

**PENENTUAN KADAR SAPONIN EKSTRAK ETANOL 70%  
DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.) DAN DAYA  
HAMBATNYA TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH**

Oleh

**AGNESELLISA**

**211148201167**

**SKRIPSI**

Untuk memenuhi salah satu syarat ujian  
guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi



**PROGRAM STUDI S-1 FARMASI  
SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA  
2025**

## LEMBAR PENGESAHAN


### PENENTUAN KADAR SAPONIN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.) DAN DAYA HAMBATNYA TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH

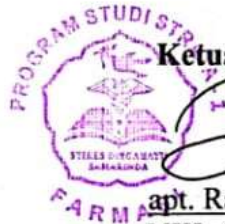
Dipersiapkan dan disusun oleh:

**AGNES ELLISA**  
211148201167

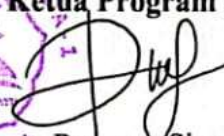
Telah dipertahankan di depan Tim Penguji pada tanggal 14 Juli 2025

#### Pembimbing Utama


  
Nurillahi Febria Leswana, S.Si., M.Sc  
NIK: 0322.A4.28




**Ketua Program Studi S-1 Farmasi**

  
apt. Raymon Simanullang, M.Pharm  
NIK: 0924.A4.18

#### Pembimbing Pendamping

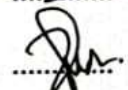
  
Risny Okryan, M.Farm  
NIK: -

Tim Penguji:

Ketua: Maria Elvina Tresia Butar-Butar, M.Farm 

Anggota:

1. apt. Liniati Geografi, M.Sc 

2. Nurillahi Febria Leswana, S.Si., M.Sc 

## **PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI**

Skripsi sarjana yang terdaftar dan tersedia di Perpustakaan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, dan terbuka untuk umum dengan ketentuan bahwa hak cipta ada pada pengarang dengan mengikuti aturan HaKI yang berlaku di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda. Referensi kepustakaan diperkenankan dicatat, tetapi pengutipan atau peringkasan hanya dapat dilakukan seizin pengarang dan harus disertai dengan kebiasaan ilmiah untuk menyebutkan sumbernya.

Memperbanyak atau menerbitkan sebagian atau seluruh isi skripsi haruslah seizin Ketua Prodi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

## **LEMBAR PERNYATAAN**

Dengan ini menyatakan Bahwa:

1. Karya tulis saya, skripsi ini, adalah asli dan belum pernah diajukan untuk mendapatkan gelar sarjana, baik di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda maupun perguruan tinggi lain.
2. Karya tulis ini adalah murni gagasan, rumusan, dan penelitian saya sendiri, tanpa bantuan dari pihak lain, kecuali arahan Tim Pembimbing dan masukan Tim Penelaah/Tim Penguji.
3. Dalam karya tulis ini tidak terdapat karya atau pendapat yang telah ditulis atau dipublikasikan orang lain, kecuali secara tertulis dengan jelas dicantumkan sebagai acuan dalam naskah dengan disebutkan nama pengarang dan dicantumkan dalam daftar pustaka.

Pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya dan apabila dikemudian hari terdapat penyimpangan dan ketidak benaran dalam pernyataan ini, maka saya bersedia menerima sanksi akademik berupa pencabutan gelar yang telah diperoleh karena karya ini, serta sanksi lainnya sesuai dengan norma yang berlaku di perguruan tinggi ini.

Samarinda, 20 Juni 2025  
Yang membuat pernyataan,

(Agnes Ellisa)

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI  
UNTUK KEPENTINGAN AKADEMISI**

Sebagai civitas akademik Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Agnes Ellisa  
NIM : 211148201167  
Program Studi : S-1 Farmasi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui memberikan kepada Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda, Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*) atas skripsi saya yang berjudul: " Penentuan Kadar Saponin Ekstrak Etanol 70% Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dan Daya Hambat Terhadap Radikal Bebas DPPH" beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda berhak menyimpan mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di: Samarinda  
Pada tanggal: 20 Juni 2025  
Yang menyatakan

(Agnes Ellisa)

## **KUTIPAN**

Kutipan atau sunduran baik sebagian ataupun seluruh naskah, harus menyebut nama pengarang dan sumber aslinya, yaitu Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

## LEMBAR PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya dedikasikan kepada Almarhum Papa, dan juga kepada Mama, dan semua keluarga yang senantiasa mendukung dan mendoakan saya, juga kepada kakak serta sahabat dan teman-teman tercinta, terima kasih atas semua semangat, doa, dan dukungan tak terhingganya.

## ABSTRAK

Daun jarak pagar merupakan salah satu tumbuhan di Indonesia yang berpotensi sebagai antioksidan sehingga dapat dimanfaatkan untuk pengobatan penyakit neurodegeneratif dari kerusakan oksidatif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kadar saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun jarak pagar dan daya hambat yang terkandung pada ekstrak daun jarak pagar terhadap radikal bebas dengan menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*). Berdasarkan hasil skrining fitokimia, ekstrak mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, saponin, dan tanin. Hal ini didukung kembali dalam hasil uji Kromatografi Lapis Tipis pada senyawa saponin menggunakan eluen metanol:kloroform:etil asetat (3:5:2), menunjukkan adanya noda yang terpisah dengan baik, menandakan positif mengandung senyawa saponin. Pada penetapan kadar saponin dilakukan dengan metode spektrofotometri UV-Vis dan diperoleh kadar saponin sebesar 14,135%. Berdasarkan hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun jarak pagar memiliki aktivitas yang kuat, dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 89,820  $\mu\text{g/mL}$ , yang mengindikasikan kemampuan dalam menangkal radikal bebas secara efektif. Metode ini memiliki nilai akurasi yang baik dengan hasil perolehan kembali ekstrak etanol sebesar 93,665-95,734%, presisi yang tinggi dengan % RSD sebesar 0,518, batas deteksi (LoD) dan batas kuantifikasi (LoQ) masing-masing sebesar 0,9914 ppm dan 3,3047 ppm. Hasil penelitian ini mengindikasikan bahwa ekstraksi dengan menggunakan etanol 70% efektif meningkatkan kadar saponin dalam ekstrak daun jarak pagar.

**Kata Kunci :** Daun jarak pagar, saponin, antioksidan, DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrihidrazyl*).

## ABSTRACT

*Jatropha curcas* leaves are one of the plants in Indonesia that have the potential as antioxidants so they can be used for the treatment of neurodegenerative diseases from oxidative damage. This study aims to determine the saponin content contained in 70% ethanol extract of *Jatropha curcas* leaves and the inhibitory power contained in *Jatropha curcas* leaf extract against free radicals using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. Based on the results of phytochemical screening, the extract contains secondary metabolite compounds such as alkaloids, saponins, and tannins. This is supported by the results of the Thin Layer Chromatography test on saponin compounds using methanol:chloroform:ethyl acetate (3:5:2) eluent, showing the presence of well-separated spots, indicating positive saponin compounds. The determination of saponin levels was carried out using the UV-Vis spectrophotometry method and obtained a saponin content of 14.135%. Based on the results of the antioxidant activity test, it shows that 70% ethanol extract of *Jatropha curcas* leaves has strong activity, with an IC<sub>50</sub> value of 89.820 µg/mL, which indicates the ability to effectively ward off free radicals. This method has a good accuracy value with ethanol extract recovery results of 93.665-95.734%, high precision with a %RSD of 0.518, limits of detection (LoD) and limits of quantification (LoQ) of 0.9914 ppm and 3.3047 ppm, respectively. The results of this study indicate that extraction using 70% ethanol is effective in increasing saponin levels in *Jatropha curcas* leaf extract.

**Keywords :** *Jatropha* leaves, saponins, antioxidants, DPPH (2,2-diphenyl-1-picrihidrazyl).

## KATA PENGANTAR

*Syallom,*

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala rahmat, berkat dan anugerah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“PENENTUAN KADAR SAPONIN EKSTRAK ETANOL 70% DAUN JARAK PAGAR (*Jatropha curcas* L.) DAN DAYA HAMBATNYA TERHADAP RADIKAL BEBAS DPPH”**.

Penelitian dan penulisan skripsi ini dilakukan untuk memenuhi salah satu syarat untuk mendapatkan gelar sarjana pada jurusan Farmasi di Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda.

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Dosen Pembimbing Ibu Nurillahi Febria Leswana, M. Sc. Dan Ibu Risny Oklyan, M. Farm. Atas bimbingan, nasihat, dukungan, serta pengorbanan yang diberikan. Pada kesempatan ini, tidak lupa penulis mengucapkan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Ibu Ns. Andres Theofrida Bone, S.Kep., MAN. Selaku Ketua Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda yang telah memberikan dukungan dalam penyusunan proposal penelitian ini.
2. Bapak apoteker Raymon Simanullang, M.Farm. Selaku Ketua Program Studi S-1 Farmasi.
3. Ibu Maria Elvina Tresia Butar-Butar, M. Farm Selaku Pembimbing Akademik yang telah banyak memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis.
4. Seluruh staf dosen , staf administrasi serta karyawan Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirghayu Samarinda.
5. Kepada yang tercinta Papa Effendi Daniel, SH., M.Si (Alm) dan Mama Olisda Purba, S.Pd yang dengan setia mendoakan dan mensupport dan memiliki peran terpenting bagi penulis hingga tiba di titik ini.
6. Terimakasih kepada seluruh keluarga besar yang selalu memberikan semangat dan kasih sayang.
7. Kerabat dekat, serta teman-teman seperjuangan yang tidak bisa disebutkan satu persatu yang telah banyak membantu dalam penulisan proposal penelitian ini.

Dalam penyusunan skripsi ini masih banyak kesalahan dan kekurangan karena pengetahuan yang masih sangat terbatas. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati diharapkan masukan berupa kritik dan saran yang bersifat membangun untuk perbaikan di masa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini akan memberikan manfaat bagi penulis sendiri dan juga bagi pihak lain yang berkepentingan.

Samarinda, 20 Juni 2025

Agnes Ellisa

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>COVER .....</b>	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>PEDOMAN PENGGUNAAN DAN PERBANYAKAN SKRIPSI .....</b>	<b>iii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN.....</b>	<b>iv</b>
<b>HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI SKRIPSI .....</b>	<b>v</b>
<b>KUTIPAN.....</b>	<b>vi</b>
<b>LEMBAR PERSEMBAHAN .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRAK.....</b>	<b>viii</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>ix</b>
<b>KATA PENGANTAR .....</b>	<b>x</b>
<b>DAFTAR ISI .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xv</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xvi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Identifikasi Masalah .....	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
1.5 Hipotesis Penelitian.....	4
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>5</b>
2.1 Tanaman Jarak Pagar ( <i>Jatropha Curcas</i> L.) .....	5
2.1.1 Klasifikasi Tanaman.....	5
2.1.2 Karakteristik Tanaman .....	5
2.1.3 Kandungan Fitokimia Tumbuhan Jarak Pagar ( <i>Jatropha curcas</i> L.).....	6

2.1.4 Saponin.....	7
2.1.5 Radikal Bebas .....	10
2.2 Ekstraksi .....	11
2.2.1 Ekstraksi Metode Maserasi .....	12
2.3 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrihidrazyl).....	13
2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) .....	14
2.5 Spektrofotometri UV-VIS .....	14
2.6 Kerangka Teori .....	17
<b>BAB III METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>18</b>
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	18
3.1.1 Tempat Penelitian .....	18
3.1.2 Waktu Penelitian.....	18
3.2 Alat dan Bahan Penelitian .....	18
3.2.1 Alat .....	18
3.2.2 Bahan .....	18
3.3 Metode Penelitian.....	18
3.3.1 Jenis Penelitian.....	18
3.3.2 Definisi Operasional.....	19
3.3.3 Sampel Penelitian.....	19
3.3.4 Variabel Penelitian.....	20
3.4 Metode Pengumpulan Data dan Analisis Data.....	20
3.4.1 Metode Pengumpulan Data.....	20
3.4.2 Analisis Kualitatif.....	21
3.4.2.1 Uji Skrining Fitokimia.....	21
3.4.2.2 Uji Senyawa menggunakan KLT.....	22
3.4.3 Analisis Kuantitatif Saponin Ekstrak Etanol.....	23
3.4.3.1 Penetapan Kadar Saponin Total.....	23
3.4.3.2 Uji Aktivitas Antioksidan.....	24

3.5 Teknik Analisis Data.....	26
3.6 Uji Validasi Metode Analisis .....	26
3.6.1 Ketepatan.....	26
3.6.2 Presisi .....	27
3.6.3 LoD&LoQ .....	27
3.7 Kerangka Penelitian .....	29
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>30</b>
4.1 Determinasi Tanaman .....	30
4.2 Pembuatan Simplisia Daun Jarak Pagar.....	30
4.3 Ekstraksi .....	30
4.4 Skrining Fitokimia.....	31
4.5 Uji Senyawa Menggunakan KLT.....	33
4.6 Analisis Kadar Saponin.....	34
4.7 Uji Aktivitas Antioksidan.....	36
4.7.1 Aktivitas Antioksidan Daun Jarak Pagar.....	38
4.7.2 Aktivitas Antioksidan Vitamin C .....	39
4.7.3 Hubungan Kadar Saponin dan Aktivitas Antioksidan.....	41
4.8 Hasil Validasi Metode.....	43
4.8.1 Ketepatan ( <i>Accuracy</i> ) .....	43
4.8.2 Presisi .....	44
4.8.3 LoD & LoQ .....	44
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....</b>	<b>46</b>
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran.....	46
<b>DAFTAR PUSTAKA.....</b>	<b>47</b>
<b>LAMPIRAN.....</b>	<b>52</b>

## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1.1 Hasil Skrining Fitokimia.....	7
4.1 Hasil Ekstraksi Daun Jarak Pagar ( <i>Jatropha curcas</i> L.) .....	32
4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jarak Pagar ( <i>Jatropha curcas</i> L.).....	32
4.3 Hasil Pengukuran Nilai <i>R<sub>f</sub></i> .....	35
4.4 Hasil Pengukuran Absorbansi Saponin .....	36
4.5 Hasil Penetapan Kadar Saponin Total Ekstrak Daun Jarak Pagar.....	37
4.6 Hasil Pengukuran Absorbansi Vitamin C dan Daun Jarak Pagar.....	38
4.7 Hasil Perhitungan <i>IC</i> <sub>50</sub> Daun Jarak Pagar ( <i>Jatropha curcas</i> L.) .....	39
4.8 Hasil Perhitungan <i>IC</i> <sub>50</sub> Vitamin C.....	41
4.9 Hasil Perhitungan % <i>recovery</i> .....	44
4.10 Hasil Pengukuran % RSD .....	45
4.11 Hasil Analisis LoD & LoQ.....	46

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 Tanaman Jarak Pagar .....	5
2.2 Struktur Senyawa Saponin .....	8
2.3 Struktur Saponin Steroid .....	8
2.4 Struktur Saponin Triterpenoid .....	9
2.5 Reaksi Peredaman Radikal Bebas DPPH dengan Antioksidan.....	13
2.6 Skema Spektroskopi Serapan UV-Vis .....	16
2.7 Kerangka Teori .....	17
3.1 Kerangka Penelitian.....	28
4.1 Plat KLT pada UV 254 nm.....	34
4.2 Grafik Kurva Baku Saponin .....	36
4.3 Grafik % Inhibisi Sampel Daun Jarak Pagar .....	40
4.4 Grafik % inhibisi Vitamin C .....	41

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Negara Indonesia memiliki 35.000 jenis tanaman obat dan baru 9.000 jenis yang dikenali manfaatnya (Arisaputra, 2015). Di wilayah Indonesia banyak tanaman liar yang mempunyai potensi yang cukup baik untuk dimanfaatkan sebagai tanaman obat, salah satunya tanaman jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Penggunaan berbagai jenis tumbuhan di Indonesia sebagai tanaman obat tradisional telah lama dikenal oleh masyarakat jauh sebelum perkembangan obat-obatan sintetik. Penggunaan obat-obatan tradisional kembali meningkat seiring dengan kesadaran masyarakat terhadap dampak yang ditimbulkan dari penggunaan obat-obatan sintetik sehingga masyarakat banyak yang beralih dari mengkonsumsi obat-obatan sintetik ke obat-obatan tradisional (Ridho, 2013).

Salah satu jenis tanaman obat yang ada yaitu jarak pagar yang berkhasiat bagi kesehatan sebagai obat demam, dan rematik (Yulianto dan Sunarmi, 2018). Jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) adalah tanaman yang dikenal kaya akan senyawa saponin, terutama pada bagian daunnya. Tanaman jarak pagar dapat berkhasiat untuk mengobati koreng, fungi, gatal, obat sakit gigi, sariawan, luka dan pendarahan, mengobati batuk dan mengencerkan dahak, perut kembung dan masuk angin, mengobati rematik serta sulit buang air besar (Riani, 2018).

Tanaman jarak pagar mengandung senyawa fitokimia yang signifikan seperti saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin, yang memberikan manfaat medis dan ekonomi. Daun dan bijinya memiliki kandungan saponin yang tinggi, yang dikenal memiliki aktivitas antimikroba dan antioksidan (Makkar *et al.*, 2012). Di samping itu, biji jarak pagar juga mengandung 30-50% minyak, terutama terdiri dari trigliserida yang mengandung asam lemak esensial seperti asam oleat dan linoleat, yang penting dalam pembuatan biodiesel (Kumar *et al.*, 2015).

