

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Dan Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan pendekatan kuantitatif. Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan satu faktor yaitu metode ekstraksi, yang terdiri dari dua perlakuan utama: Ekstraksi menggunakan metode ultrasonik dan Ekstraksi dengan metode maserasi.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan mulai Juni hingga Agustus 2025. Dilakukan di laboratorium Kimia farmasi, Universitas Buana Perjuangan Karawang yang beralamat di Jl. Raya Telukjambe No. 1, Sirnabaya, Telukjambe Timur, Kabupaten Karawang, Provinsi Jawa Barat 41361.

3.3 Bahan dan Alat Penelitian

Berikut alat dan bahan untuk penelitian sebagai berikut :

3.3.1 Bahan

Daun pepaya Jepang segar, Etanol 70%, Reagen DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), Akuadest, Vitamin C (sebagai pembanding).

3.3.2 Alat

Alat ultrasonik (*ultrasonic cleaner* atau *ultrasonic bath*), Neraca analitik, Spektrofotometer UV-Vis, micropipette, Blender atau penghancur sampel, Oven pengering dan alat yang ada di laboratorium Universitas Buana Perjuangan Karawang.

3.4 Prosedur Penelitian

Tahapan prosedur penelitian sebagai berikut:

3.4.1 Determinasi Daun Pepaya Jepang

Sampel daun pepaya Jepang yang didapatkan dari hasil menanam sendiri yang digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu dilakukan proses identifikasi dan determinasi di Universitas Padjajaran untuk memastikan keaslian spesies. Hasil determinasi menunjukkan bahwa tanaman yang digunakan benar merupakan (*Cnidioscolus aconitifolius*).

3.4.2 Persiapan sampel

Daun pepaya Jepang yang hijau dan segar dicuci bersih, dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat teduh selama 5–7 hari ditutup dengan kain hitam. Daun kering dihaluskan menjadi serbuk menggunakan blender dan disimpan dalam wadah tertutup.

3.4.3 Ekstraksi

Proses ekstraksi dengan menggunakan metode Maserasi dan Ultrasonik

a. Metode Ultrasonik

Sebanyak 50 gram serbuk daun pepaya jepang dimaserasi dengan 500 mL etanol 70%. Campuran dimasukkan ke alat ultrasonik selama 15–30 menit (dengan variasi waktu jika diperlukan). Larutan difiltrasi dan residu diekstraksi ulang. Filtrat digabung dan diuapkan menggunakan waterbath.

b. Metode maserasi

Sebanyak 50 gram serbuk daun pepaya jepang diekstraksi dengan 500 mL etanol 70% menggunakan alat toples kaca dan didiamkan selama 24 jam. Ekstrak disaring lalu diuapkan dengan rotary evaporator. Lalu uap kan Kembali dengan waterbath sampai ekstrak kental.

Kedua ekstrak disimpan dalam botol gelap dan diberi label untuk uji lebih lanjut.

3.4.4 Skrining fitokimia

Proses pengujian Skirining Fitokimia meliputi:

a. Uji Alkaloid

Ambil 1 ml ekstrak maserasi/ultrasonic, tambahkan 2 ml HCl 2N, lalu kocok perlahan. Bagilah larutan ini ke dalam dua tabung reaksi yang berbeda, masing-masing ml. Pada tabung pertama, tambahkan reagen Dragendorff, keberadaan alkaloid akan ditandai dengan terbentuknya endapan merah atau jingga dan lapisan cairan HCl di bagian bawah. Pada tabung kedua, tambahkan 1 tetes reagen Meyer, jika terbentuk dua lapisan, lapisan atas akan berwarna hijau dan lapisan bawah berwarna putih.

b. Uji Flavonoid

Siapkan tabung reaksi, tambahkan 1 ml larutan, lalu masukkan magnesium serbuk secukupnya serta tambahkan 10 tetes HCl pekat. Jika reaksi positif, akan terbentuk endapan

c. Uji Tanin

Larutkan 10 mg ekstrak dalam 1 mL air atau etanol 70% masukan kedalam tabung reaksi lalu tambahkan 1–2 tetes FeCl_3 5% kemudian amati perubahan yang terjadi, tanin dapat dilihat dengan warna biru tua / hijau gelap pada sampel.

