform daun jarak merah menunjukkan nilai rata-rata IC_{50} sebesar 159,730 \pm 48,998 ppm. Nilai ini mengindikasikan bahwa fraksi tersebut memiliki aktivitas antioksidan dalam kategori sedang (Abriyani *dkk.*, 2023). senyawa dengan nilai IC_{50} antara 101–250 ppm termasuk dalam golongan aktivitas sedang. Selain itu, penyebaran data dianggap rendah jika standar deviasi lebih rendah dari nilai rata-rata, sehingga dapat disimpulkan bahwa penyebaran data tidak terlalu besar dan hasil cukup stabil. Fraksi kloroform daun jarak merah termasuk dalam kategori aktivitas antioksidan sedang karena fraksi tersebut tidak terdiri atas satu senyawa

tunggal, sehingga kemungkinan masih mengandung senyawa lain yang dapat menghambat aktivitas antioksidan. Selain itu, sifat semi-polar pelarut kloroform memengaruhi jenis senyawa yang terekstraksi, sehingga senyawa antioksidan kuat dengan polaritas tinggi mungkin tidak ikut terlarut. Kondisi ini membatasi jumlah senyawa antioksidan dalam fraksi, yang berdampak pada aktivitas antioksidan fraksi kloroform yang relatif rendah.

E. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Vitamin C dipilih sebagai pembanding dalam uji aktivitas antioksidan karena telah terbukti aman dan tidak bersifat toksik bagi tubuh. Dibandingkan jenis vitamin lainnya, vitamin C lebih sering dipilih karena harganya yang lebih ekonomis serta mudah diperoleh (Lung & Destiani, 2017). Untuk keperluan pembanding ini, vitamin C (asam askorbat) diuji pada konsentrasi bertingkat, yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Perlakuan terhadap vitamin C mengikuti prosedur yang sama dengan uji fraksi kloroform daun jarak merah, berdasarkan metode DPPH. Di mana pembacaan absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 517,5 nm. Nilai absorbansinya disajikan pada Tabel 6.

Tabel 6 . Hasil pembacaan absorbansi vitamin C

Konsentrasi (ppm)	A Pengulangan		
	Pengukuran 1	Pengukuran 2	Pengukuran 3
5	0,4226	0,4417	0,4491
4	0,4694	0,4967	0,5145
3	0,5511	0,5855	0,5909
2	0,6002	0,5924	0,6449
1	0,6432	0,6460	0,7295

Berdasarkan data absorbansi pada Tabel 6, dicari persen peredaman vitamin C terhadap DPPH. Persen peredaman menunjukkan kemampuan

vitamin C dalam meredam radikal bebas. Persen peredaman dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil peredaman DPPH oleh vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Peredaman peredaman (%)			Rata-rata persen peredaman (%) ± SD	Persamaan regresi linear
	1	2	3		
5	68,516	66,218	67,458	67,397 ± 1,150	$y = 4,3756x + 45,298$ $r^2 = 0,9888$
4	65,030	62,011	62,720	63,253 ± 1,578	
3	58,943	55,219	57,184	57,115 ± 1,862	
2	55,285	54,692	53,271	54,416 ± 1,035	
1	52,082	50,592	47,141	49,938 ± 2,534	

Tabel 7 menampilkan data persen peredaman oleh vitamin C pada berbagai konsentrasi. Melalui regresi linear, diperoleh bentuk persamaan $y = 4,3756x + 45,298$ dengan nilai r^2 sebesar 0,9888 yang hampir mendekati 1 mengindikasikan adanya korelasi positif yang sangat tinggi antara konsentrasi vitamin C dan daya hambat terhadap radikal bebas persen peredaman radikal bebas DPPH (y). Koefisien korelasi bernilai positif menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi vitamin C sebanding dengan peningkatan daya hambat terhadap radikal bebas. Berdasarkan persamaan tersebut, nilai IC_{50} ditentukan dengan mencari nilai x yang menghasilkan peredaman sebesar 50%. Nilai IC_{50} vitamin C disajikan pada Tabel 8.

Tabel 8. Nilai IC_{50} vitamin C

Nilai IC_{50}			Rata-rata $IC_{50} \pm SD$
1	2	3	
0,659	0,991	1,491	1,043 ± 0,422

Seperti yang ditampilkan pada Tabel 8, dapat diketahui bahwa rata-rata nilai IC_{50} vitamin C adalah $1,043 \pm 0,422$ ppm. Berdasarkan hasil yang diperoleh, vitamin C termasuk dalam golongan senyawa dengan aktivitas

antioksidan sangat kuat. Senyawa yang memiliki nilai $IC_{50} < 50$ ppm masuk dalam kategori sangat kuat.