

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Ekstraksi Daun Jarak Merah**

Proses ekstraksi diawali dengan pengumpulan daun jarak merah yang telah mencapai kematangan ideal, ditandai dengan warna daun hijau tua kemerahan. Daun-daun yang telah dipanen kemudian melalui tahap sortasi basah untuk memisahkan bahan asing seperti ranting atau bagian tanaman lain yang tidak diinginkan. Setelah itu, daun dicuci secara menyeluruh guna menghilangkan tanah, kotoran, dan kontaminan lainnya. Proses pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan, tanpa paparan langsung sinar matahari, untuk mengurangi kadar air dan mencegah terjadinya reaksi enzimatik yang dapat menurunkan kualitas daun (Oktaviani *et al.*, 2021). Setelah daun benar-benar kering, langkah selanjutnya adalah proses penyerbukan, yang bertujuan memperluas permukaan daun kontak dengan pelarut saat ekstraksi menjadi lebih maksimal.

Ekstraksi dilakukan dengan perbandingan serbuk simplisia dan pelarut sebesar 1:10, dan dibagi dalam dua tahap yaitu, maserasi dan remaserasi. Pada tahap maserasi serbuk direndam dengan 1.875 mL etanol 95% atau sebanyak 75% dari total jumlah pelarut. 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 sisa 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 dipekatan menggunakan *Waterbath* pada suhu 55 °C hingga mendapat ekstrak kental. Berat ekstrak kental yang diperoleh adalah 48,75 g dengan rendemen 19,5%.

#### **B. Pembuatan Fraksi Etil asetat ekstrak etanol 95% Daun Jarak Merah**

Proses fraksinasi diawali dengan menimbang 10 g ekstrak kental, yang kemudian dilarutkan dalam 50 mL air panas. Larutan tersebut dimasukan kedalam corong pisah, lalu ditambahkan 50 mL *n*-heksan dan digojok. Larutan didiamkan hingga terbentuk dua fase. Fase yang diambil adalah lapisan *n*-heksan ada bagian atas, karena *n*-heksan memiliki bobot jenis lebih kecil dari air. Proses partisi dengan *n*-heksan dilakukan sebanyak lima kali untuk memperoleh fraksi *n*-heksan secara optimal. Setelah fraksi *n*-heksan dipisahkan, fraksinasi dilanjutkan menggunakan pelarut kloroform. Sebanyak 50 mL kloroform ditambahkan ke dalam corong pisah yang masih mengandung fase air, kemudian campuran digojok kembali. Setelah fase terpisah, ditambahkan etil asetat untuk selanjutnya difraksinasi dengan etil asetat memiliki kepolaran menengah tetapi lebih polar dari kloroform dan masih larut dalam air sehingga ketika difraksinasi membentuk fase etil asetat dengan fraksi polar menengah dan fase air yang masih menyimpan senyawa sangat polar. Proses partisi dengan etil asetat juga dilakukan sebanyak lima kali. Fraksi yang diperoleh diuapkan pada *waterbath* pada suhu 55 °C hingga diperoleh fraksi kental. Hasil evaporasi yang di dapatkan

masih cair dan belum konstan sehingga dipisahkan lagi menggunakan *waterbath* pada suhu yang sama ketika penguapan. Ekstrak kental yang di hasilkan setelah pemekatan yaitu 48,73 g dengan nilai rendemen 19,492%

### C. Hasil Skrining Fitokimia Fraksi Etil Asetat Daun Jarak Merah

Pemeriksaan kandungan metabolit sekunder dilakukan terhadap fraksi etil asetat daun jarak merah guna mengetahui jenis senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalamnya. Analisis ini dilakukan melalui uji skrining fitokimia. Hasil skrining fitokimia fraksi Etil asetat daun jarak merah disajikan pada Tabel 2.