3.4.5 Uji Aktivitas Antioksidan (Metode DPPH)

Proses uji aktivitas Antioksidan (Metode DPPH)

a. Pembuatan larutan DPPH 0,1

Timbang serbuk sebanyak 3,94 mg masukan kedalam ke labu ukur 100ml larutkan dengan etanol p.a sampai tanda batas, kocok perlahan lalu masukan kedalam botol coklat lalu lapiasi dengan aluminium foil simpan di ruangan gelap hindari dari sinar matahari dan beri label.

b. Pembuatan larutan Vit C

Timbang asam ascorbat 100 mg masukan kedalam labu ukur 100 ml tambahkan etanol p.a sampai tanda batas, kocok perlahan lalu masukan ke dalam botol coklat lapiasi dengan aluminium foil beri label.

c. Pembuatan larutan stok ekstrak maserasi

Timbang ekstrak daun pepaya jepang maserasi sebanyak 100 mg masukan kedalam labu ukur 100 ml tambahkan etanol p.a sampai tanda batas, kocok perlahan lalu masukan kedalam botol coklat lapsi dengan alumunium foil beri label.

Untuk pembuatan larutan konsentrasi 12,5, 25, 50, 100 ppm dalam 10 ml. Pada konsentrasi 12,5 ppm, pipet dari larutan stok sebanyak 125 microliter masukan kedalam labu ukur 10 ml lalu larutkan etanol p.a sampai tanda batas lalu ke Masukan dalam vial yang dilapisi alumunium foil beri tanda. Pada konsentrasi 25 ppm, pipet dari larutan stok sebanyak 250 microliter masukan kedalam labu ukur 10 ml lalu larutkan etanol p.a sampai tanda batas lalu ke Masukan dalam vial yang dilapisi alumunium foil beri tanda. Pada konsentrasi 50 ppm, pipet dari larutan stok sebanyak 500 microliter masukan kedalam labu ukur 10 ml lalu larutkan etanol p.a sampai tanda batas lalu ke Masukan dalam vial yang dilapisi alumunium foil beri tanda. Pada konsentrasi 100 ppm, pipet dari larutan stok sebanyak 1000 microliter masukan kedalam labu ukur 10 ml lalu larutkan etanol p.a sampai tanda batas lalu ke Masukan dalam vial yang dilapisi alumunium foil beri tanda.

d. Pembuatan larutan ekstrak ultrasonik

Timbang ekstrak daun pepaya metode ultrasonic sebanyak 100 mg masukan kedalam labu ukur 100 ml tambahkan etanol p.a sampai tanda batas, kocok perlahan lalu masukan kedalam botol coklat lapsi dengan alumunium foil beri label. Untuk pembuatan larutan konsentrasi 12,5, 25, 50, 100 ppm dalam 10 ml. Pada konsentrasi 12,5 ppm, pipet dari larutan stok sebanyak 125 microliter masukan kedalam labu ukur 10 ml lalu larutkan etanol p.a sampai tanda batas lalu ke Masukan dalam vial yang dilapisi alumunium foil beri tanda. Pada konsentrasi 25 ppm, pipet dari larutan stok sebanyak 250 microliter masukan kedalam labu ukur 10 ml lalu larutkan etanol p.a sampai tanda batas lalu ke Masukan dalam vial yang dilapisi alumunium foil beri tanda. Pada konsentrasi 50 ppm, pipet dari larutan stok sebanyak 500 microliter masukan kedalam labu ukur 10 ml lalu

larutkan etanol p.a sampai tanda batas lalu ke Masukan dalam vial yang dilapisi alumunium foil beri tanda. Pada konsentrasi 100 ppm, pipet dari larutan stok sebanyak 1000 microliter masukan kedalam labu ukur 10 ml lalu larutkan etanol p.a sampai tanda batas lalu ke Masukan dalam vial yang dilapisi alumunium foil beri tanda.

e. Perlakuan metode DPPH

Larutan DPPH 0,1 mM dibuat dengan melarutkan DPPH dalam etanol, Ekstrak diencerkan pada berbagai konsentrasi (12,5ppm, 25ppm, 50ppm, 100 ppm), Masing-masing konsentrasi dicampur dengan larutan DPPH dan diinkubasi selama 30 menit dalam gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 517 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis, Uji dilakukan tiga kali untuk setiap konsentrasi.