Saponin adalah senyawa metabolit sekunder yang memiliki berbagai aktivitas biologis, termasuk sebagai antioksidan, antimikroba, dan antiinflamasi. Peran saponin sebagai antioksidan sangat penting dalam menetralkan radikal bebas, yang dikenal sebagai pemicu utama berbagai penyakit degeneratif seperti kanker, penyakit kardiovaskular, dan penuaan dini (Zhang *et al.*, 2017). Senyawa saponin

memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena saponin mampu meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hiperoksida sehingga mampu mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas (Hasan, 2022).

Pemilihan konsentrasi pelarut dalam ekstraksi saponin berdasarkan pada kemampuan pelarut untuk melarutkan dan mengekstraksi senyawa target. Saponin merupakan senyawa yang bersifat polar, jika pelarut yang digunakan terlalu polar, maka senyawa lain yang tidak diinginkan akan ikut terekstraksi. Oleh karena itu, pelarut etanol 70% yang bersifat polar, menjadi pilihan terbaik karena dapat mengekstrak saponin secara efisien, yang akan memaksimalkan jumlah saponin yang diekstrak dari matriks tanaman (Nguyen *et al.*, 2020). Dalam penetapan kadar saponin terhadap radikal bebas, khususnya menggunakan metode DPPH, etanol 70% mampu memberikan hasil yang stabil. Konsentrasi etanol yang lebih tinggi dapat menyebabkan kerusakan pada struktur kimia saponin atau mengekstraksi senyawa lain yang dapat mengganggu aktivitas antioksidan. Etanol 70% cukup kuat untuk melakukan ekstraksi saponin tanpa mengubah atau merusak senyawa aktifnya (Aires *et al.*, 2016). Sehingga dalam penelitian ini digunakan etanol 70% sebagai pelarut. Pada penelitian oleh Yue *et al.*, (2018) saponin yang diekstraksi dengan etanol 70% menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi, yang diukur melalui kemampuan ekstrak dalam menetralkan radikal bebas. Ini menegaskan bahwa etanol 70% bukan hanya pelarut yang efektif untuk ekstraksi saponin, tetapi juga dapat mempertahankan kualitas fungsional dari senyawa yang diekstrak.

Penelitian yang dilakukan dalam 10 tahun terakhir telah menunjukkan bahwa kadar saponin dalam ekstrak tumbuhan memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal bebas. Pada penelitian oleh Wijayanti dkk., (2018) menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun jarak pagar mengandung saponin dengan kadar 3,12% dari total ekstrak. Penelitian ini melaporkan bahwa saponin tersebut memiliki aktivitas antioksidan dengan nilai  $IC_{50}$  sebesar 74,5  $\mu\text{g/mL}$  menggunakan metode DPPH (*2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*) sebagai pengukur aktivitas antioksidan. Semakin tinggi kadar saponin, semakin besar kemampuan ekstrak dalam menetralkan radikal bebas DPPH, yang diukur melalui penurunan nilai  $IC_{50}$ , yakni konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menghambat 50% radikal bebas. Pada penelitian yang dilakukan oleh Junaid *et al.*, (2020) pada ekstraksi senyawa

saponin dari daun kelabat (*Trigonella foenum-graecum* L.) menggunakan pelarut etanol 70% dan 96%. Hasil menunjukkan bahwa ekstrak dengan etanol 70% mengandung saponin yang lebih tinggi, yakni mencapai 18,5%, dibandingkan dengan etanol 96% yang hanya mengandung 12%. Selain itu, nilai IC<sub>50</sub> untuk aktivitas antikanker dari ekstrak yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak dengan etanol 70% memiliki IC<sub>50</sub> yang lebih rendah, yakni 40 µg/mL, dibandingkan dengan etanol 96% yang memiliki IC<sub>50</sub> 65 µg/mL. IC<sub>50</sub> yang lebih rendah menunjukkan aktivitas antikanker yang lebih kuat pada ekstrak etanol 70%. Hasil-hasil ini menunjukkan bahwa etanol 70% lebih efektif dalam mengekstraksi senyawa bioaktif polar seperti saponin dibandingkan etanol 96%, sehingga memberikan aktivitas biologis yang lebih efektif.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian mengenai Penentuan Kadar Saponin Ekstrak Etanol 70% Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dan Daya Hambatnya terhadap Radikal Bebas DPPH. Daun jarak pagar yang mengandung saponin serta memiliki aktivitas antioksidan tinggi dapat dimanfaatkan sebagai bahan pangan fungsional yang baik untuk kesehatan.

## **1.2 Identifikasi Masalah**

Berdasarkan latar belakang diatas, maka identifikasi masalah dalam penelitian ini yaitu sebagai berikut :

1. Berapakah kadar saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.)?
2. Bagaimana daya hambat ekstrak etanol 70% daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap radikal bebas DPPH?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

1. Untuk dapat mengetahui kadar saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.).
2. Untuk dapat mengetahui daya hambat ekstrak etanol 70% daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) terhadap radikal bebas DPPH.

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Bagi Peneliti**

Penelitian ini dapat menambah pengetahuan terkait kandungan senyawa saponin pada tumbuhan daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) yang memiliki efek terhadap radikal bebas atau sebagai antioksidan dan juga dapat menjadi referensi untuk peneliti selanjutnya.

### **1.4.2 Bagi Masyarakat**

Penelitian ini sebagai sumber informasi untuk masyarakat terkait bagian tanaman yang bisa digunakan menjadi bahan obat tradisional yang dapat berkhasiat dalam mengatasi masalah kesehatan.

### **1.4.3 Bagi Institusi**

Penelitian ini dapat memberikan informasi dan kepustakaan yang dapat digunakan sebagai bahan pertimbangan penelitian berikutnya.

## **1.5 Hipotesis Penelitian**

1.  $H_0$  : Daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) memiliki kandungan senyawa saponin dan memiliki daya hambat terhadap radikal bebas dalam kategori kuat.
2.  $H_1$  : Daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) tidak memiliki kandungan senyawa saponin dan tidak memiliki daya hambat terhadap radikal bebas dalam kategori kuat.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha Curcas L.*)

#### 2.1.1 Klasifikasi Tanaman

Menurut Suryono (2013), klasifikasi tanaman jarak pagar adalah sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta  
Sub Divisi : Angiospermae  
Kelas : Dicotyledonae  
Ordo : Euphorbiales  
Famili : Euphorbiaceae  
Genus : *Jatropha L*  
Spesies : *Jatropha curcas L.*



Gambar 2.1 Tanaman Jarak Pagar (*Jatropha curcas L.*) (Suryono, 2013)

#### 2.1.2 Karakteristik Tanaman

Jarak pagar (*Jatropha curcas L.*) adalah tanaman dari famili Euphorbiaceae. Ini adalah tanaman semak atau pohon kecil yang tingginya dapat mencapai 3 hingga 5 meter. Daunnya berbentuk menjari dengan panjang sekitar 6-15 cm, berwarna hijau tua, dan memiliki tepi bergerigi. Buahnya berbentuk oval, berwarna hijau saat muda, dan berubah menjadi kuning atau hitam ketika matang. Bijinya mengandung minyak yang kaya akan trigliserida, terutama asam oleat dan linoleat, menjadikannya sumber minyak yang

penting untuk berbagai aplikasi industri, terutama biodiesel (Kumar dan Sharma, 2015).

Jarak pagar telah mendapatkan perhatian sebagai sumber bahan bakar nabati yang potensial. Minyak biji jarak pagar dapat diolah menjadi biodiesel melalui proses transesterifikasi, yang menghasilkan bahan bakar nabati yang ramah lingkungan. Biodiesel dari jarak pagar memiliki beberapa keunggulan, termasuk stabilitas oksidatif yang baik, rendahnya emisi gas rumah kaca, dan kemampuan untuk digunakan dalam mesin diesel tanpa memerlukan modifikasi besar (Achten *et al.*, 2010). Minyak biji jarak pagar juga diakui sebagai sumber bahan bakar nabati yang dapat diperbarui, yang dapat membantu mengurangi ketergantungan pada bahan bakar fosil (Kumar dan Sharma, 2015).

Bagian-bagian dari tanaman jarak pagar telah lama digunakan dalam pengobatan tradisional. Daun dan getahnya sering digunakan untuk mengobati berbagai penyakit kulit, seperti luka dan infeksi bakteri. Ekstrak dari daun jarak pagar juga memiliki aktivitas antiinflamasi, antimikroba, dan analgesik yang telah terbukti secara ilmiah (Devappa *et al.*, 2011). Selain itu, saponin dari tanaman ini menunjukkan potensi sebagai agen antikanker dalam penelitian terbaru. Oleh karena itu, saponin adalah produk alami yang efektif untuk mengobati dan mencegah berbagai penyakit dengan efek antiinflamasi dan antioksidannya serta melemahkan kanker dengan memberikan efek antiangiogenik dan proapoptotik. (Khan *et al.*, 2022).

### **2.1.3 Kandungan Fitokimia Tumbuhan Jarak Pagar (*Jatropha Curcas* L.)**

Kandungan yang terdapat dalam daun jarak pagar diantaranya adalah saponin, steroid, tanin, glikosida, alkaloid, dan flavonoid. Asam fenolik seperti kaemferol, kumarin, katekin, serta asam kuersetin juga ditemukan dalam ekstrak daun jarak pagar (Nadja *et al.*, 2013).

Saponin dalam daun jarak pagar memiliki potensi besar sebagai agen antioksidan. Penelitian oleh Singh *et al.*, (2020) menunjukkan bahwa ekstrak daun *Jatropha curcas* yang mengandung saponin memiliki aktivitas antioksidan yang signifikan, yang membantu melindungi sel-sel tubuh dari kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas. Aktivitas antioksidan ini membuat saponin dari daun jarak pagar sangat berpotensi dalam pengembangan suplemen kesehatan dan produk kosmetik.

Berdasarkan penelitian sebelumnya dilakukan uji skrining fitokimia pada ekstrak etanol 70%, pada daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.). Hasil senyawa yang terkandung dapat dilihat pada (Tabel 2.1):

Tabel 2.1 Hasil Skrining Fitokimia (Krisdiyanto dan Sa'ad, 2023)

Senyawa	Hasil
Alkaloid	+
Terpenoid	+
Saponin	+
Flavonoid	+
Tanin	+

Keterangan:

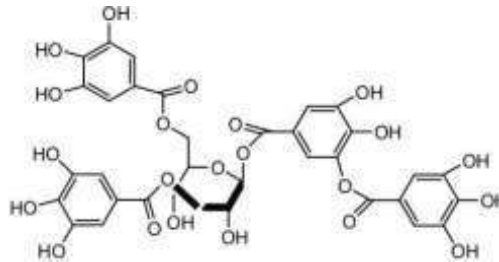
(+) mengandung senyawa metabolit sekunder

(-) tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

#### 2.1.4 Saponin

Saponin adalah deterjen atau glikosida alami yang memiliki sifat aktif pada permukaan yang bersifat amfifilik, memiliki struktur molekul yang terdiri dari aglikon steroid atau triterpen yang disebut sapogenin dan glikon mengandung satu atau lebih rantai gula. Saponin berasal dari kata latin yaitu "sapo" yang artinya mengandung busa stabil bila terlarut dalam air. Saponin adalah glikosida yang terdiri dari glikon dan aglikon. Bagian glikon terdiri dari gugus gula seperti glukosa, fruktosa, dan tipe gula lainnya dan

aglikon adalah bagian dari sapogenin (Darma dan Marpaung, 2020). Struktur senyawa saponin dapat dilihat pada (Gambar 2.2):

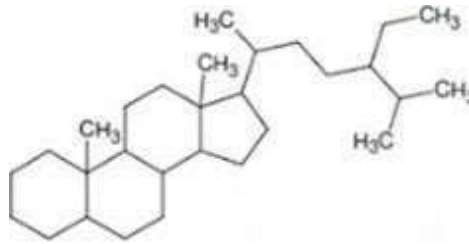


Gambar 2.2 Struktur Senyawa Saponin (Darma dan Marpaung, 2020)

Berdasarkan struktur aglikon (sapogenin) diketahui dari dua macam saponin yang berbeda, yaitu: jenis steroid dan triterpenoid (Kedokteran dan Ilmu, 2017).

#### 1. Saponin tipe steroid

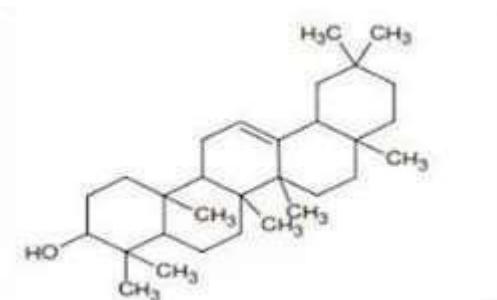
Saponin tipe steroid terdiri dari inti steroid (C-27) dengan Molekul karbohidrat yang dapat terhidrolisis untuk menghasilkan saponin yang digunakan sebagai anti-jamur, dan dapat terkonjugasi dengan Asam glukoronida. Saponin dapat digunakan sebagai bahan baku pada pembuatan biosintesis obat kortikostteroid karena saponin memiliki struktur dengan kesamaan inti senyawa-senyawa dari vitamin D, Glikosida jantung, dan kortison. Peran dari senyawa saponin steroid pada bagian farmakologi yaitu mampu mengobati penyakit rematik, kurang darah, gula darah, syphilis, impotensi, batuk dan antifungi (Yosephine dkk., 2011). Gambar struktur saponin steroid dapat dilihat pada (Gambar 2.3):



Gambar 2.3 Struktur Saponin Steroid (Achmadi, 2002)

## 2. Saponin tipe triterpenoid

Saponin triterpenoid terdiri dari inti triterpenoid bersama molekul karbohidrat. Jenis saponin ini dapat terhidrolisis untuk menghasilkan sapogenin, sapogenin dapat dikristalkan dengan mudah melewati reaksi Asetelisasi sehingga dapat dimurnikan. Saponin triterpenoid kebanyakan memiliki struktur pentasiklik dan sapogenin yang terikat pada rantai gula (dapat berupa glukosa, galaktosa, pentose dan metil pentosa) atau unit asam uronat ataupun keduanya pada posisi C3. Contohnya pada Primula, sapogeninnya berupa D- primulagenin, terikat pada D- asam glukoronat dimana D- asam glukoronat terikat pada L- rhamnose dan D-galaktosa. Saponin triterpenoid dapat digolongkan menjadi tiga golongan, yaitu:  $\alpha$ - amyirin,  $\beta$ -amyirin, dan lupeol. Esterifikasi saponin dapat terjadi pada saat ekstraksi menggunakan alkohol. Esterifikasi terjadi pada aglikon dan menyebabkan perubahan struktur kimia saponin ketika etanol berikatan dengan aglikon, perannya sebagai antibakteri, antijamur, antiinflamasi dan ekspetoran (Kedokteran dan Ilmu, 2017). Gambar struktur saponin triterpenoid dapat dilihat pada (Gambar 2.4):



Gambar 2.4 Struktur Saponin Triterpenoid (Achmadi, 2002)

Senyawa saponin memiliki aktivitas sebagai antioksidan karena saponin mampu meredam superoksida melalui pembentukan intermediet hiperoksida sehingga mampu mencegah kerusakan biomolekuler oleh radikal bebas (Hasan, 2022). Mekanisme kerja saponin dalam penyembuhan luka adalah menstimulasi pembentukan kolagen tipe 1 yang berperan penting dalam proses penutupan luka dan meningkatkan epitelisasi jaringan (Miladiyah, 2012).

### **2.1.5 Radikal Bebas**

Radikal bebas merupakan molekul kimia yang memiliki satu atau lebih elektron tidak berpasangan dan dapat teroksidasi didalam tubuh dengan cara mengikat elektron molekul sel yang berbahaya bagi tubuh (Verrananda dkk., 2016) terdapat dua sumber radikal bebas yaitu endogen dan eksogen. Radikal bebas endogen berasal dari dalam tubuh yang terjadi akibat autooksidasi, oksidasi enzimatik dan respiratory burst. Adapun radikal bebas yang berasal dari luar (eksogen) disebabkan oleh polusi udara, radiasi UV, sinar-X, pestisida, cemaran logam berat pada bahan makanan dan juga asap rokok (Irianti dkk., 2021). Adanya radikal bebas di dalam tubuh yang terbentuk secara berkelanjutan dan tidak terpenuhinya antioksidan endogen dapat menyebabkan kerusakan sel pada *deoxyribonucleic acid* (DNA), protein, lemak dan dapat menyebabkan penyakit degeneratif lainnya (Ali *et al.*, 2020).

Salah satu upaya preventif dalam menangkal radikal bebas adalah penggunaan antioksidan. Antioksidan adalah molekul-molekul yang menghambat, mengurangi, menunda, atau menghilangkan aksi radikal bebas dan oksidan, serta melindungi tubuh dari kerusakan oksidatif. Antioksidan merupakan senyawa pendonor elektron atau reduktan yang memiliki berat molekul kecil tetapi mampu menginaktivasi berkembangnya reaksi oksidasi dengan mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan juga merupakan senyawa yang dapat menghambat reaksi oksidasi

dengan mengikat radikal bebas sehingga kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2007 dalam Latifah, 2015). Fungsi antioksidan dikelompokkan berdasarkan mekanisme kerjanya, terdapat dua fungsi antioksidan (sekunder dan primer atau utama). Antioksidan dengan fungsi sekunder bekerja mengurangi laju autooksidasi dengan pemutusan rantai maupun penstabilan radikal bebas, sedangkan antioksidan dengan fungsi utama (primer) bekerja dengan mendonorkan atom H dengan cepat pada radikal lipida agar menjadi bentuk yang lebih stabil (Barus, 2009). Antioksidan berfungsi mencegah terjadinya berbagai macam penyakit, seperti penyakit kardiovaskular, jantung koroner, kanker serta penuaan dini. (Mbata, 2010 dalam Gunawan, 2020). Menurut Organisasi Kesehatan Dunia, obat herbal merupakan sumber utama kesehatan primer bagi masyarakat di negara berkembang (WHO, 2013). Saat ini masyarakat tertarik dengan penggunaan antioksidan yang bersumber dari bahan alam, dimana antioksidan dari bahan alam dapat diperoleh dari isolasi senyawa aktif dari berbagai tanaman, seperti pada bagian daun, akar, minyak, biji, dan buah (Spinola *et al.*, 2015).