**Tabel 2. Hasil skrining fitokimia fraksi etil asetat daun jarak merah**

Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	+
	Boucharlat	Larutan jingga	+
	Dragendrof	Larutan jingga	+
Flavonoid	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Larutan kuning kecoklatan	+
	NaOH 2 N	Larutan kuning	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub> 1%	Hujau kehitaman	+
	Uji busa	Terbentuk busa stabil	+

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang disajikan pada Tabel 2, fraksi etil asetat daun jarak merah diketahui mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, yaitu alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Kehadiran senyawa-senyawa tersebut, khususnya flavonoid dan tanin, yang dikenal memiliki kemampuan menangkap radikal bebas, mengindikasikan bahwa fraksi etil asetat daun jarak merah berpotensi memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Temuan ini

dapat menjadi dugaan awal dalam mendukung studi lebih lanjut mengenai aktivitas antioksidan dari fraksi tersebut.

Kandungan metabolit sekunder seperti alkaloid dikenal memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Hal ini disebabkan oleh keberadaan atom nitrogen dalam strukturnya yang mengandung elektron bebas, sehingga dapat mendonorkan satu elektron untuk meredam radikal bebas. Selain itu senyawa flavonoid juga berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonorkan elektron dalam bentuk atom hidrogen. Gugus hidroksil (-OH) yang terikat pada cincin aromatik flavonoid dapat menangkap radikal bebas (Oktaviani *et al.*, 2021). Tanin, sebagai senyawa polifenol, juga memiliki gugus hidroksil yang dapat mendonorkan elektron untuk menetralkan radikal bebas. Selain sebagai donor elektron, tanin berfungsi sebagai antioksidan sekunder dengan kemampuan mengkelat logam, seperti ion besi (Fe), yang dapat memicu pembentukan radikal bebas (Oktaviani *et al.*, 2021). Saponin adalah salah satu metabolit sekunder yang dikenal memiliki aktivitas antioksidan. Senyawa ini dapat membantu menetralkan radikal bebas, khususnya radikal superoksida, yaitu salah satu jenis radikal bebas yang sangat reaktif dan berbahaya bagi sel tubuh. Saponin bekerja dengan cara membentuk senyawa antara (intermediat) yang disebut hiperoksida, yang membantu menstabilkan radikal superoksida tersebut (Wahyuddin *et al.*, 2022)

#### **D. Hasil Uji Antioksidan Etil Asetat Daun Jarak Merah**

Uji antioksidan dilakukan menggunakan metode DPPH (*2,2-Diphenyl 12016-Picrylhydrazyl*) dengan bantuan Spektrofotometer UV-Vi tahapan awal pengujian dimulai dengan penentuan panjang gelombang maksimum ( $\lambda$  maks)

dari larutan DPPH. Penentuan ini dilakukan dengan mencampur 1 mL DPPH 200 ppm dengan 4 mL etanol 95% kemudian absorbansinya diukur pada panjang gelombang 510-520 nm.

Hasil pengukuran menunjukkan bahwa  $\lambda$  maks DPPH berada pada 517,5 nm. Panjang gelombang ini selanjutnya digunakan sebagai acuan dalam pengukuran absorbansi sampel. Sampel uji disiapkan dengan membuat larutan baku 1000 ppm, yang digunakan untuk membuat seri konsentrasi 25, 50, 75, 100 dan 125 ppm. Sebanyak 4 mL larutan uji dari masing-masing konsentrasi dipipet ke dalam wadah vial, kemudian ditambahkan 1 mL DPPH 200 ppm. Campuran dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit pada suhu ruang, untuk memaksimalkan interaksi antara senyawa antioksidan dengan radikal bebas DPPH. Salah satu indikasi adanya aktivitas peredaman DPPH adalah perubahan warna ungu DPPH menjadi kekuningan yang menandakan tereduksinya radikal bebas oleh senyawa sampel. Setelah 30 menit, absorbansi larutan diukur menggunakan Spektrofotometer pada panjang gelombang 517,5 nm. Hasil pengukuran absorbansi disajikan pada Tabel 3.