3.5 Parameter Yang Diamati

Adapun parameter yang diamati sebagai berikut:

- Nilai IC_{50} dari masing-masing ekstrak (nilai konsentrasi yang mampu mereduksi 50% radikal DPPH).
- Persentase aktivitas antioksidan dihitung menggunakan rumus:

$$radical\ scavenging\ activity\ (\%) = \frac{A_o - A_i}{A_o} \times 100$$

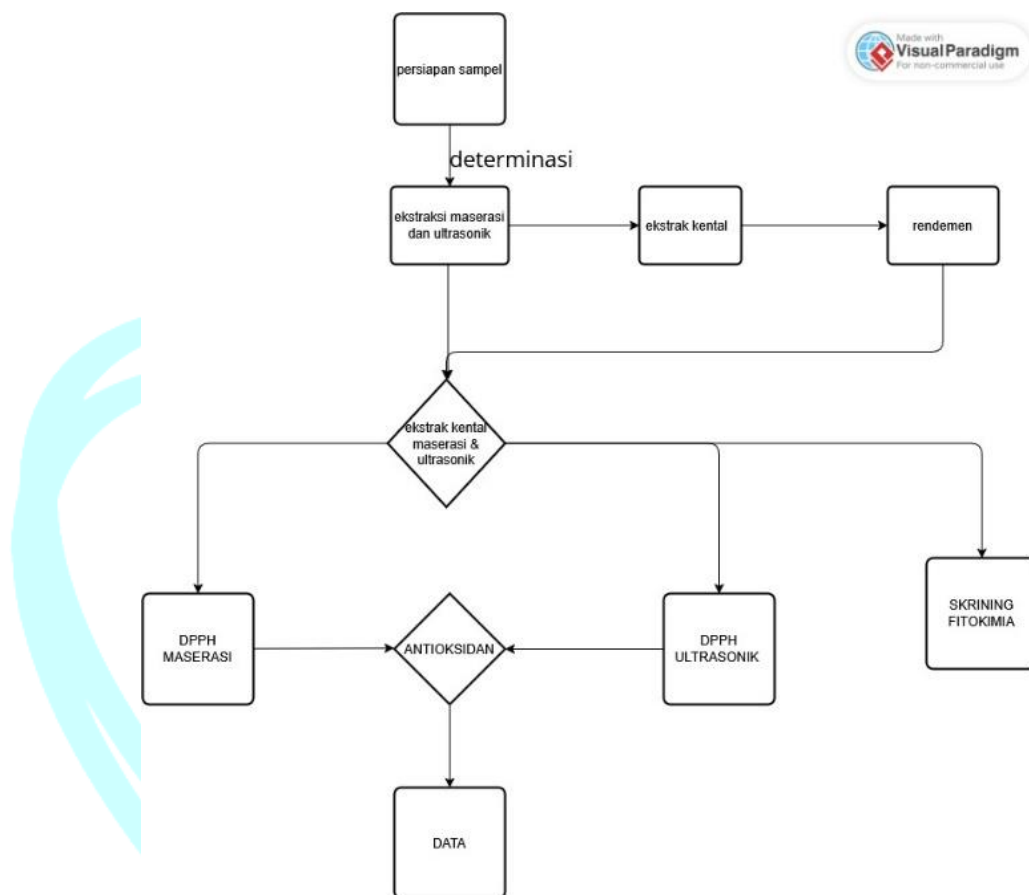
Keterangan :

AI = absorbansi DPPH tanpa ekstrak (kontrol).

A0 = absorbansi DPPH Dengan ekstrak

3.6 BAGAN ALUR PENELITIAN

Adapun bagan alur penelitian sebagai berikut:



Gambar 3.7 Bagan Alur Penelitian (sumber : Rostiana, 2019)