## **2.2 Ekstraksi**

Ekstraksi adalah proses pelepasan senyawa dari simplisia menggunakan pelarut yang sesuai. Ekstraksi bertujuan untuk menarik kandungan kimia pada bahan alam baik dari tumbuhan, hewan, dan organisme laut dengan memakai pelarut tertentu. Metode ekstraksi didasarkan pada kemampuan pelarut untuk menyerap senyawa terlarut keluar dari dalam sel karena terdapat perbedaan antara tekanan didalam dengan di luar sel. Cara ini berlanjut hingga bahan aktif di dalam dan di luar sel seimbang (Asdar, 2022).

Ekstraksi dapat dikatakan sempurna karena dipengaruhi oleh pemilihan metode dan pelarut yang tepat. Efektivitas ekstraksi suatu metabolit sekunder sangat dipengaruhi oleh kelarutannya dalam suatu pelarut. Hal ini sama dengan prinsip *like dissolve like* yaitu suatu senyawa akan terlarut pada pelarut yang memiliki sifat kepolaran yang sama (Verdiana dkk., 2018).

### 2.2.1 Ekstraksi Metode Maserasi

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Metode maserasi merupakan metode ekstraksi yang sederhana untuk dilakukan. Maserasi dilakukan dengan cara merendam sampel dengan pelarut organik. Pelarut organik akan menembus dinding sel kemudian akan menembus masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan terlarut. Karena adanya perbedaan konsentrasi Antara larutan zat aktif di dalam sel, maka larutan yang terpekat akan dipaksa keluar. Keuntungan menggunakan metode ini adalah metode dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan (Cheong dkk., 2005 dalam Moito, 2018).

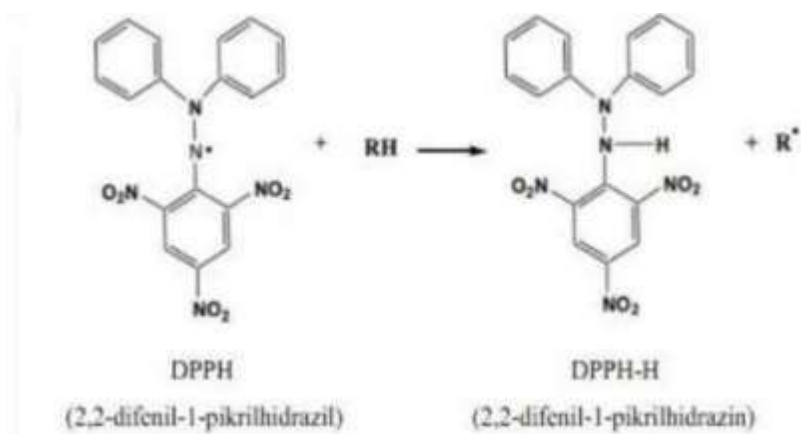
Maserasi merupakan metode ekstraksi dengan cara merendam bahan dengan pelarut yang sesuai pada senyawa aktif yang akan diambil dengan pemanasan rendah atau tanpa adanya proses pemanasan. Faktor- faktor yang mempengaruhi ekstraksi diantaranya waktu, suhu, jenis pelarut, perbandingan bahan dan pelarut, dan ukuran partikel. Ekstraksi dengan metode maserasi ini memiliki keuntungan yaitu zat aktif yang diekstrak tidak akan rusak. Pada saat proses perendaman bahan mengalami pemecahan karena perbedaan tekanan antara dinding sel dan membran sel, sehingga metabolit sekunder yang berada di dalam sitoplasma akan pecah dan larut dalam pelarut organik yang digunakan (Chairunnisa *et al.*, 2019).

Metode ekstraksi maserasi digunakan karena sifat saponin yang tidak tahan terhadap panas. Saponin merupakan senyawa yang sensitif terhadap suhu tinggi dan dapat terdegradasi jika diekstraksi pada suhu yang tinggi. Oleh karena itu, maserasi yang dilakukan pada suhu kamar menjadi pilihan yang tepat untuk mempertahankan stabilitas saponin (Khattak dan Ahmad, 2018). Maserasi dengan menggunakan pelarut polar seperti etanol, efektif dalam melarutkan saponin tanpa memerlukan proses pemanasan yang dapat merusak

senyawa, tidak hanya mencegah kerusakan senyawa akibat panas tetapi juga dapat melarutkan saponin secara optimal (Verma *et al.*, 2022).

### 2.3 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

DPPH merupakan radikal bebas yang mampu menerima donor elektron (radikal hidrogen) dari senyawa lain yang akan membentuk senyawa yang lebih stabil dan stabil dalam larutan berair (Musdalifah, 2016 dalam Ardila, 2020). Metode DPPH umumnya dipergunakan untuk menguji aktivitas antioksidan, larutan DPPH akan bereaksi dengan senyawa antioksidan yang akan berubah menjadi *diphenilpicrylhydrazine* yang bersifat non-radikal. Peningkatan jumlah kadar *diphenilpicrylhydrazine* ditunjukkan dengan adanya perubahan warna pada larutan yang berwarna ungu menjadi berwarna kuning pucat (Alam dkk., 2013 dalam Ardila, 2020).



Gambar 2.5 Reaksi Peredaman Radikal Bebas DPPH dengan Antioksidan (Molyneux, 2004 dalam Nugroho, 2021)

Prinsip kerja DPPH dengan interaksi antara DPPH dan antioksidan (secara radikal hidrogen atau transfer elektron pada DPPH yang akan menstabilkan radikal bebas). DPPH dan elektron radikal bebas yang berpasangan akan membentuk larutan berwarna kuning terang dari ungu tua. Transfer proton akan menghasilkan DPPH menjadi senyawa non-radikal. Jika elektron tidak berdamai pada radikal DPPH maka radikal DPPH akan berdamai dengan atom hidrogen dan membentuk DPPH-H tereduksi. Absorbansi antioksidan dapat diukur dengan spektrofotometer UV-VIS menggunakan panjang gelombang 517 nm. Absorbansi

di ukur setelah proses inkubasi selama 30 menit, hal ini bertujuan agar larutan dapat bereaksi dengan sempurna (Musdalifah, 2016 dalam Ardila, 2020).

Hasil metode DPPH diperlihatkan dalam parameter  $EC_{50}$  (*Efficient Concentration*) atau  $IC_{50}$  (*Inhibition Concentration*).  $IC_{50}$  merupakan Konsentrasi yang dapat menyebabkan larutan atau sampel tereduksi aktivitas DPPH sebesar 50%. Apabila persentase  $EC_{50}$  atau  $IC_{50}$  lebih besar maka aktivitas antioksidan semakin rendah atau lemah, begitu pula sebaliknya (Alam dkk., 2013 dalam Ardila, 2020).

#### **2.4 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan kromatografi kolom pada prinsipnya sama. Apabila suatu cuplikan yang merupakan campuran dari beberapa komponen yang diserap lemah oleh adsorben akan keluar lebih cepat bersama eluen, sedangkan komponen yang diserap kuat akan keluar lebih lama. KLT merupakan suatu teknik pemisahan dengan menggunakan adsorben (fase stasioner) berupa lapisan tipis seragam yang disalutkan pada permukaan bidang datar berupa lempeng kaca, pelat aluminium, atau pelat plastik. Pengembangan kromatografi terjadi ketika fase gerak tertapis melewati adsorben (Mukhriani, 2014).

Fase diam yang digunakan dalam KLT adalah bahan penyerap. Penyerap yang umum adalah silika gel, aluminium oksida, selulosa, kiselgur, selulosa dan turunannya. Dua sifat yang penting dari penyerap adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada hal tersebut. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya (Nurdia, 2017).

#### **2.5 Spektrofotometri UV-VIS**

Spektrofotometri UV-Vis merupakan suatu metode instrumen yang umumnya diaplikasikan dalam menganalisis senyawa kimia yang bertujuan mendeteksi senyawa berdasarkan adanya absorbansi foton pada daerah UV-Vis dengan panjang gelombang antara 200-700 nm (Irawan dkk., 2019 dalam Khairunnisa, 2021). Prinsip kerja metode spektrofotometri UV-Vis dengan suatu cahaya yang bersifat monokromatik yang akan melewati suatu media berupa larutan

yang nantinya terjadi penyerapan pada sebagian cahaya, kemudian sebagian cahaya ada yang dipantulkan lalu sebagian lainnya akan dipancarkan (Fatimah, 2016 dalam Khairunnisa, 2021).

Teori hukum Lambert-Beer, yang merupakan kombinasi dari Hukum Lambert dan Hukum Beer adalah prinsip dasar dalam spektroskopi yang menjelaskan interaksi antara cahaya dan zat terlarut dalam larutan. Hukum Lambert menyatakan bahwa intensitas cahaya yang ditransmisikan berkurang sebanding dengan panjang jalan yang dilalui cahaya dan konsentrasi zat yang menyerap cahaya. Hukum Beer menekankan bahwa absorbansi (A) suatu larutan berbanding lurus dengan konsentrasi dan panjang jalan cahaya yang dilalui, yang dirumuskan dengan persamaan (2.1):

$$A = \epsilon bc \quad (2.1)$$

Keterangan:

A = Absorbansi

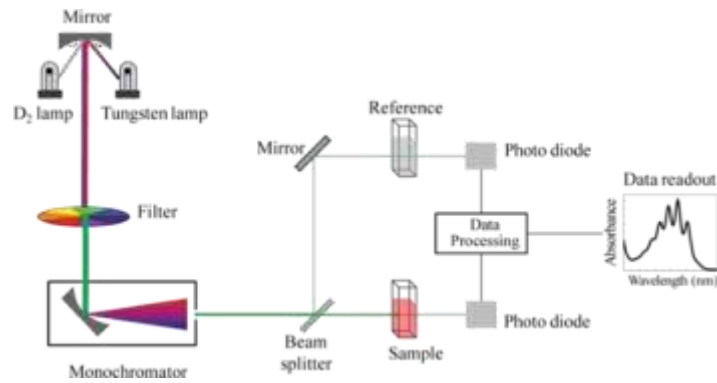
$\epsilon$  = Koefisien absorptivitas molar

b = Tebal kuvet (cm)

c = Konsentrasi larutan

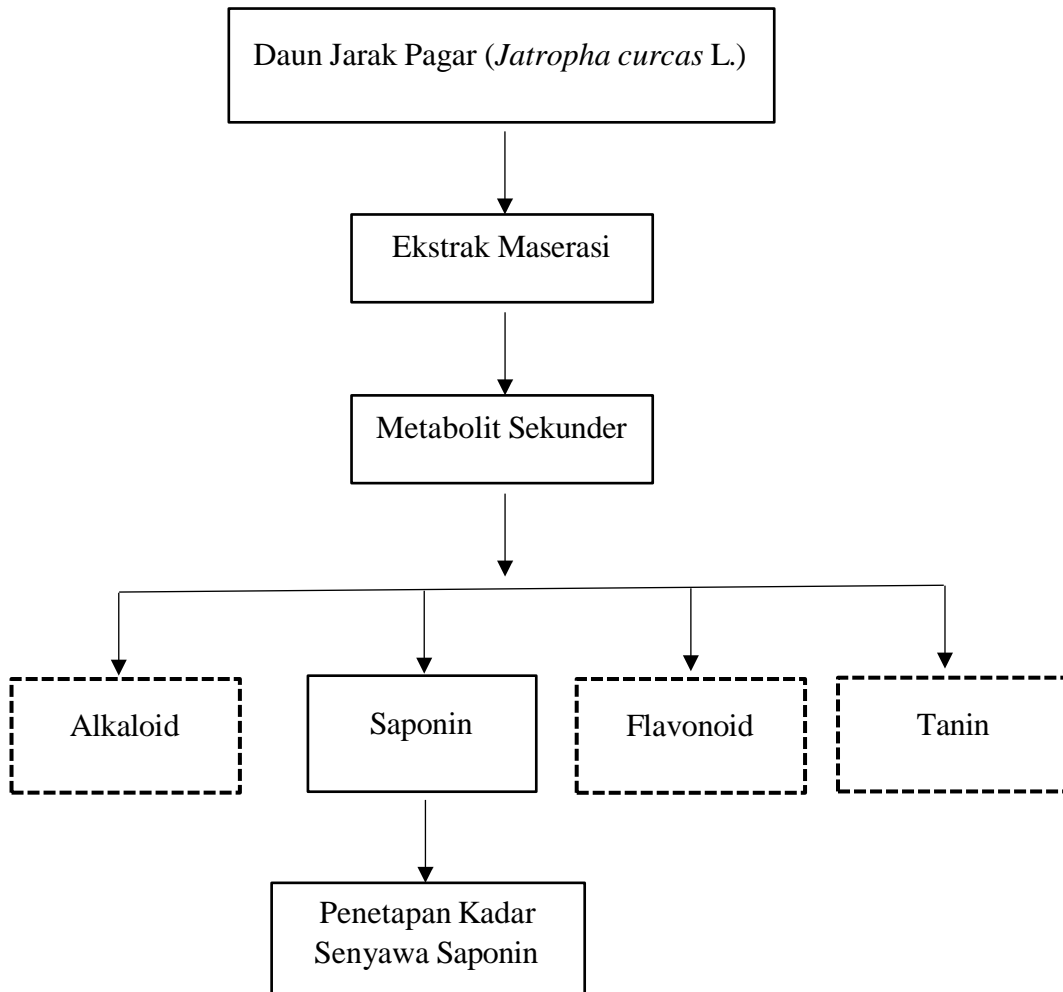
Gabungan dari kedua hukum ini menghasilkan hubungan yang kuat antara konsentrasi zat terlarut dan nilai absorbansi yang terukur, sehingga memungkinkan analisis kuantitatif zat dalam larutan. Teori ini banyak diterapkan dalam berbagai bidang, termasuk analisis lingkungan untuk mendeteksi kontaminan, analisis farmasi untuk pengujian kualitas obat, dan dalam bidang biokimia untuk studi metabolit dan enzim. Penelitian terbaru terus menunjukkan relevansi hukum Lambert-Beer dalam metode analisis modern dan aplikasinya dalam deteksi senyawa berbahaya serta pengembangan teknologi baru dalam spektroskopi (Kumar *et al.*, 2020 dalam Bansal dan Choudhary, 2019 dalam Oladipo *et al.*, 2017). Prinsip dasar pengukuran spektrofotometri UV-Vis melibatkan pemancaran cahaya dari sumber cahaya yang kemudian dipilih oleh monokromator untuk mendapatkan panjang gelombang spesifik. Cahaya tersebut diteruskan melalui kuvet yang berisi sampel, di mana sebagian cahaya diserap oleh senyawa dalam sampel dan sisanya diteruskan ke detektor.

Detektor kemudian mengukur intensitas cahaya yang diteruskan, dan absorbansi dihitung berdasarkan perbedaan intensitas cahaya yang masuk dan keluar. Berdasarkan Hukum Lambert-Beer, absorbansi berbanding lurus dengan konsentrasi zat dalam sampel, panjang lintasan cahaya, dan koefisien absorbansi molar (Sharma, K., dan Sharma, R., 2018 dalam Dutta, P., *et al.*, 2020). Skema pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis dapat dilihat pada (Gambar 2.6):




Gambar 2.6 Skema Spektroskopi Serapan UV-Vis (Soni dkk., 2021)


## 2.6 Kerangka Teori



Gambar 2.7 Kerangka Teori

**Keterangan :**

Diteliti : 

Tidak diteliti : 

## **BAB III**

### **METODOLOGI PENELITIAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **3.1.1 Tempat Penelitian**

Pengujian analisis senyawa saponin pada ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Stikes Dirgahayu Samarinda.

##### **3.1.2 Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan selama 3 bulan dimulai dari bulan April 2025 sampai bulan Juni 2025.

#### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan analitik (Prseries Ohaus), spektrofotometer UV-VIS (Labstac) (Merck), cuvette (Quartz), oven, seperangkat alat kaca (Pyrex), rak tabung, pipet tetes, pipet ukur, batang pengaduk, toples maserasi, blender, plat KLT (Merck), *waterbath*, *hotplate* (Scilogex HP380-Pro), gunting, spatula, cawan porselin, dan ayakan 40 mesh.

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) yang telah dikeringkan, aquadest, ekstrak daun jarak pagar, Etanol 70% (MERCK), DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), HCl 2 N, reagen Dragendrof, reagen Vanilin-Asam Sulfat 72%, kloroform, metanol, FeCl<sub>3</sub> 10%, kertas saring, dan aluminium foil.

#### **3.3 Metode Penelitian**

##### **3.3.1 Jenis Penelitian**

Penelitian ini bersifat Eksperimental Laboratorium dimana objek penelitiannya adalah ekstrak daun jarak pagar yang diperoleh dengan metode ekstraksi maserasi, kemudian dilakukan analisis

kuantitatif untuk memperoleh data dari penelitian ini berupa angka, seperti kadar saponin (mg/g) dan persentase inhibisi radikal DPPH (%).