**Tabel 3. Hasil pembacaan absorbansi sampel fraksi etil asetat daun jarak merah**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata $\pm$ SD
	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	
125	0,125	0,137	0,135	0,132 $\pm$ 0,006
100	0,135	0,135	0,146	0,138 $\pm$ 0,006
75	0,145	0,141	0,151	0,146 $\pm$ 0,005
50	0,145	0,156	0,167	0,156 $\pm$ 0,010
25	0,187	0,407	0,441	0,345 $\pm$ 0,137

**Tabel 4. Persen peredaman DPPH fraksi etil asetat**

Konsentrasi (ppm)	Persen Peredaman (%)			Rata-rata persen Peredaman (%) $\pm$ SD	Persamaan regresi linear
	1	2	3		
25	81,845	52,593	50,270	61,569 $\pm$ 17,597	$y = 1,1703x + 3,7257$ $r^2 = 0,7977$
50	85,917	81,837	81,190	82,981 $\pm$ 2,562	
75	85,965	82,569	82,935	84,157 $\pm$ 1,598	
100	86,942	84,302	83,509	84,918 $\pm$ 1,797	
125	87,909	83,965	84,759	85,544 $\pm$ 2,086	

Tabel 4 menyajikan data persentase penghambatan (%) oleh fraksi etil asetat dari daun jarak merah, berdasarkan hasil perhitungan menggunakan persamaan regresi linear  $y = 1,1703x + 3,7257$ . Koefisien korelasi yang bernilai positif mengindikasikan adanya hubungan linier searah antara dua variabel, yang berarti semakin tinggi konsentrasi fraksi yang digunakan, maka semakin besar pula daya hambat terhadap radikal bebas. Tingkat aktivitas antioksidan ditentukan melalui nilai  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration 50*), yang merupakan parameter penting dalam mengukur efektivitas suatu senyawa atau fraksi dalam menetralkan radikal bebas. Semakin rendah nilai  $IC_{50}$ , semakin tinggi pula kemampuan antioksidannya (Abriyani *et al.*, 2023). Nilai x yang diperoleh dari perhitungan merupakan nilai  $IC_{50}$ , yang hasil lengkapnya dalam Tabel 5.

**Tabel 5. Nilai  $IC_{50}$  fraksi etil esetat daun jarak merah**

Nilai $IC_{50}$			Rata-rata $IC_{50} \pm SD$
1	2	3	
0,052	16,149	18,349	11,516 $\pm$ 9,989

Berdasarkan pada Tabel 5, fraksi etil asetat daun jarak merah memiliki rata-rata nilai  $IC_{50}$  sebesar 11,516,  $\pm$  9,989 ppm. Nilai tersebut menunjukkan bahwa fraksi etil asetat daun jarak merah memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong

kuat. Senyawa yang memiliki nilai  $IC_{50}$  101-250 ppm termasuk kategori sedang (Abriyani & Rismawati 2023). Dengan nilai standar deviasi yang lebih kecil dari rata-rata, dapat disimpulkan bahwa variabilitas atau sebaran data cukup rendah, yang menunjukkan bahwa hasil uji memiliki konsistensi dan keandalan yang baik. Oleh karena itu, fraksi etil asetat daun jarak merah berpotensi sebagai sumber senyawa antioksidan alami yang efektif.

#### E. Hasil Uji Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Sebagai pembandingan dalam uji aktivitas antioksidan, dilakukan pengujian terhadap vitamin C (asam askorbat) dengan konsentrasi bertingkat, yaitu 1, 2, 3, 4, dan 5 ppm. Prosedur perlakuan terhadap vitamin C dilakukan dengan metode yang sama seperti pada pengujian fraksi etil asetat daun jarak merah, yaitu menggunakan metode DPPH dengan pembacaan absorbansi pada panjang gelombang 517,5 nm. Nilai absorbansi vitamin C dapat dilihat pada Tabel 6.