### **3.3.2 Definisi Operasional**

- 1) Tanaman jarak pagar yang dipakai pada penelitian ini adalah bagian daun jarak pagar. Kemudian dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia.
- 2) Ekstrak daun jarak pagar diperoleh dari hasil ekstrak yang dibuat dengan mengekstrak bahan aktif dari simplisia kering menggunakan pelarut etanol 70% dengan metode maserasi, kemudian pelarutnya diuapkan dan didapatkan ekstrak kental.
- 3) Saponin adalah salah satu senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun tanaman jarak pagar yang akan diteliti kadar totalnya dan aktivitasnya dalam menghambat radikal bebas.
- 4) Penetapan kadar merupakan konsentrasi analit dari daun tumbuhan jarak pagar yang diukur menggunakan Spektrofotometri UV-Vis, dan nilai absorbansi dihitung dengan rumus persamaan linear ( $y = bx+a$ ). Untuk mengetahui kadar total saponin.
- 5) Daya hambat terhadap radikal bebas DPPH ini mengukur kemampuan ekstrak dalam menetralkan radikal bebas DPPH. Aktivitas antioksidan dievaluasi berdasarkan persentase inhibisi radikal DPPH dan nilai  $IC_{50}$ , yaitu konsentrasi ekstrak yang diperlukan untuk menghambat 50% radikal DPPH.

### **3.3.3 Sampel Penelitian**

Sampel yang dimanfaatkan pada penelitian ini yaitu daun jarak pagar sebanyak 1 kg berwarna hijau, segar, tidak berlubang dan diambil dengan metode random sampling, yaitu pengambilan sampel yang homogen mempunyai karakteristik dengan posisinya yang terletak di bagian tengah sampai pangkal percabangan. Sampel daun jarak pagar diperoleh dari daerah Lempake, Kota Samarinda, Provinsi Kalimantan Timur.

### 3.3.4 Variabel Penelitian

- 1) Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak etanol daun jarak pagar.
- 2) Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hasil kadar saponin dalam ekstrak daun jarak pagar, persentase inhibisi radikal bebas DPPH.
- 3) Variabel Terkendali dalam penelitian ini adalah metode ekstraksi, suhu, waktu, rasio bahan-pelarut, penyimpanan ekstrak, dan kondisi pengujian DPPH (konsentrasi larutan DPPH, waktu inkubasi, dan panjang gelombang pengukuran).

## 3.4 Metode Pengumpulan Data dan Analisis Data

### 3.4.1 Metode Pengumpulan Data

#### 1. Determinasi Identifikasi Tumbuhan

Daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dilakukan determinasi di Laboratorium Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda. Hasil dari determinasi akan menyatakan bahwa spesies *Jatropha curcas* atau bukan.

#### 2. Pembuatan Simplisia Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)

Daun jarak pagar yang telah dikumpulkan, dicuci menggunakan air mengalir untuk membersihkan kotoran, dan kemudian ditiriskan. Lalu dikeringkan selama 5 hari dengan cara di angin-anginkan pada suhu ruang. Setelah itu, sampel yang telah kering dihaluskan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 40 mesh hingga didapatkan serbuk halus.

#### 3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)

Serbuk halus daun jarak pagar yang telah ditimbang sebanyak 150 gram, dimasukkan ke dalam bejana maserasi, kemudian ditambahkan 1.500 mL pelarut etanol 70% sampai simplisia terendam. Selanjutnya bejana maserasi yang berisi larutan ditutup menggunakan aluminium foil. Lalu dimaserasi

selama 3×24 jam ditempat gelap sambil diaduk sesekali agar larutan homogen. Kemudian larutan ekstrak hasil maserasi disaring untuk memisahkan filtrat dan residu menggunakan kain saring. Residu hasil penyaringan dilakukan remaserasi dengan etanol selama 3×24 jam. Filtrat hasil maserasi dan remaserasi disatukan menjadi satu untuk selanjutnya dipekatan menggunakan *waterbath* pada suhu 70-80°C hingga pelarut menguap dan ekstrak menjadi lebih kental (Nengsih dkk., 2022). Kemudian dilakukan perhitungan rendemen dengan rumus :

$$\% \text{ rendamen} = \frac{\text{berat ekstrak kental (g)}}{\text{berat serbuk simplisia kering (g)}} \times 100 \quad (3.1)$$

### 3.4.2 Analisis Kualitatif

#### 3.4.2.1 Uji Skrining Fitokimia

##### 1. Uji Flavonoid

Diambil sebanyak 4 mL ekstrak panaskan dalam waktu 5 menit dan disaring. Kemudian tambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat ditambahkan ke dalam filtrat, dikocok kuat-kuat. Uji positif dapat dilihat dengan terjadinya warna merah, jingga atau kuning (Erna dan Era, 2019).

##### 2. Uji Alkaloid

Masukkan ekstrak pekat sebanyak 2 mL ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan 3-5 tetes prekasi dragendrof, hasil positif terdapat alkaloid jika adanya endapan jingga atau coklat (Wahid dan Safwan, 2020).

##### 3. Uji Saponin

Analisis saponin dikerjakan dengan cara mengambil 4 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi setelah itu tambahkan 10 mL aquades yang sudah dipanaskan kemudian

dinginkan, selanjutnya dikocok kuat-kuat kurang lebih 10 detik. Data menunjukkan hasil positif terdapat saponin apabila terjadinya buih yang konstan setinggi 1-10 cm selama 10 menit dan busa tidak hilang setelah penambahan 2 tetes HCl 2 N, buih tidak hilang (Wahid dan Safwan, 2020).

#### **4. Uji Tanin**

Untuk mendeteksi tanin, 4 mL ekstrak diambil, ditambahkan 3-5 tetes larutan FeCl<sub>3</sub> 10%. Jika warnanya biru kehitaman atau coklat kehijauan menandakan adanya tanin (Wahid dan Safwan, 2020).

#### **3.4.2.2 Uji Senyawa Saponin menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)**

Pada plat KLT diberi tanda batas atas dan batas bawah. Pada batas bawah diberikan jarak antar sampel 1 cm dan pada jarak atas 0,5 cm. Sampel ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dan saponin murni ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Proses elusi dilakukan dengan cara plat KLT dimasukkan ke dalam chamber yang telah berisi eluen metanol:kloroform:etil asetat (3:5:2) dan telah dijenuhkan. Eluen dibiarkan terelusi hingga mencapai batas plat yang telah ditandai sebelumnya. Setelah selesai, plat KLT dikeluarkan dari chamber dan diamati dibawah lampu pada UV 366 dan 254 nm. Setelah itu, plat KLT disemprotkan dengan larutan DPPH 0,5 Mm (Ghasal dan Mandal, 2012). Bercak pada plat KLT yang positif saponin akan berubah menjadi warna putih kekuningan dengan latar belakang warna ungu setelah penyemprotan (Kuntorini dan Astuti, 2010). Untuk

pengamatan nilai RF pada senyawa saponin ekstrak etanol 70% daun jarak pagar dapat dihitung dengan rumus berikut:

$$Rf = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \quad (3.2)$$

### 3.4.3 Analisis Kuantitatif Saponin Ekstrak Etanol

#### 3.4.3.1 Penetapan Kadar Saponin Total

##### 1. Penetapan Panjang Gelombang Maksimum

Salah satu konsentrasi larutan standar diambil dan diukur serapannya pada panjang gelombang antara 200-700 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan data serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum (Arif dkk., 2008).

##### 2. Preparasi Reagen Vanilin-Asam Sulfat 72%

Timbang 0,4 g Vanilin, masukkan ke dalam gelas ukur 100 ml, dilarutkan dalam 5 ml etanol pa ditambahkan 0,4 mL asam sulfat 72% yang diencerkan dengan 0,13 mL aquades. Kemudian reagen vanilin–asam sulfat 72% di aduk selama 1 jam.

##### 3. Pembuatan Larutan Sampel

Ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) ditimbang 25 mg, dilarutkan dengan pelarut etanol pa sebanyak 5 mL dari larutan tersebut diambil 0,25 ml ekstrak tambahkan 2,75 mL reagen Vanilin - Asam Sulfat Pekat. Kemudian panaskan pada suhu  $\pm 60^{\circ}\text{C}$  selama 10 menit, setelah itu diamkan selama 1 jam. Absorbansi dibaca pada panjang gelombang maksimum (Supendi dkk., 2022).

### **3.4.3.2 Uji Aktivitas Antioksidan**

#### **1. Penyiapan Larutan DPPH 0,5 mM**

Larutan pereaksi adalah larutan DPPH 0,5 mM dalam pelarut etanol p.a 96%. Larutan ini dibuat dengan cara menimbang 10 mg serbuk DPPH, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, lalu ditambahkan etanol 96%, kemudian di kocok untuk melarutkan serbuk DPPH hingga homogen dan tambahkan etanol 96% sampai tanda batas (Yuliani dkk., 2016).

#### **2. Penyiapan Larutan Uji**

Larutan uji dibuat dengan konsentrasi 1000 ppm sebagai larutan induk. Penyiapan larutan uji dilakukan dengan menimbang ekstrak etanol daun jarak pagar sebanyak 100 mg, dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditambah etanol 96% sebagian lalu dikocok hingga homogen, kemudian ditambahkan etanol 96% hingga tanda batas. Setelah itu, dibuatkan menjadi larutan uji 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm (Yuliani dkk., 2016).

#### **3. Penyiapan Kontrol Positif Vitamin C**

Ditimbang 5 mg vitamin C dilarutkan dengan etanol 96% dalam labu ukur 50 mL kemudian ditambahkan dengan etanol 96% sampai tanda batas. Dilakukan pengenceran menjadi 5 seri konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm dan 10 ppm (Yuliani dkk., 2016).

#### **4. Penentuan *Operating Time***

Larutan uji dari ekstrak etanol daun jarak pagar dibuat beberapa konsentrasi. Konsentrasi ekstrak uji yang dibuat adalah 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Ekstrak uji

diambil konsentrasi terendah yaitu 20 ppm, dilakukan *operating time* dengan cara 4 mL ekstrak uji di tambah 1 mL larutan 0,5 mM DPPH. Larutan uji diukur pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 pada panjang gelombang maksimum (Yuliani dkk., 2016).

#### **5. Penentuan *Operating Time***

Larutan uji dari ekstrak etanol daun jarak pagar dibuat beberapa konsentrasi. Konsentrasi ekstrak uji yang dibuat adalah 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm dan 100 ppm. Ekstrak uji diambil konsentrasi terendah yaitu 20 ppm, dilakukan *operating time* dengan cara 4 mL ekstrak uji di tambah 1 mL larutan 0,5 mM DPPH. Larutan uji diukur pada menit ke 0, 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 pada panjang gelombang maksimum (Yuliani dkk., 2016).

#### **6. Pengukuran Absorbansi Peredaman**

Radikal DPPH Blanko, larutan uji, dan kontrol positif yang telah dibuat dalam beberapa konsentrasi, masing-masing diambil sebanyak 4 mL, ditambahkan 1 mL larutan pereaksi DPPH 0,5 mM, dimasukkan dalam tabung lalu di kocok. Larutan didiamkan 30 menit kemudian dibaca serapannya pada panjang gelombang maksimum. Blanko yang digunakan adalah etanol 96% dan kontrol positif yang digunakan adalah vitamin C (Yuliani dkk., 2016).

#### **7. Perhitungan Potensi Antioksidan**

Absorbansi yang diperoleh dibandingkan dengan absorbansi DPPH sehingga diperoleh % aktivitas antioksidannya dengan menggunakan rumus pada:

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi blanko} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

Kemudian hasil akhir menentukan *IC50%* (*Inhibition Concentration 50%*) dengan persamaan regresi linier  $y = bx + a$  dimana  $x$  merupakan konsentrasi (ppm) dan  $y$  merupakan persentase inhibisi (%) (Lutfiyanie, 2015).

### 3.5 Teknik Analisis Data

Kadar total saponin dapat dihitung berdasarkan persamaan regresi linear dengan kurva kalibrasi dari data yang diperoleh menggunakan alat spektrofotometer. Data absorbansi yang diperoleh dari penetapan kadar dimasukkan kedalam persamaan regresi linear dengan  $y =$  nilai absorbansi,  $x =$  kadar dalam ppm (mg/L). Penentuan Kadar saponin dapat dihitung dengan rumus persamaan regresi linear (3.3):

$$y = bx + a \quad (3.3)$$

Keterangan:  $y =$  Nilai Absorbansi

$x =$  Kadar Saponin

$a =$  Intercept (Perpotongan garis)

$b =$  Slope (Kemiringan)

### 3.6 Uji Validasi Metode Analisis

#### 3.6.1 Ketepatan (*Accuracy*)

Sampel ekstrak daun jarak pagar ditambahkan asam galat baku sebanyak 30, 40 dan 50 ppm dari rerata kadar asam galat yang terdapat pada sampel, dianalisis dengan prosedur yang sama seperti pada sampel. Hasil dinyatakan dalam persen perolehan kembali (*% recovery*). Dihitung *% recovery*. Rumus untuk akurasi ketepatan ditunjukkan pada persamaan (3.4):

$$\text{Recovery} = \frac{A1 - A2}{B} \times 100\% \quad (3.4)$$

Keterangan:

$A_1$  = Kadar analit sebelum penambahan Asam galat baku

$A_2$  = Kadar analit yang diperoleh setelah penambahan Asam galat baku

B = Kadar Asam galat baku yang ditambahkan

### 3.6.2 Presisi

Larutan baku asam galat 1000 ppm dibuat dalam konsentrasi 20 ppm, selanjutnya larutan baku asam galat dengan konsentrasi 20 ppm tersebut didiamkan selama waktu *operating time*, dibaca absorbansinya pada panjang gelombang 750 nm. Uji ketelitian ini dilakukan sebanyak 5 kali pengulangan.

Uji presisi ditentukan dengan parameter *RSD* (*Relatif Standard Deviasi*) berdasarkan rumus pada persamaan (3.5):

$$RSD = \frac{SD}{X} \times 100\% \quad (3.5)$$

Keterangan:

RSD = Standar deviasi relatif/Koefisien variasi (CV)

SD = Simpangan baku/standar defiasi

X = Kadar rerata

### 3.6.3 LoD & LoQ

Batas deteksi dan batas kuantifikasi dapat dihitung secara statistik melalui regresi linier dari kurva kalibrasi dengan membuat larutan baku kerja dengan konsentrasi 20, 30, 40, 50 dan 60 ppm lalu dipipet masing-masing 0,3 ml dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 1,5 ml larutan vanilin dalam etanol p.a dan digojog. Didiamkan selama 3 menit kemudian, setelah itu diinkubasi selama 30 menit, absorbansi dari larutan pembanding diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 750 nm. Setelah diukur absorbansinya kemudian dihitung nilai *Limit Of Detection* dan *Limit Of Quantitation* (Arikalang *et al.*, 2018).

Rumus LoD pada persamaan 3.6 dan LoQ pada persamaan 3.7

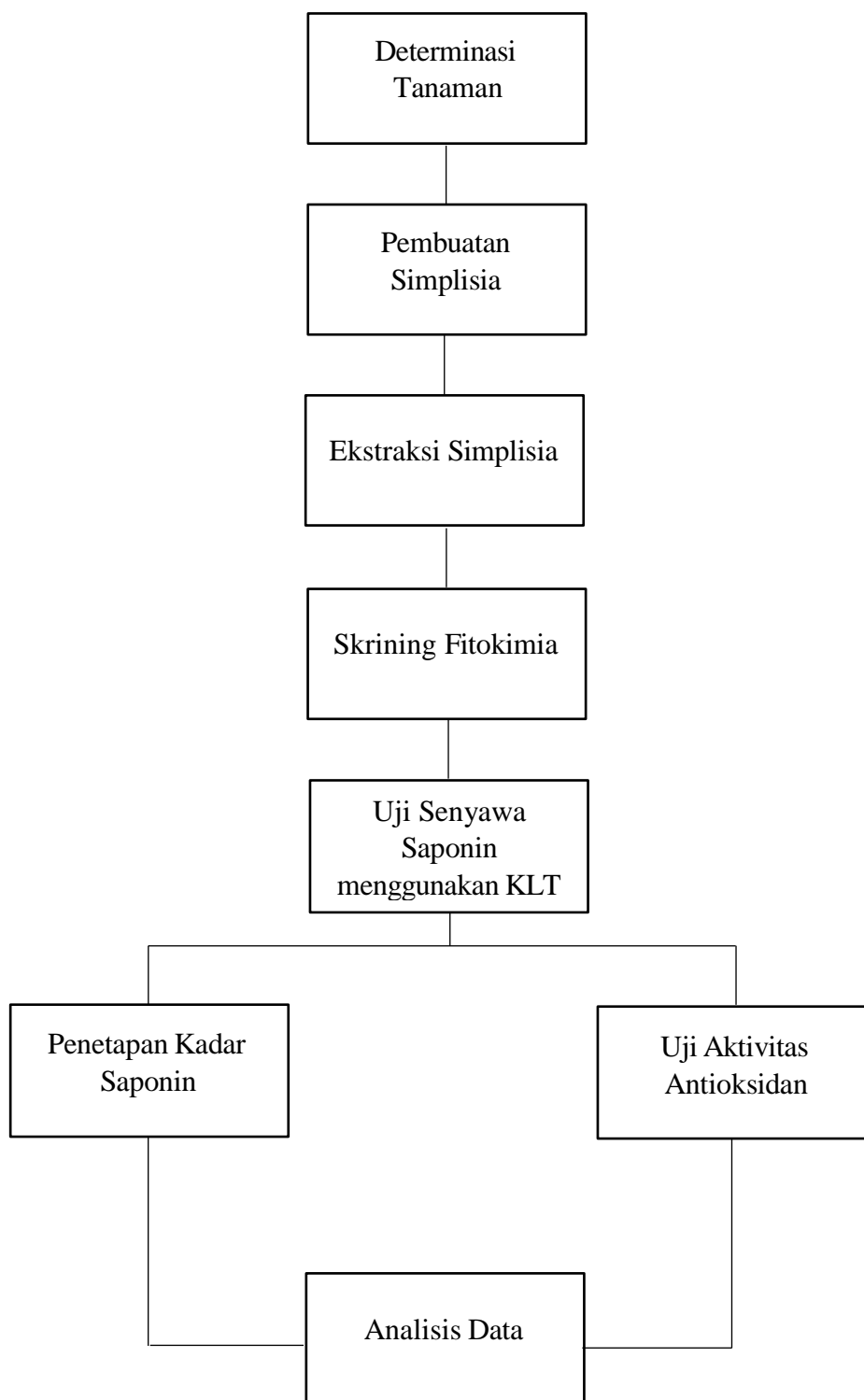
$$\text{LoD} = \frac{3 \times SB}{\text{Slope } (b)} \quad (3.6)$$

LoD (*Limit of Detection*) atau batas deteksi merupakan jumlah terkecil dari analit yang terdapat di dalam sampel yang dapat dideteksi dan masih memberikan respon signifikan dibandingkan dengan blangko.

$$\text{LoQ} = \frac{10 \times SB}{\text{Slope } (b)} \quad (3.7)$$

LoQ (*Limit of Quantification*) atau batas kuantifikasi merupakan parameter pada analisis renik dan diartikan sebagai kuantitas terkecil analit dalam sampel yang masih dapat memenuhi kriteria ketelitian dan ketetapan.

### 3.7 Kerangka Penelitian



Gambar 3.1 Kerangka Penelitian

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Determinasi Tanaman**

Dalam penelitian ini digunakan tanaman daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) sebagai sampel yang diperoleh di wilayah Karang Paci Kota Samarinda, Kalimantan Timur. Sampel kemudian dideterminasi di Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Universitas Mulawarman Samarinda. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran serta identitas tanaman agar menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan baku penelitian. Hasil determinasi menunjukkan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini benar tergolong dalam family Euphorbiaceae dengan spesies *Jatropha curcas* L. atau daun jarak pagar.

#### **4.2 Pembuatan Simplisia Daun Jarak Pagar**

Bagian tumbuhan yang digunakan adalah bagian daun. Sampel daun jarak pagar yang dikumpulkan dan dicuci dengan air bersih yang mengalir lalu ditiriskan, pencucian dilakukan untuk membersihkan kotoran yang melekat pada sampel. Untuk dijadikan serbuk simplisia. Serbuk simplisia yang dibutuhkan yaitu sebanyak 150 gram. Selanjutnya dikeringkan pada suhu ruang, kemudian dihaluskan dan diayak tujuannya adalah untuk memperbesar luas permukaan, sehingga mempercepat proses penarikan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstraksi. Semakin kecil ukuran partikel simplisia semakin luas permukaannya, sehingga kontak yang berbeda akan menyebabkan jumlah yang tersari berbeda. Kontak yang luas antar simplisia dan pelarut akan memberikan kesempatan yang lebih besar dalam mengekstraksi (Supomo *et al.*, 2019).

#### **4.3 Ekstraksi**

Ekstraksi menggunakan metode maserasi dengan merendam serbuk daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) menggunakan pelarut etanol 70% selama 3x24 jam. Metode maserasi dipilih karena lebih sederhana, tidak memerlukan peralatan khusus serta dapat dilakukan pada suhu ruang (Perawati dkk., 2022). Senyawa aktif

saponin yang terkandung pada daun jarak pagar akan lebih banyak dihasilkan jika diekstraksi menggunakan pelarut etanol, karena etanol bersifat polar sehingga akan lebih mudah larut dibandingkan pelarut lain (Suharto dkk., 2016). Maserat yang diperoleh selanjutnya dipekatkan untuk memperoleh ekstrak kental dan dihitung persen rendamennya, hasil rendamen yang diperoleh sebanyak 21,02%. Dalam penelitian fitokimia atau ekstraksi senyawa aktif, rendemen merupakan salah satu indikator penting untuk menilai keberhasilan proses ekstraksi, baik dari segi efisiensi pelarut, metode ekstraksi, maupun kandungan senyawa aktif dalam bahan. Perhitungan rendamen ekstrak dikatakan baik apabila nilai rendamen ekstrak yang diperoleh lebih dari 10% (Wardaningrum dkk., 2019). Nilai rendemen yang dihasilkan telah memenuhi kriteria rendemen yang baik, yaitu lebih dari 10%. Hasil rendamen dapat dilihat pada tabel (4.1):

Tabel 4.1 Hasil Ekstraksi Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)

Jenis Ekstrak	Berat Simplisia	Berat Ekstrak	%Rendamen
Ekstrak Kental	150 gram	31,54 gram	21,02%

#### 4.4 Skrining Fitokimia

Ekstrak kental daun jarak pagar kemudian dilakukan pengujian skrining fitokimia sebagai uji pendahuluan untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam ekstrak. Berdasarkan hasil skrining fitokimia, daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) menunjukkan positif mengandung alkaloid, saponin, dan tanin yang ditandai terjadinya perubahan warna dan bentuk sesuai dengan standar yang telah ditetapkan.

Tabel 4.2 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Dragendroff	Kecoklatan	-
Alkaloid	HCl Pekat	Endapan jingga kecoklatan	+
Saponin	Dikocok kuat dan HCl	Berbusa	+
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Hijau kehitaman	+

Pengujian flavonoid menggunakan pereaksi Dragendroff menunjukkan hasil positif karena terjadi perubahan warna kuning yang disebabkan adanya reaksi

reduksi oleh Mg yang dilakukan dalam suasana asam dengan penambahan HCl. Tujuan penambahan serbuk Mg dan HCl pekat ini untuk mereduksi ikatan glikosida dengan flavonoid. Agar flavonoid dapat diidentifikasi, maka ikatan glikosida dengan flavonoid dalam tanaman harus diputus dengan cara mereduksi ikatan tersebut. Namun hasil uji pada pereaksi Dragendorff yang dilakukan tidak terjadi perubahan warna kuning, maka hasil ujinya negatif, hasil negatif ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi kecoklatan, yang berarti tidak ada flavonoid yang bereaksi dengan pereaksi tersebut.

Pengujian alkaloid ini menunjukkan hasil positif adanya senyawa alkaloid dalam sampel yang diuji. Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Dragendorff, bismut nitrat dilarutkan dalam HCl agar tidak terjadi reaksi hidrolisis karena garam-garam bismut mudah terhidrolisis membentuk ion bismutit ( $\text{BiO}^+$ ). Agar ion  $\text{Bi}^{3+}$  tetap berada dalam larutan, maka larutan itu ditambah asam sehingga kesetimbangan akan bergeser ke arah kiri. Selanjutnya ion  $\text{Bi}^{3+}$  dari bismut nitrat bereaksi dengan kalium iodida membentuk endapan hitam Bismut (III) iodida yang kemudian melarut dalam kalium iodida berlebih membentuk kalium tetraiodobismutat. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan  $\text{K}^+$  yang merupakan ion logam.

Pengujian saponin dengan penambahan air kemudian digojok dengan kuat, sehingga akan menimbulkan busa yang menunjukkan sampel glikosida. Glikosida memiliki kemampuan membentuk buih didalam air yang terhidrolisis menjadi glukosa dan senyawa aglikon. Reaksi positif menunjukkan busa yang terbentuk bertahan tidak kurang dari 10 menit setelah digojok dan stabil setelah penambahan HCl. Busa yang timbul pada sampel menunjukkan adanya glikosida yang memiliki kemampuan membentuk busa dalam air yang terhidrolisis menjadi senyawa glukosa dan aglikon. Pembentukan busa menunjukkan saponin merupakan makromolekul yang mempunyai sifat dapat menurunkan tegangan permukaan air. Terdapat gugus polar dan nonpolar pada senyawa saponin yang bersifat aktif permukaan sehingga saat penggojokan dengan air akan mengalami hidrolisis dan membentuk misel. Misel yang terbentuk menyebabkan gugus polar menghadap keluar dan gugus non polar menghadap ke dalam yang tampak seperti busa. Hasil

yang diperoleh dari skrining fitokimia saponin yaitu daun jarak pagar positif mengandung saponin. Hal ini dapat dilihat dengan timbulnya busa dengan ketinggian 3 cm.

Pengujian tanin dilakukan dengan penambahan pereaksi  $\text{FeCl}_3$ , fungsi  $\text{FeCl}_3$  yaitu menghidrolisis golongan tanin sehingga akan menghasilkan perubahan warna kehitaman di tanin terkondensasi yang dapat menghasilkan warna hijau kehitaman. Terbentuknya warna hijau kehitaman pada ekstrak setelah ditambahkan  $\text{FeCl}_3$  karena tanin akan bereaksi dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  dan akan membentuk senyawa kompleks trisianoferitrikalium Ferri(III).

#### 4.5 Uji Senyawa Saponin menggunakan KLT (Kromatografi Lapis Tipis)

Ekstrak daun jarak pagar yang diperoleh selanjutnya diuji KLT dengan menggunakan silica gel GF 254. Elusi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol:kloroform:etil asetat dengan perbandingan pelarut 3:5:2. Pelarut ini digunakan pada analisis kadar saponin karena disesuaikan dengan sifat saponin yang bersifat amfipatik, yaitu memiliki bagian polar (gugus gula) dan non-polar (aglikon). Metanol sebagai pelarut polar melarutkan bagian gula, kloroform sebagai pelarut non-polar melarutkan bagian aglikon, dan etil asetat yang bersifat semi-polar berfungsi sebagai penyeimbang agar semua bagian saponin dapat terlarut dengan baik. Kombinasi ini menghasilkan pelarut dengan polaritas sedang yang cocok untuk memisahkan saponin dari senyawa lain dalam sampel, sehingga mempermudah identifikasi dan analisis pada kromatografi lapis tipis (KLT), gambar KLT pada cahaya tampak UV 254 dapat dilihat pada gambar (4.1).



Gambar 4.1 Plat KLT pada UV 254 nm

(b) Baku Saponin; (s) Sampel Ekstrak Daun Jarak Pagar

Hasil KLT ekstrak etanol daun jarak pagar dan larutan saponin standar

menunjukkan bahwa daun jarak pagar mengandung saponin yang ditandai dengan munculnya noda hijau pada plat KLT. Meskipun saponin secara umum tidak menunjukkan fluoresensi kuat di UV 254 nm karena tidak memiliki struktur aromatik atau sistem ikatan terkonjugasi panjang seperti flavonoid, beberapa jenis saponin triterpenoid atau senyawa aglikon (bagian non-gula dari saponin) yang memiliki sedikit sistem konjugasi atau gugus fungsi tertentu yang memungkinkan penyerapan sinar UV dan menghasilkan fluoresensi lemah. Hasil nilai *Rf* dapat dilihat pada tabel (4.3)

Tabel 4.3 Hasil Pengukuran nilai *Rf*

Sampel	Nilai <i>Rf</i>	Hasil
Baku Saponin	0,7	Positif
Ekstrak Daun Jarak Pagar	0,76	Positif

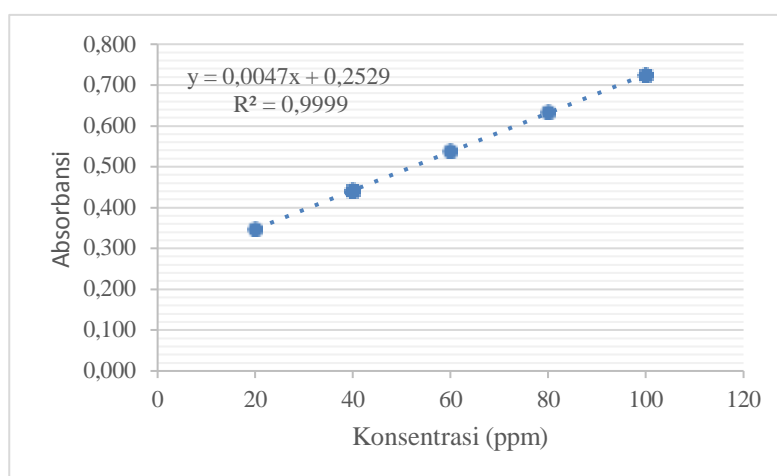
Dapat dilihat pada hasil pengujian KLT pada sampel ekstrak daun jarak pagar dengan hasil nilai *Rf* 0,76 dan terdapat bercak warna hijau. Timbulnya noda dengan *Rf* 0,76 yang berwarna hijau pada pengamatan dengan sinar tampak pada UV 254 nm menegaskan adanya kandungan saponin pada ekstrak etanol daun jarak pagar. Nilai *Rf* yang baik menunjukkan pemisahan yang cukup baik adalah berkisar antara 0,2-0,8. Dengan demikian, nilai *Rf* sebesar 0,76 yang diperoleh berada dalam kategori yang baik dan memenuhi syarat.

#### 4.6 Analisis Kadar Saponin

Analisis kuantitatif penentuan kadar saponin ekstrak etanol 70% daun jarak pagar menggunakan saponin sebagai larutan standar atau zat pembanding (saponin baku). Penentuan kadar saponin total dilakukan dalam beberapa tahapan; penentuan panjang gelombang, penentuan *operating time*, pengukuran absorbansi larutan standar dan penentuan kadar saponin total. Penentuan panjang gelombang maksimum menggunakan larutan baku saponin 100 ppm dengan range 200-700 nm. Diperoleh panjang gelombang 344 nm. Pembuatan larutan menggunakan saponin baku yang dibuat dalam beberapa konsentrasi (20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm) yang masing-masing dibuat replikasi 3 kali. Dalam pengukuran larutan standar tersebut diperoleh persamaan regresi linier  $y = 0,0047x + 0,2529$  dan  $r^2 = 0,9999$  ( $r = 0,9999$  nilai  $r$  mendekati 1 yang berarti linier). Hasil absorbansi larutan standar dapat dilihat pada (tabel 4.4)

Tabel 4.4 Hasil Pengukuran Absorbansi Saponin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Rata-Rata absorbansi
20	0,347	0,347
	0,349	
	0,345	
40	0,439	0,441
	0,441	
	0,444	
60	0,536	0,538
	0,542	
	0,537	
80	0,635	0,633
	0,634	
	0,631	
100	0,721	0,724
	0,725	
	0,727	



Gambar 4.2 Grafik Kurva Baku Saponin

Penetapan kadar saponin total menggunakan 10 mg ekstrak etanol 70% daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) yang dilarutkan dengan etanol 96%, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, dan ditambahkan etanol 96% sampai tanda batas, diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 1000 ppm. Pengukuran dibuat tiga kali replikasi agar diperoleh data yang akurat. Hasil yang diperoleh dari penetapan kadar saponin total sebesar 14,135 %, artinya tiap 1 gram ekstrak mengandung senyawa saponin sebesar 14,135 mg setara dengan saponin baku. Pada penelitian yang dilakukan oleh Moito *et al.*, (2023) pada penelitian lain yang

menganalisis kadar saponin dalam daun mangrove *Sonneratia alba* menunjukkan adanya hubungan antara kadar saponin dengan aktivitas antioksidan. Dalam penelitian tersebut, kadar saponin sebesar 2,8% dan IC<sub>50</sub> sebesar 13,15 ppm dengan sifat antioksidan sangat kuat. Dibandingkan dengan hasil penelitian ini, kadar saponin daun jarak pagar lebih besar yaitu 14,135% meskipun aktivitas antioksidannya berada pada kategori kuat. Hal ini mengindikasikan adanya kontribusi senyawa antioksidan lain di luar saponin, seperti flavonoid dan fenolik dalam menghambat radikal bebas DPPH. Hasil Penetapan kadar saponin total dapat dilihat pada (tabel 4.5)

Tabel 4.5 Hasil Penetapan Kadar Saponin Total Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)

Sampel	Absorbansi	C (ppm)	Kadar Saponin Total (%)	Rata-Rata Kadar Saponin Total (%)
Ekstrak Daun Jarak Pagar	0,313	12,787	12,787	14,135
	0,321	14,489	14,489	
	0,324	15,128	15,128	

#### 4.7 Uji Aktivitas Antioksidan

Pengujian Aktivitas antioksidan secara kuantitatif dilakukan dengan menggunakan metode DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl). Uji aktivitas antioksidan ini menggunakan vitamin C sebagai pembanding dan DPPH yang berperan sebagai radikal bebas. Vitamin C berfungsi sebagai senyawa yang dapat meredam radikal bebas karena vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi. Prinsip pengukuran dengan metode DPPH adalah adanya perubahan intensitas warna. Perubahan warna ini terjadi karena adanya peredaman radikal bebas yang dihasilkan oleh reaksi antara DPPH dan atom hidrogen yang dilepaskan oleh molekul senyawa sampel dan menyebabkan terjadinya perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning, hal ini bertujuan untuk mengukur kerja penghambatan radikal bebas dan elektron tunggal seperti transfer H<sup>+</sup>.