**Tabel 6. Hasil pembacaan absorbansi vitamin C**

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi Pengulangan			Rata-rata % Peredaman $\pm$ SD
	1	2	3	
1	0,422	0,441	0,449	0,437 $\pm$ 0,013
2	0,469	0,496	0,514	0,493 $\pm$ 0,022
3	0,551	0,585	0,590	0,575 $\pm$ 0,021
4	0,600	0,592	0,644	0,658 $\pm$ 0,028
5	0,643	0,646	0,729	0,672 $\pm$ 0,049

Berdasarkan data absorbansi pada Tabel 6 dicari % peredaman vitamin C terhadap DPPH. Persen peredaman menunjukkan kemampuan vitamin C dalam meredam radikal bebas. Persen peredaman dan Standar deviasi dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7. Hasil peredaman DPPH oleh vitamin C**

Konsentrasi (ppm)	Peredaman peredaman (%)			Rata-rata % Peredaman ± SD	Persamaan regresi linear
	1	2	3		
1	52,082	50,592	47,141	49,938± 2,534	$y = 4,375x + 45,298$ $r^2 = 0,9888$
2	55,285	54,692	53,271	54,416 ± 1,035	
3	58,943	55,219	57,184	57,115 ± 1,862	
4	65,030	62,011	62,720	63,253 ± 1,578	
5	68,516	66,218	67,458	67,397 ± 1,150	

Ket : (SD) standar deviasi

Hasil dari replikasi 1, 2, 3 di dapatkan dari nilai konsentrasi (ppm) untuk % peredaman diperoleh dari perhitungan menggunakan rumus % peredaman. Standar deviasi adalah ukuran yang menunjukkan seberapa tersebar atau menyimpangnya data dari nilai rata rata. standar deviasi yang lebih kecil menunjukkan data cenderung lebih berkumpul di sekitar rata rata, sedangkan standar deviasi yang lebih besar menunjukkan data lebih tersebar luas.

Berdasarkan perbandingan Standar deviasi terhadap rata-rata, data ini menunjukkan presisi yang baik karena penyebaran hasil relatif kecil. Secara keseluruhan standar deviasi yang di peroleh termasuk baik karena semua % rendemen  $\leq 5\%$  menunjukkan data hasil uji cukup presisi.

Data pada Tabel 7 menunjukkan persen peredaman oleh vitamin C pada berbagai konsentrasi. Berdasarkan hasil analisis regresi linear diperoleh persamaan  $y = 4,3756x + 45,298$ , dengan koefisien korelasi  $r^2 = 0,9888$ . Nilai koefisien korelasi yang mendekati 1 menunjukkan hubungan yang kuat antara konsentrasi sampel sebagai variabel x dan persen peredaman (%) sebagai variabel y. Dengan nilai koefisien korelasi yang bernilai positif menunjukkan semakin tinggi konsentrasi vitamin C semakin tinggi daya hambat terhadap radikal bebas DPPH. Dari nilai tersebut, maka dicari nilai  $IC_{50}$  dengan

menempatkan nilai x yang didapat sebagai nilai IC<sub>50</sub>. Nilai IC<sub>50</sub> vitamin C dapat dilihat pada Tabel 8

**Tabel 8. Nilai IC<sub>50</sub> vitamin C**

Nilai IC <sub>50</sub>			Rata-rata IC <sub>50</sub> ± SD
1	2	3	
0,650	0,990	1,490	1,043 ± 0,422

Vitamin C kerap digunakan sebagai pembanding atau kontrol positif karena merupakan antioksidan yang kuat dan murni. Secara kimia vitamin C (asam askorbat) mampu dengan mudah mendonorkan elektron untuk menetralkan radikal bebas, sehingga memberikan efek yang terukur dan konsisten. Aktivitasnya juga telah banyak dilaporkan dalam berbagai penelitian, sehingga menjadi standar acuan. Berdasarkan data pada Tabel 8, rata-rata nilai IC<sub>50</sub> vitamin C adalah 1,043 ± 0,422 ppm. Nilai ini menunjukkan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang tergolong sangat kuat, mengingat senyawa dengan nilai IC<sub>50</sub> kurang dari 50 ppm dikategorikan sebagai sangat kuat.