Oleh karena itu, uji aktivitas antioksidan dilakukan pada sampel larutan uji daun jarak pagar dengan 5 variasi konsentrasi, yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 60

ppm, dan 100 ppm. Adapun aktivitas dari vitamin C dengan 5 konsentrasi yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Berikut adalah hasil pengukuran absorbansi dari vitamin C dan larutan uji daun jarak pagar. Masing-masing konsentrasi dipipet sebanyak 4 mL, kemudian ditambahkan DPPH sebanyak 1 mL dan didiamkan selama 30 menit untuk memaksimalkan reaksi agar diperoleh absorbansi yang stabil. Tiap-tiap konsentrasi dibuat replikasi sebanyak 3 kali untuk mendapatkan data yang akurat dan mengoptimalkan terjadi kesalahan dalam analisis sampel (Saputri dkk., 2020). Data hasil pengukuran absorbansi vitamin C dan larutan uji daun jarak pagar dapat dilihat pada tabel (4.6):

Tabel 4.6 Hasil Pengukuran Absorbansi Vitamin C dan Daun Jarak Pagar

Sampel	Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi
		1	2	3	
<b>Vitamin C</b>	2 ppm	0,797	0,796	0,795	0,795
	4 ppm	0,588	0,589	0,589	0,589
	6 ppm	0,474	0,473	0,473	0,473
	8 ppm	0,362	0,362	0,361	0,362
	10 ppm	0,247	0,246	0,245	0,246
<b>Daun Jarak Pagar</b>	20 ppm	0,801	0,802	0,801	0,801
	40 ppm	0,723	0,724	0,725	0,724
	60 ppm	0,624	0,624	0,623	0,624
	80 ppm	0,554	0,551	0,549	0,551
	100 ppm	0,441	0,440	0,441	0,441

Uji aktivitas antioksidan pada penelitian ini menggunakan vitamin C sebagai kontrol positif. Semakin tinggi konsentrasi sampel yang ditambahkan berdampak pada persen penghambatan yang semakin meningkat. Dalam hal ini absorbansi yang diperoleh semakin rendah yang menunjukkan semakin banyak radikal bebas yang dihambat (Moniung dkk., 2022). Berdasarkan tabel diatas menunjukkan bahwa pada larutan uji daun jarak pagar, semakin tinggi konsentrasi yang digunakan, nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah.

Dari hasil pengukuran, diperoleh absorbansi yang kemudian digunakan untuk perhitungan aktivitas antioksidan yang dinyatakan dengan persentase penghambatan dan nilai  $IC_{50}$ . Berdasarkan hasil perhitungan persen penghambatan, dapat diketahui bahwa konsentrasi sampel yang ditambahkan mempengaruhi kemampuan sampel dalam meredam radikal bebas, dapat dikatakan bahwa aktivitas antioksidan tersebut semakin besar yang ditandai dengan persen penghambatan

yang semakin tinggi (Anggarani dan Amalia., 2022).

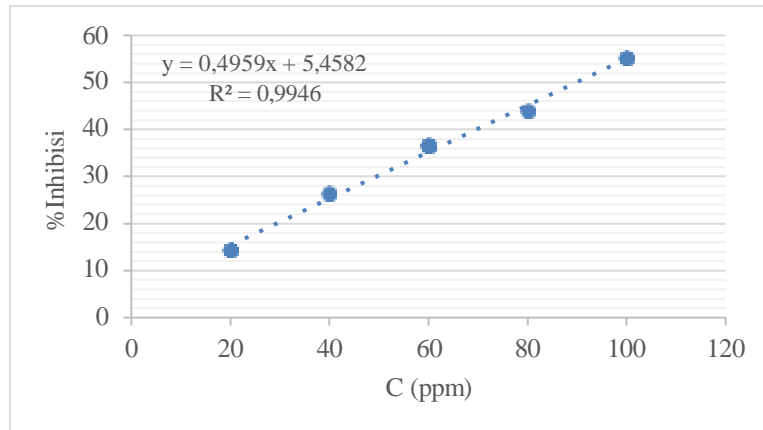
#### 4.7.1 Aktivitas Antioksidan Daun Jarak Pagar

Berikut ini adalah hasil pengukuran absorbansi pada larutan uji daun jarak pagar dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, dan 100 ppm. Daun jarak pagar yang diukur absorbansinya kemudian dihitung %inhibisi dan  $IC_{50}$  nya. Berikut adalah hasil perhitungan %inhibisi larutan uji daun jarak pagar.

Tabel 4.7 Hasil perhitungan  $IC_{50}$  Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.)

No.	Absorbansi				
	20 ppm	40 ppm	60 ppm	80 ppm	100 ppm
1	0,842	0,723	0,624	0,554	0,441
2	0,841	0,724	0,624	0,551	0,440
3	0,841	0,725	0,623	0,549	0,441
<b>Rata-Rata</b>	0,841	0,724	0,624	0,551	0,441
<b>Absorbansi DPPH</b>	0,982				
<b>%Inhibisi</b>	14,325	26,273	36,490	43,856	55,126
<b><math>IC_{50}</math></b>	89,820				
<b>Kesimpulan</b>	Kuat				

Nilai  $IC_{50}$  digolongkan menjadi 5 kategori antioksidan yaitu sangat lemah ( $IC_{50} > 200$  ppm), lemah ( $IC_{50}$  150-200), sedang ( $IC_{50}$  100-150 ppm), kuat ( $IC_{50}$  50-100 ppm), dan sangat kuat ( $IC_{50} < 50$  ppm). Nilai  $IC_{50}$  yang diperoleh sebesar 89,820  $\mu\text{g/mL}$  dari ekstrak daun jarak pagar menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sesuai dengan klasifikasi nilai  $IC_{50}$  (50–100  $\mu\text{g/mL}$ ). Ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun jarak pagar memiliki potensi sebagai sumber senyawa antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bidang farmasi atau pangan fungsional.



Gambar 4.3 Grafik %Inhibisi Sampel Daun Jarak Pagar

Nilai  $IC_{50}$  digolongkan menjadi 5 kategori antioksidan yaitu sangat lemah ( $IC_{50} > 200$  ppm), lemah ( $IC_{50}$  150-200), sedang ( $IC_{50}$  100-150 ppm), kuat ( $IC_{50}$  50-100 ppm), dan sangat kuat ( $IC_{50} < 50$  ppm). Pada Gambar 4.23 diperoleh persamaan linear  $y = 0,4959x + 5,4582$   $r^2 = 0,9946$  ( $r = 0,9946$ ) nilai  $r$  mendekati 1 yang berarti linear. Pada penelitian ini nilai  $IC_{50}$  ekstrak etanol 70% daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) yang diperoleh adalah sebesar 89,820  $\mu\text{g/mL}$ , yang tergolong memiliki aktivitas antioksidan kuat. Nilai  $IC_{50}$  sebesar 89,820  $\mu\text{g/mL}$  dari ekstrak daun jarak pagar menunjukkan bahwa ekstrak tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang kuat, sesuai dengan klasifikasi nilai  $IC_{50}$  (50–100  $\mu\text{g/mL}$ ). Ini mengindikasikan bahwa ekstrak daun jarak pagar memiliki potensi sebagai sumber senyawa antioksidan alami yang dapat dikembangkan lebih lanjut dalam bidang farmasi atau pangan fungsional.

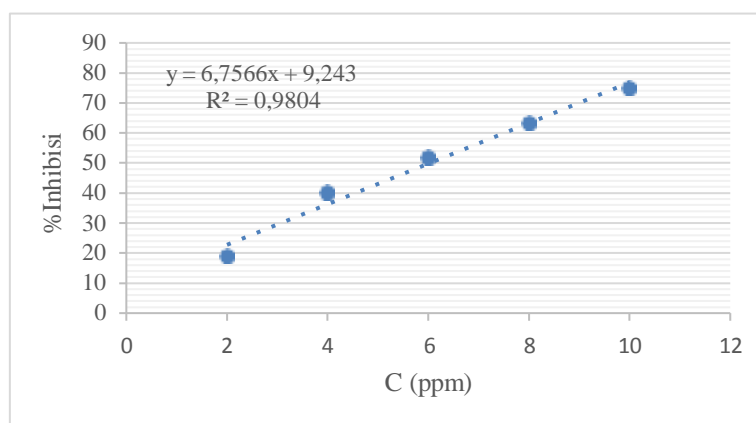
#### 4.7.2 Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Sebagai pembanding nilai  $IC_{50}$  dari senyawa antioksidan yang baik, maka dilakukan pengujian pada vitamin C. Pengukuran absorbansi pada larutan uji vitamin C dengan konsentrasi yang digunakan yaitu 2 ppm, 4 ppm, 6 ppm, 8 ppm, dan 10 ppm. Vitamin C yang sudah diukur absorbansinya kemudian dihitung %inhibisi dan nilai  $IC_{50}$ . Berikut adalah hasil perhitungan %inhibisi larutan uji vitamin C.

Tabel 4.8 Hasil Perhitungan  $IC_{50}$  Vitamin C

No.	Absorbansi				
	2 ppm	4 ppm	6 ppm	8 ppm	10 ppm
1	0,797	0,588	0,474	0,362	0,247
2	0,796	0,589	0,473	0,362	0,246
3	0,795	0,589	0,473	0,361	0,245
<b>Rata-Rata</b>	0,796	0,589	0,473	0,362	0,246
<b>Absorbansi DPPH</b>	0,982				
<b>%Inhibisi</b>	18,941	40,054	51,799	63,170	74,949
<b><math>IC_{50}</math></b>	6,033				
<b>Kesimpulan</b>	Sangat Kuat				

Berdasarkan tabel 4.8 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah dan nilai %inhibisi semakin tinggi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanani dkk., (2015) yang menyatakan persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Pada penelitian ini, nilai  $IC_{50}$  vitamin C sebesar 6,033 ppm, yang mengindikasikan bahwa vitamin C memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi. Hal ini disebabkan oleh prinsip bahwa semakin rendah nilai  $IC_{50}$ , maka semakin besar kemampuan senyawa tersebut dalam menetralkan radikal bebas.



Gambar 4.4 Grafik %Inhibisi Vitamin C

Berdasarkan tabel 4.8 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi yang diberikan nilai absorbansi yang diperoleh semakin rendah dan nilai % inhibisi semakin tinggi. Hasil ini didukung dengan penelitian yang dilakukan oleh Hanani dkk., (2015) yang menyatakan persentase penghambatan terhadap aktivitas radikal bebas akan

meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel. Pada Gambar 4.4 diperoleh persamaan linear  $y = 6,7566x + 9,243$ ,  $r^2 = 0,9804$  ( $r = 0,9804$ ) nilai  $r$  mendekati 1 yang berarti linear. Pada penelitian ini nilai  $IC_{50}$  vitamin C yang diperoleh adalah 6,033 yang tergolong memiliki aktivitas antioksidan sangat kuat, dikarenakan semakin kecil nilai  $IC_{50}$  dari suatu senyawa maka semakin kuat daya peredaman radikal bebasnya.

#### 4.7.3 Hubungan Kadar Saponin dan Aktivitas Antioksidan

Uji aktivitas antioksidan menggunakan vitamin C sebagai pembanding dan DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazil) yang berperan sebagai radikal bebas. Vitamin berfungsi sebagai senyawa yang dapat meredam radikal bebas. Vitamin C digunakan sebagai larutan pembanding karena vitamin C merupakan antioksidan sekunder yang memiliki aktivitas antioksidan yang sangat tinggi. Penggunaan larutan pembanding vitamin C untuk mengetahui absorbansi radikal bebas DPPH yang stabil ditandai dengan perubahan warna ungu menjadi kuning (*diphenyl picrylhidrazin*), hal ini bertujuan untuk mengukur kerja penghambatan radikal bebas dan elektron tunggal seperti transfer  $H^+$  (Ardila, 2020). Pengukuran dilakukan dengan membuat larutan induk DPPH 200 ppm, larutan induk vitamin C 100 ppm dan larutan sampel 1000 ppm.

Pada penentuan *operating time* menggunakan larutan sampel dari konsentrasi terendah dari konsentrasi yang telah dibuat, diukur pada menit 0-30 pada panjang gelombang 517 nm. Diperoleh *operating time* pada menit ke-10. Nilai kadar saponin sebesar 85,678 mg/gram menunjukkan bahwa daun jarak pagar mengandung saponin dalam jumlah tinggi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Nurhayati *et al.*, (2019) pada pengaruh konsentrasi etanol sebagai pelarut terhadap kadar saponin ekstrak daun kelor (*Moringa oleifera*) dalam penelitian tersebut etanol 70% menghasilkan kadar saponin lebih tinggi sebesar 4,25% dibandingkan etanol 96% sebesar 3,10%, karena sifat polar saponin lebih cocok diekstraksi dengan pelarut yang juga bersifat polar.

Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder yang secara struktur kimia terdiri atas inti triterpenoid atau steroid aglikon yang terikat pada satu atau lebih gugus gula (glikosa, galaktosa, arabinosa) melalui ikatan glikosidik. Struktur ini memberikan sifat amfipatik, artinya saponin memiliki bagian yang bersifat hidrofobik (inti triterpenoid atau steroid) dan bagian yang bersifat hidrofilik (gugus gula). Keunikan struktur ini memungkinkan saponin berperan dalam aktivitas biologis, termasuk sebagai antioksidan. Kemampuan saponin sebagai antioksidan berkaitan dengan keberadaan gugus hidroksil (-OH) pada rantai gula maupun pada cincin triterpenoidnya. Gugus ini mampu mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Radikal bebas adalah zat kimia yang sangat reaktif karena memiliki elektron tidak berpasangan. Untuk menjadi stabil, radikal bebas akan mencari dan mengambil elektron dari molekul lain, termasuk dari sel tubuh manusia yang dapat menyebabkan berbagai penyakit kronis seperti kanker. Radikal bebas yang berlebihan dalam tubuh dikaitkan dengan stres oksidatif, yaitu ketidakseimbangan antara produksi radikal bebas dan kemampuan tubuh untuk menetralsirnya dengan antioksidan. Saponin adalah salah metabolit sekunder yang bertanggungjawab pada aktivitas antioksidan yang dapat menetralkan radikal bebas dengan cara menyumbangkan elektron, sehingga radikal bebas menjadi stabil dan tidak lagi merusak sel.

Nilai  $IC_{50}$  sebesar 89,820  $\mu\text{g/mL}$  menunjukkan bahwa ekstrak daun jarak pagar memerlukan konsentrasi yang relatif kecil untuk menghambat 50% aktivitas radikal DPPH. Menurut klasifikasi, nilai  $IC_{50} < 100 \mu\text{g/mL}$  termasuk dalam kategori antioksidan kuat. Dimana semakin tinggi kadar saponin, semakin kuat pula aktivitas antioksidan dalam menetralkan radikal bebas, yang ditunjukkan melalui penurunan nilai  $IC_{50}$ .

## 4.8 Hasil Validasi Metode

### 4.8.1 Ketepatan (*Accuracy*)

Akurasi merupakan parameter validasi metode yang menunjukkan derajat kedekatan hasil analisis dengan kadar analit yang sebenarnya dengan menambahkan sejumlah analit standar ke dalam sampel, selanjutnya diukur menggunakan spektrofotometri UV-Visible dan dilakukan pengukuran absorbansi pada masing-masing konsentrasi baku sebanyak 3 kali pengulangan. Kemudian, hasil absorbansi dari tiga kali pengulangan tersebut dirata-ratakan dan dilakukan perhitungan sehingga menghasilkan % *recovery*.

Tabel 4.9 Hasil Perhitungan % *recovery*

Sampel	C (ppm)	Abs	C Terhitung (ppm)	% recovery	Rata-Rata %recovery
Ekstrak Etanol 70% Daun Jarak Pagar (2,137 ppm)	30	0,376	30,314	93,923	93,665
		0,379	30,663	95,086	
		0,371	29,733	91,985	
	40	0,457	39,733	93,989	94,861
		0,462	40,314	95,442	
		0,461	40,198	95,152	
	50	0,548	50,314	96,353	95,734
		0,542	49,616	94,959	
		0,546	50,081	95,889	

Hasil % *recovery* dikatakan memenuhi syarat apabila menunjukkan nilai persentase antara 80 – 110%. Pada hasil peungujian ini memiliki nilai % *recovery* yang baik karena memenuhi persyaratan yang ditentukan dimana % *recovery* yang diperoleh rata-rata yaitu 93,665;94,861;95,734%. Hal ini menunjukkan bahwa validasi metode analisis untuk penambahan baku analit atau persentase *recovery* yang dihasilkan berada pada batas yang diinginkan, sehingga dapat disimpulkan bahwa metode spektrofotometri UV-Vis memiliki akurasi yang baik dalam pengujian kadar saponin pada ekstrak daun jarak pagar dan memberikan hasil yang akurat.

#### 4.8.2 Presisi

Pengujian presisi menunjukkan hasil yang sama meskipun berbeda beda terhadap suatu contoh homogen. Dalam penelitian ini, presisi diukur dengan menggunakan metode koefisien variansi atau simpangan baku relatif, dengan fokus pada jenis presisi yaitu repeatability (keterulangan). Hasil yang didapatkan pada pengujian ini dengan menggunakan metode spektrofotometri Uv-Vis dalam sampel daun jarak pagar adalah sebesar 0,518 %.

Data dari tabel 4.10 menunjukkan bahwa kadar rata-rata ekstrak etanol 70% daun jarak pagar adalah 64,686. Pengujian hasil presisi menghasilkan nilai RSD (*Relative Standard Deviation* atau simpangan baku relatif) sebesar 0,518%. Dalam pengujian analisis validasi secara spektrofotometri UV-Vis untuk penetapan kadar saponin dalam daun jarak pagar. Metode analisis bisa dikatakan memberikan presisi yang baik ketika nilai simpangan baku relatifnya (RSD) kurang dari  $\leq 2\%$  (Puspitasari & Wulandari, 2017). Berdasarkan hasil uji tersebut menunjukkan bahwa hasil analisis dalam penelitian ini menunjukkan presisi yang baik dan dapat diterima.

Tabel 4.10 Hasil Pengukuran % RSD

<b>Baku 20 ppm</b>	<b>Absorbansi</b>	<b>Average</b>	<b>SD</b>	<b>%RSD</b>
Replikasi 1	0,668			
Replikasi 2	0,671			
Replikasi 3	0,676	64,686	0,335	0,518
Replikasi 4	0,672			
Replikasi 5	0,671			

#### 4.8.3 LoD & LoQ

Nilai LoD dan LoQ diperoleh dari persamaan kurva kalibrasi, nilai LoD dan LoQ didapat dari nilai slope. LoD ditentukan untuk mengetahui jumlah analit atau sampel terkecil dalam sampel yang masih memberi respon signifikan terhadap

metode, penentuan LoQ berfungsi untuk mengetahui kadar terkecil atau konsentrasi terkecil yang masih dapat dikuantifikasi untuk penentuan akurasi dan presisi. Nilai LoD dan LoQ dapat dilihat pada Tabel 4.11

Tabel 4.11 Hasil Analisis LoD & LoQ

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi (yi)	yc	yi-yc	(yi-yc) <sup>2</sup>
20	0,363	0,364	-0,001	3,6E-07
30	0,459	0,458	0,001	1,96E-06
40	0,549	0,552	-0,003	6,76E-06
50	0,651	0,646	0,005	2,916E-05
60	0,739	0,740	-0,001	3,6E-07
			Jumlah	5
			n-1	4
			SD	0,0031
			LoD	0,9914
			LoQ	3,3047

Keterangan:

yi : Nilai absorbansi

yc : Nilai absorbansi yang diprediksi atau dihitung berdasarkan model atau kurva kalibrasi.

yi - yc : Selisih antara nilai absorbansi yang diukur dengan yang diprediksi, disebut juga residual atau galat (error).

(yi - yc)<sup>2</sup> : Kuadrat dari residual

Berdasarkan tabel 4.11 didapatkan nilai LoD sebesar 0,9914 %, menunjukkan bahwa metode ini mampu mendeteksi kadar dalam analit sebesar 0,9914%. Nilai LoQ yang diperoleh 3,3047 %, ini menunjukkan bahwa nilai dari analit yang masih bisa dikuantifikasi secara presisi adalah di atas 3,3047 % nilai LoQ dikatakan baik karena nilai konsentrasi sampel yang diuji berada diatas dari nilai LoQ, sehingga dapat diterima dalam akurasi dan presisi.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak daun jarak pagar menunjukkan hasil positif mengandung saponin melalui uji kualitatif pada pengujian saponin yang ditandai oleh timbulnya busa dengan ketinggian 3 cm. Pada hasil uji kuantitatif kadar saponin diperoleh kadar 14,135%.
2. Aktivitas antioksidan menunjukkan nilai  $IC_{50}$  sebesar 89,820  $\mu\text{g/mL}$ , sedangkan nilai  $IC_{50}$  pada vitamin C sebesar 6,033  $\mu\text{g/mL}$ . Ekstrak 70% daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) memiliki aktivitas antioksidan yang kuat dengan kadar total saponin yang tinggi, sehingga senyawa saponin merupakan metabolit sekunder yang berperan sebagai antioksidan.

#### 5.1 Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengisolasi senyawa bioaktif murni dari daun *Jatropha curcas* L., serta melakukan identifikasi dan uji aktivitas antioksidan terhadap masing-masing senyawa, guna mengetahui komponen spesifik yang paling berkontribusi terhadap aktivitas antioksidan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi, S.S., Sulistiyani. 2002. Uji in Vivo Saponin Tanaman Akar Kuning (*Arcangelisia flava* (L.) Merr) sebagai Hepatoprotektor. *Jurnal Nature Indonesia*.
- Achten, W. M. J., Verchot, L., Franken, Y. J., Mathijs, E., Singh, V. P., Aerts, R., & Muys, B. 2010. *Jatropha* bio-diesel production and use. *Biomass and Bioenergy*, 32(12), 1063-1084.
- Aires, A., Carvalho, R., & Fernandes, C. 2016. Extraction of saponins from plants using ethanol and water. *Phytochemistry Reviews*, 15(4), 671-682.
- Ali, S. S., Ahsan, H., Zia, M. K., Siddiqui, T., & Khan, F. H. 2020. Understanding oxidants and antioxidants: Classical team with new players. *Journal of Food Biochemistry*, 44(3).
- Anani, K., Adjrah, Y., Ameyapoh, Y., Karou, S., Agbonon, A., de Souza, C., & Gbeassor, M. 2016. Antimicrobial, Anti-inflammatory and antioxidant activities of *Jatropha multifida* L. (Euphorbiaceae). *Pharmacognosy Research*, 8(2), 142.
- Anggarani, M. A., & Amalia, R. 2022. Analisis Kadar Fenolik, Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Umbi Bawang Bombai (*Allium cepa* L.). *Unesa Journal of Chemistry*, 11(1), 34-45.
- Ardila, T. 2020. Uji Total Fenol Dan Aktivitas Antioksidan Daun Teh (*Camellia sinensis*) Berdasarkan Tahun Pangkas Di Kebun Teh Wonosari Lawang. *Skripsi Prodi Biologi*, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim. Malang. Indonesia.
- Arif, S., Wardatun, A., & Weandarlina, R. 2008. Penggunaan spektrofotometer UV-Vis untuk penentuan panjang gelombang maksimum pada senyawa organik. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, 2(1), 45-50.
- Arisaputra, 2015. *Reforma Agraria Indonesia*, Sinar Grafika, Jakarta.
- Akintunde, J. K., Oladele, D. T., & Ogundipe, F. O. 2018. In vitro antioxidant and antimicrobial activities of saponin fractions of *Jatropha curcas* (Linn) leaf extract. *Journal of Medicinal Plants Research*, 12(2), 28-35.
- Bansal, R., & Choudhary, A. 2019. Spectrophotometric determination of some anti-inflammatory drugs using the Lambert-Beer law. *Analytical Methods*, 11(35), 4541-4548.
- Chairunnisa, Sarah., Wartini, Ni Made., Suhendra, Lutfi. 2019. Pengaruh suhu dan waktu maserasi terhadap karakteristik ekstrak daun bidara (*Ziziphus mauritiana* L.) sebagai sumber saponin. *Jurnal Rekayasa Dan Manajemen Agroindustri*. 7(4). ISSN : 2501-488X.
- Chang, C., Dkk. 2002. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal Of Food And Drug Analysis*. 10(3), 178-182.
- Darma, W & Marpaung, M. P. 2020. Analisis Jenis dan Kadar Saponin Ekstrak Akar

Kuning (*Fibraurea chlooroleuca* Miers) Secara Gravimetri. *Jurnal Pendidikan Kimia Dan Ilmu Kimia*. 3(1), 51-59.

- Dutta, P., *et al.* 2020. Application of UV-Vis Spectrophotometry in Pharmaceutical and Environmental Analysis. *Journal of Analytical Chemistry*, 75(9), 1123-1130.
- Devappa, R. K., Makkar, H. P. S., & Becker, K. 2011. Jatropha toxicity. A review. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B: Critical Reviews*, 14(6-7), 476-507.
- Erna, S., & Era, N. 2019. Metode uji fitokimia pada tanaman obat tradisional: Penentuan senyawa aktif dengan perebusan dan reaksi warna. *Jurnal Ilmu Farmasi Indonesia*, 12(1), 45-52.
- Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi. Jambi. Panduan Akademik. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Jambi; 2017. 10-11, 21.
- Hanani., E, Mun'im., B, Sekarini., R. 2015. *Identifikasi Senyawa Antioksidan dalam Spons Callispongia sp.* *Jurnal Ilmu Kefarmasian*, 2(3).
- Harris, D. C. 2010. *Quantitative Chemical Analysis* (8th ed.). New York: W. H. Freeman and Comp
- Hasan, H. 2022. Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antioksidan Kulit Batang Matoa (*Pometia pinnata*) Dengan Metode 1,1-Diphenyl-2 picrylhidrazyl (DPPH). *Indonesian Journal of Pharmaceutical Education*, 2(1), pp. 52-66.
- Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. 2010. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118.
- Lutfiyanie, S. 2015. Analisis aktivitas antioksidan senyawa fitokimia menggunakan metode DPPH dan hubungan antara konsentrasi dengan persentase inhibisi. *Jurnal Kimia dan Pendidikan*, 3(1), 50-58.
- Junaid, M., Khan, S., & Ahmed, R. 2020. Comparative extraction of saponins from *Trigonella foenum-graecum* L. leaves using 70% and 96% ethanol and their cytotoxic activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 250, 112461.
- Jiang, Z., Meng, H., & Yuan, J. 2021. Solvent selection and extraction of bioactive compounds. A review. *Phytochemistry Reviews*, 20(3), 1-20.
- Khattak, K. F., & Ahmad, M. 2018. Extraction Techniques for Saponins: A Review. *Journal of Medicinal Plants Research*.
- Khairunnisa. 2021. Penetapan Kadar Fenolik Dan Tanin Total Dan Analisis Aktivitas Antioksidan Pada Jamur Merang (*Volvariella volvaceae* Bull.) Dengan Metode DPPH. *Skripsi Prodi Farmasi*, Universitas Alauddin. Makassar. Indonesia.
- Krisdiyanto, N. R., & Saad, M. 2023. Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Dengan Metode Spektrofotometri UV-Visibe. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 6 (1),

34-42.


- Kumar, A., & Sharma, S. 2015. Potential non-edible oil resources as biodiesel feedstock: An Indian perspective. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 15(4), 1791-1800.
- Kumar, P., Verma, S., Singh, R., & Pandey, P. 2020. A review of recent advances in UV-Vis spectroscopy and its applications in various fields. *Journal of Analytical Chemistry*, 75(3), 252-261.
- Kumar, P., *et al.* 2020. A review of recent advances in UV-Vis spectroscopy and its applications in various fields. *Journal of Analytical Chemistry*, 75(3), 252-261.
- Kuntorini, E. M. dan Astuti, M. D. 2010. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Bulbus Bawang Dayak (*Eleutherine americana* Merr). *Sains dan Terapan Kimia*, 4 (1) 15-22.
- Makkar, H. P. S., Becker, K., & Sporer, F. 2012. Studies on nutritive potential and toxic constituents of different provenances of *Jatropha curcas*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(4), 1023-1028.
- Moito, R. 2018. Analisis Kadar Saponin Dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove (*Sonneratia alba*) Dari Perairan Desa Manado Kabupaten Gorontalo Utara. *Skripsi Program Studi Teknologi Hasil Perikanan*. Universitas Negeri Gorontalo, Indonesia.
- Mukhriani, 2014. Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. *Jurnal Kesehatan*, 7(2), 361-367.
- Musdalifah. 2016. Penentuan Suhu Dan Waktu Optimum Penyeduhan Daun Teh Hijau (*Camelia sinesis* L.) P+3 Terhadap Kandungan Antioksidan Kafein, Tanin dan Katekin. Universitas Islam Negeri Alauddin Makassar.
- Nguyen, T. P., Kim, Y. T., & Lee, S. Y. 2020. Extraction and quantification of saponins from medicinal plants: Impact of solvent systems on recovery efficiency. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 178, 112-176.
- Neha, K., Haider, M. R., Pathak, A., & Yar, M. S. 2019. Medicinal prospects of antioxidants: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 178, 687– 704.
- Nengsih, T., Hariani, P. L., & Sari, D. P. 2022. Pengaruh suhu ekstraksi terhadap kandungan senyawa aktif pada ekstrak tanaman obat tradisional. *Jurnal Farmasi Indonesia*, 15(2), 123-130.
- Nurdia. 2017. Isolasi Dan Identifikasi Antioksidan Terhadap Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris* L.). Jurusan Farmasi Universitas Islam Alauddin Makassar: Makassar.
- Nurhayati, T., *et al.*, 2019. Comparison of Phenolic Content and Antioxidant Activity of Mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) Peel Extract Using 70% and 96% Ethanol. *Journal of Herbal Medicine*, 9(4), 145-152.

- Miladiyah, I., dan Prabowo, B.R. 2012. Ethanolic Extract of (*Anredera cordifolia* (Ten) teenis). *Leaves Improved Wound Healing in Guinea Pig*. Univesitas Medan, 31(1).
- Moito, R. A. A., Husain R., & Asri S. N. 2023. Analisis Kadar Saponin dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Mangrove *Sonneratia alba* dari Perairan Desa Monano Kabupaten Gorontalo Utara. *Jurnal Ilmiah Perikanan dan Kelautan*, 11(2), 92-96.
- Moniung P, Singkoh M, Butarbutar R. 2022. Potensi Alga *Halymenia drvillei* Sebagai Sumber Antioksidan Alami. *J Bios Logos*, 12(1), 39.
- Oladipo, A. A., Gazi, M., & Adeoye, I. O. 2017. Recent developments in UV-Visible spectrophotometry and its applications in pharmaceutical analysis. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 7(4), 237-245.
- Puspitasari, A. D., & Wulandari, R. L. 2017. Antioxidant activity, determination of total phenolic and flavonoid content of *Muntingia calabura* L. Extracts. *Pharmaciana*, 7(2), 147.
- Rahman, A., Darusman, L. K., & Chandra, A. 2021. Solvent extraction and determination of bioactive compounds from *Jatropha curcas* leaves and their potential as antioxidant. *Indonesian Journal of Chemistry*, 21(1), 144-152.
- Rahman, S., Angga, S. C., Toepak, E. P., & Bachtiar, M. T. 2021. Profil fitokimia dan aktivitas antibakteri fraksi etil asetat akar jarak pagar (*Jatropha curcas* Linn.). *Sasambo Journal of Pharmacy*, 2(2), 73-79.
- Retnowati *et, al.*, 2017, Pertumbuhan beberapa Genotipe Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) di Tanah Masam, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Riani, 2018, Perbandingan Efektivitas Daun Jarak & Minyak Kayu Putih Dengan Daun Jarak Pagar Tanpa Minyak Kayu Putih Terhadap Kesembuhan Perut Kembang Pada Bayi 0-2 Tahun Di Wilayah Kerja Puskesmas Bangkinan Kota Tahun 2017/2018, Program Studi Sarjana Keperawatan, Universitas Pahlawan Tuanku Tambusai.
- Ridho, A. 2013. Penggunaan tanaman obat sebagai alternatif pengobatan tradisional. *Jurnal Kesehatan Masyarakat*, 9(1), 12-18.
- Saputri, A. P., Augustina, I., dan Fatmaria. 2020. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *Musa balbisiana* (ABB cv)) dengan Metode ABTS (2,2 azinobis (3-etilbenzotiazolin) -6-asam sulfonat) pada Berbagai Tingkat Kematangan. *Jurnal Kedokteran*, 8(1), 973-980.
- Sharma, K., & Sharma, R. 2018. Principles of UV-Visible spectroscopy. Concepts and applications in chemical analysis. *International Journal of Scientific Research and Reviews*, 7(3), 543-556.
- Soni, R., Sana, R., Godara, S. 2021. *Characterization Tools And Techniques For Nanomaterials And Nanocomposites*. Dalam buku *Nanomaterial and Nanocomposites*, halaman: 62-80. ISBN: 978-0-367-48389-0 (hbk).
- Spinola, V., Pinto, J., & Castilho, P. C. 2015. Identification and quantification of phenolic compounds of selected fruits from Madeira Island by HPLC-

- DAD–ESI-MSn and screening for their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 173, 14–30.
- Suharto, M.A.P., H.J. Edy dan J.M. Dumanauw. 2016. Isolasi dan identifikasi senyawa saponin dari ekstrak metanol batang pisang ambon (*Musa paradisiaca var. sapientum* L.). *Jurnal Sains*. 3(1):86-92.
- Supendi, E., Wijayanti, W., & Rahayu, S. 2022. Penentuan kadar senyawa aktif menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*, 14(2), 123-130.
- Supomo, S., H. Warnida, and B. M Said. 2019. Kandungan Flavonoid Dan Aktivitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Kayu Kapur (*Melanolepis Multiglandulosa* Reinch F). *Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia* 1 (1): 30–40.
- Verma, R., Mishra, A., & Singh, R. K. 2022. Efficient extraction techniques for phytochemicals in herbal drugs. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 11(3), 185-192.
- Verdiana, M., Widarta, I.W.R. dan Permana, I.D.G.M., 2018. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 7(4), pp.213-222.
- Wahid, A.R., & Safwan. 2020. Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder Terhadap Ekstrak Tanaman Ranting Patah Tulang (*Euphorbia tirucalli* L.). *Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 1 (1).
- Wardaningrum, R. Y. 2019. Perbandingan aktivitas antioksidan ekstrak etanol terpurifikasi ubi jalar ungu (*Ipomoea batatas* L.) dengan vitamin E. *Skripsi*. Ungaran: Universitas Ngudi Waluyo.
- Wijayanti, N., Winarno, H., & Lestari, D. 2018. Kandungan saponin dan aktivitas antioksidan ekstrak daun jarak pagar (*Jatropha curcas* L.) dengan metode DPPH. *Jurnal Kimia Riset*, 3(2), 135–142.
- World Health Organization. 2013. *WHO traditional medicine strategy: 2014- 2023*. World Health Organization.
- Yue, Y., Ma, H., Yuan, W., & Lin, S. 2018. Effect of ethanol/water solvent system on the extraction of saponins from *Camellia oleifera* seed cake and their antioxidant activity. *Industrial Crops and Products*, 112, 142–150.
- Yuliani, N. N., Smbara, Jefrin., Man, M. A., 2016. Uji aktivitas antioksidan fraksi etil asetat ekstrak etanol rimpang jahe merah (*Zingiber of icinale var. Rubrum*) dengan metode DPPH. *Jurnal Info Kesehatan*, 14(1).
- Yosephine, F., Prasetyo, S., & Prima, A. 2011. Pengaruh Rasio Biji Teh/Pelarut Air dan Temperatur pada Ekstraksi Saponin Teh Secara Batch. *Skripsi*. Bandung. Universitas Katolik Parahyangan Bandung.
- Zhang W., Zhao, W., Wang, Y., & Wei, Y. 2017. Saponins as modulators of nuclear receptors. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 57(13), 2689–2700.

## LAMPIRAN

### Lampiran 1 Surat Izin Penelitian

**SEKOLAH TINGGI ILMU KESEHATAN DIRGAHAYU SAMARINDA**  
Jl. Pasundan No.21 Telp (0541) 748335, Fax.(0541) 748335  
E-mail: stikesdirgahayusamarinda@gmail.com Website: www.stikesdirgahayusamarinda.ac.id  
SAMARINDA - 75122 - KALIMANTAN TIMUR

---

Samarinda, 29 April 2025


Nomor : 29S/STIKDS-Far/XI/2025  
Perihal : Surat Izin Melaksanakan Penelitian


Dengan Hormat,

Yang bertandatangan di bawah ini, Wakil Ketua I dan Ketua Program Studi Farmasi STIKES Dirgahayu Samarinda, menyatakan bahwa mahasiswa/I,

Nama : Agnes Ellisa  
NIM : 211148201167  
Program Studi : S-I Farmasi  
Judul Penelitian : Penentuan Kadar Saponin Ekstrak Etanol 70% Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L.) dan Daya Hambatnya terhadap Radikal Bebas DPPH  
Tempat Penelitian : Laboratorium Kimia dan Laboratorium Steril STIKES Dirgahayu Samarinda  
Waktu Penelitian : Mei 2025 - Juli 2025

Telah memenuhi kaidah akademik dan diizinkan untuk melaksanakan penelitian skripsi.

  
Wakil Ketua I  
Ns. Gracia Herni Pratiwi, M.Kep, Ph.D.NS  
NIK. 0778.A4.08

  
Ketua Program Studi  
apt. Raymon Simanullang., M.Pharm  
NIK. 0924.A4.18

## Lampiran 2 Hasil Determinasi



KEMENTERIAN PENDIDIKAN, KEBUDAYAAN, RISET DAN TEKNOLOGI  
UNIVERSITAS MULAWARMAN FAKULTAS KEHUTANAN  
LABORATORIUM EKOLOGI DAN KONSERVASI BIODIVERSITAS HUTAN TROPIS  
Alamat: kampus Unmul Gunung Kelua, Jl. Panajam Gd. B11 Lt.1 Samarinda 75123  
Telp./Fax (0541) 7273726, Email: lab.ekobio@fahutan.unmul.ac.id

Samarinda, 22 November 2024

Nomor : 356/UN17.4.08/LL/2024  
Lampiran : -  
Perihal : Hasil Identifikasi/Determinasi Tumbuhan

Kepada Yth.  
Bpk/Ibu/Sdr(i). Agnes Ellisa (211148201167)

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Dirgahayu Samarinda

di-  
Tempat

Dengan Hormat,

Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang saudara kirimkan ke "Herbarium Mulawarman", Laboratorium Ekologi dan Konservasi Biodiversitas Hutan Tropis Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman Samarinda, adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Plantae
Phylum	: Streptophyta
Class	: Equisetopsida
Order	: Malpighiales
Family	: Euphorbiaceae
Species	: <i>Jatropha curcas</i> L.
Synonyms	: <i>Castiglioni lobata</i> Ruiz & Pav., <i>Curcas curcas</i> (L.) Britton & Millsp., <i>Manihot curcas</i> (L.) Crantz, <i>Hydnocarpus corymbosus</i> (Choisy ex DC.) Seem., <i>Hedera corymbosa</i> Choisy ex DC.

Common name : Jarak Pagar

Demikian, semoga berguna bagi saudara

Tembusan:  
Arsip

Prof. Dr. Ir. Paulus Mattus, M.Sc  
NIP.195504111984031001

### Lampiran 3 Hasil Ekstrak Kental Daun Jarak Pagar



### Lampiran 4 Perhitungan Persen Rendamen

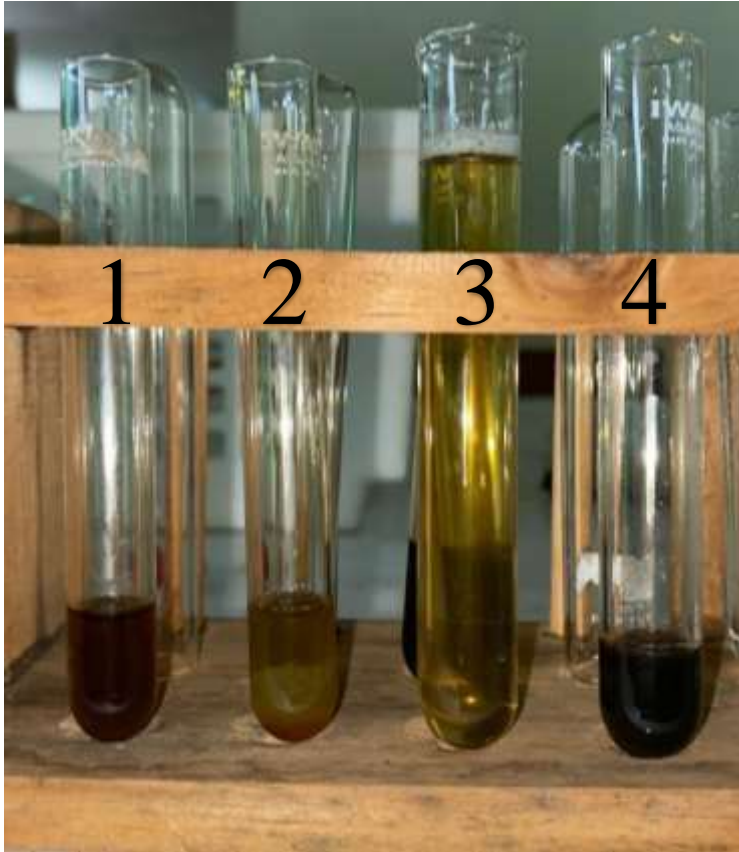
$$\% \text{ Rendamen} = \frac{\text{berat ekstrak}}{\text{berat serbuk simplisia kering}} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendamen} = \frac{31,54}{150} \times 100\%$$

$$\% \text{ Rendamen} = 21,02\%$$

### Lampiran 5 Hasil Skrining Fitokimia

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Flavonoid	Dragendroff	Kecoklatan	-(Negatif)
Alkaloid	HCl Pekat	Endapan jingga kecoklatan	+(Positif)
Saponin	Dikocok kuat dan HCl	Berbusa	+(Positif)
Tanin	FeCl <sub>3</sub>	Hijau kehitaman	+(Positif)



Ket :

(1) Flavonoid; (2) Alkaloid; (3) Saponin; (4) Tanin

### Lampiran 6 Perhitungan Nilai *R<sub>f</sub>*

$$R_f \text{ Baku} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

$$R_f \text{ Baku} = \frac{3,5}{5} = 0,7$$

$$R_f \text{ Ekstrak} = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh senyawa}}{\text{Jarak yang ditempuh oleh pelarut}}$$

$$R_f \text{ Ekstrak} = \frac{3,8}{5} = 0,76$$

### Lampiran 7 Perhitungan Kadar Saponin

Diketahui :

$$y = 0,0047x + 0,2529$$

$$a = 0,2529$$

$$b = 0,0047$$

### 1. Replikasi 1

$$\text{Absorbansi} = 0,313$$

$$Y = 0,0047x + 0,2529$$

$$0,313 = 0,0047x + 0,2529$$

$$0,0047x = 0,313 - 0,2529$$

$$x = \frac{0,0601}{0,0047}$$

$$x = 12,787 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 mL} &= \frac{0,01 \text{ L} \times 12,787 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{1,2787}{10} \times 100\% \\ &= 12,787 \% \end{aligned}$$

### 2. Replikasi 2

$$\text{Absorbansi} = 0,321$$

$$Y = 0,0047x + 0,2529$$

$$0,321 = 0,0047x + 0,2529$$

$$0,0047x = 0,321 - 0,2529$$

$$x = \frac{0,0681}{0,0047}$$

$$x = 14,489 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 mL} &= \frac{0,01 \text{ L} \times 14,489 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{1,4489}{10} \times 100\% \\ &= 14,489 \% \end{aligned}$$

### 3. Replikasi 3

$$\text{Absorbansi} = 0,324$$

$$Y = 0,0047x + 0,2529$$

$$0,324 = 0,0047x + 0,2529$$

$$0,0047x = 0,324 - 0,2529$$

$$x = \frac{0,0711}{0,0047}$$

$$x = 15,128 \text{ ppm}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar dalam 10 mL} &= \frac{0,01 \text{ L} \times 15,128 \text{ ppm} \times 10}{10 \text{ mg}} \times 100\% \\ &= \frac{1,5128}{10} \times 100\% \\ &= 15,128 \% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-Rata Kadar Saponin Total} = \frac{12,787 + 14,489 + 15,128}{3} = 14,135$$

## Lampiran 8 Pembuatan Larutan

### 1. Perhitungan Pengenceran Larutan

a. Larutan Saponin Baku konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 pm (dalam 10 mL)

Larutan induk = 1000 ppm

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Konsentrasi 20 ppm

$$VI = \frac{20 \times 10}{1000}$$

$$VI = 0,2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 40 ppm

$$VI = \frac{40 \times 10}{1000}$$

$$VI = 0,4 \text{ mL}$$

Konsentrasi 60 ppm

$$VI = \frac{60 \times 10}{1000}$$

$$VI = 0,6 \text{ mL}$$

Konsentrasi 80 ppm

$$VI = \frac{80 \times 10}{1000}$$

$$VI = 0,8 \text{ mL}$$

Konsentrasi 100 ppm

$$VI = \frac{100 \times 10}{1000}$$

$$VI = 1 \text{ mL}$$

b. Perhitungan Larutan Uji konsentrasi 20, 40, 60, 80, 100 pm (dalam 10 mL)

Larutan induk = 1000 ppm

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Konsentrasi 20 ppm

$$VI = \frac{20 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 40 ppm

$$V1 = \frac{40 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,4 \text{ mL}$$

Konsentrasi 60 ppm

$$V1 = \frac{60 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,6 \text{ mL}$$

Konsentrasi 80 ppm

$$V1 = \frac{80 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,8 \text{ mL}$$

Konsentrasi 100 ppm

$$V1 = \frac{100 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 1 \text{ mL}$$

c. Perhitungan Vitamin C konsentrasi 2, 4, 6, 8, 10 ppm (dalam 10 mL)

Larutan induk = 100 ppm

$$C1 \times V1 = C2 \times V2$$

Konsentrasi 2 ppm

$$V1 = \frac{2 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,2 \text{ mL}$$

Konsentrasi 4 ppm

$$V1 = \frac{4 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,4 \text{ mL}$$

Konsentrasi 6 ppm

$$V1 = \frac{6 \times 10}{1000}$$

$$V1 = 0,6 \text{ mL}$$

Konsentrasi 8 ppm

$$V1 = \frac{8 \times 10}{1000}$$

$$VI = 0,8 \text{ mL}$$

Konsentrasi 10 ppm

$$VI = \frac{10 \times 10}{1000}$$

$$VI = 1 \text{ mL}$$

## 2. Pembuatan DPPH

Ditimbang 10 gram DPPH kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquadest, diperoleh larutan DPPH 100 ppm.

### Lampiran 9 Perhitungan % Inhibisi Sampel

Perhitungan % Inhibisi Sampel

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$20 \text{ ppm} = \frac{0,982 - 0,841}{0,982} \times 100\% = 14,325$$

$$40 \text{ ppm} = \frac{0,982 - 0,724}{0,982} \times 100\% = 26,273$$

$$60 \text{ ppm} = \frac{0,982 - 0,624}{0,982} \times 100\% = 36,490$$

$$80 \text{ ppm} = \frac{0,982 - 0,551}{0,841} \times 100\% = 43,856$$

$$100 \text{ ppm} = \frac{0,982 - 0,441}{0,982} \times 100\% = 55,126$$

Nilai IC<sub>50</sub>

$$y = bx + a$$

$$50 = 0,4959x + 5,4582$$

$$x = \frac{50 - 5,4582}{0,4959}$$

$$x = 89,820$$

### Lampiran 10 Perhitungan % Inhibisi Vitamin C

Absorbansi DPPH = 0,982

Perhitungan % Inhibisi Vitamin C

$$\% \text{Inhibisi} = \frac{\text{absorbansi kontrol} - \text{absorbansi sampel}}{\text{absorbansi blanko}} \times 100\%$$

$$2 \text{ ppm} = \frac{0,982-0,796}{0,982} \times 100\% = 18,941$$

$$4 \text{ ppm} = \frac{0,982-0,589}{0,982} \times 100\% = 40,054$$

$$6 \text{ ppm} = \frac{0,982-0,473}{0,982} \times 100\% = 51,799$$

$$8 \text{ ppm} = \frac{0,982-0,362}{0,841} \times 100\% = 63,170$$

$$10 \text{ ppm} = \frac{0,982-0,246}{0,982} \times 100\% = 74,949$$

Nilai IC<sub>50</sub>

$$y=bx+a$$

$$50= 6,7566x+9,243$$

$$X = \frac{50-9,243}{6,7566}$$

$$X = 6,033$$

## Lampiran 11 Perhitungan Validasi Metode

### 1. Ketepatan (Accuracy)

#### 30 ppm

##### 1. Absorbansi 0,376

$$\% \text{Recovery} = \frac{30,314-2,137}{30} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{28,177}{30} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 93,923$$

##### 2. Absorbansi 0,379

$$\% \text{Recovery} = \frac{30,663-2,137}{30} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{28,526}{30} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 95,086$$

##### 3. Absorbansi 0,371

$$\% \text{Recovery} = \frac{29,733-2,137}{30} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{27,596}{30} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 91,985$$

$$\text{Rata-rata recovery} = \frac{93,923 + 95,086 + 91,985}{3} = 93,665$$

#### **40 ppm**

1. Absorbansi 0,457

$$\% \text{Recovery} = \frac{39,733 - 2,137}{40} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{37,596}{40} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 93,989$$

2. Absorbansi 0,462

$$\% \text{Recovery} = \frac{40,314 - 2,137}{40} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{38,177}{40} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 95,442$$

3. Absorbansi 0,461

$$\% \text{Recovery} = \frac{40,198 - 2,137}{30} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{38,061}{40} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 95,152$$

$$\text{Rata-rata recovery} = \frac{93,989 + 95,442 + 95,152}{3} = 94,861$$

#### **50 ppm**

1. Absorbansi 0,548

$$\% \text{Recovery} = \frac{50,314 - 2,137}{50} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{48,177}{50} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 96,353$$

2. Absorbansi 0,542

$$\% \text{Recovery} = \frac{49,616 - 2,137}{50} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = \frac{47,479}{50} \times 100\%$$

$$\% \text{Recovery} = 94,959$$

### 3. Absorbansi 0,546

$$\%Recovery = \frac{50,081-2,137}{50} \times 100\%$$

$$\%Recovery = \frac{47,944}{50} \times 100\%$$

$$\%Recovery = 95,889$$

$$\text{Rata-rata recovery} = \frac{96,353 + 94,959 + 95,889}{3} = 95,734$$

### 2. Perhitungan %RSD

$$\%RSD = \frac{SD}{X} \times 100\%$$

$$\%RSD = \frac{0,335}{64,686} \times 100\%$$

$$\%RSD = 0,518$$

### 3. Perhitungan LoD & LoQ

$$LoD = \frac{3 \times SD}{Slope (b)}$$

$$LoD = \frac{3 \times 0,0031}{0,0094}$$

$$LoD = 0,9914$$

$$LoQ = \frac{10 \times SD}{Slope (b)}$$

$$LoQ = \frac{10 \times 0,0031}{0,0094}$$

$$LoQ = 3,3047$$

## Lampiran 12 Sertifikat Bahan DPPH

**HiMedia Laboratories Pvt. Ltd.**

Certified ISO 9001-2015 and WHO GMP

**HIMEDIA**

C-40, Road No.21Y, MIDC, Wagle Ind. Area, Thane(W) - 400604  
Website : www.himedialabs.com, Email : info@himedialabs.com

### Certificate of Analysis

**Material Name:** 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl, For Molecular Biology

**CAS Number :** 1898-66-4

**Material Code :** MB263

**Lot Number :** 0000571815

**Molecular Formula :** C<sub>18</sub>H<sub>12</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>

**Report No :** 10000535596

TEST	SPECIFICATIONS	RESULTS
Appearance	Green to dark violet to black-gold to black crystals or powder or solid	Dark violet powder
Solubility	33.3 mg soluble in 1 mL of dimethylformamide	Complies
FTIR	Matches with the standard pattern	Complies
DNases	None detected	Complies
RNases	None detected	Complies
Assay (HPLC)	≥ 85.00%	97.78%

STATUS : APPROVED

QC Release Date : 2023-01-18

Expiry Date : 2027-01-12



Quality Control Chemist  
Chemical Division



Manager, Quality Control  
Chemical Division



Manager, Quality Assurance  
Chemical Division

This is to certify that this lot passes and it conforms to the above mentioned tests and specifications. The information given here is believed to be correct and accurate, however, both the information and products are offered without warranty for any particulars use, other than that specified in the current technical data.

*This document has been produced electronically and is valid with out signature.*

PAGE : 1 of 1

