

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian ini adalah jenis penelitian eksperimen.

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang berada di Labat, Kecamatan Kota Raja, Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

2. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sabun cair yang mengandung ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.). Ekstrak daun pepaya yang digunakan dalam formulasi sabun diperoleh dari daun pepaya yang dipanen di Labat, Kecamatan Kota Raja, Nusa Tenggara Timur.

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmasi Bahan Alam, Laboratorium Kimia, dan Teknologi Sediaan Farmasi di Program studi D-III Farmasi, Poltekkes Kemenkes Kupang.

2. Waktu penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan April 2026 – Mei 2026.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah sediaan sabun cair ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) dengan konsentrasi 2,5% dan 5%.

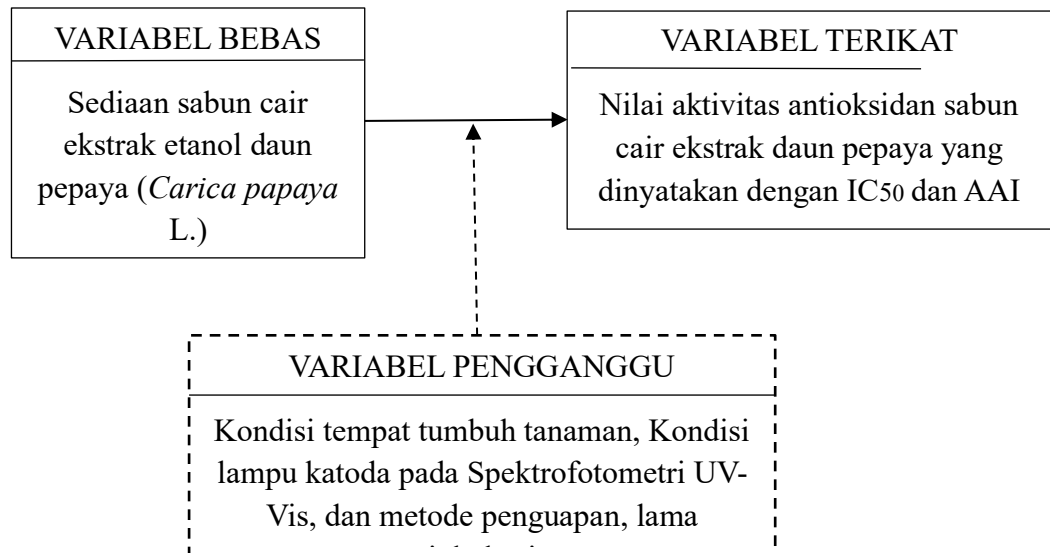
2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah nilai aktivitas antioksidan sabun cair ekstrak etanol daun pepaya (*Carica papaya* L.) yang dinyatakan dengan nilai IC₅₀ dan AAI.

3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu dalam penelitian ini adalah kondisi tempat tumbuh tanaman, kondisi lampu katoda pada spektrofotometri UV-Vis, metode penguapan, dan lama inkubasi.

E. Kerangka Konsep



Gambar 1. Hubungan antar variabel

Keterangan: ————— : Yang diteliti
 ----- : Tidak diteliti

F. Definisi Operasional

Tabel 1 Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Skala
1	Daun pepaya	Daun pepaya yang sehat, bebas hama, dan berwarna hijau matang, diperoleh dari kelurahan Labat kecamatan Kota Raja, kota Kupang	Nominal
2	Ekstrak daun pepaya	Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi daun pepaya menggunakan pelarut etanol 70%	Nominal
3	Sabun cair ekstrak daun pepaya	Sabun cair yang diformulasikan menggunakan ekstrak daun pepaya sebagai zat aktif	Nominal
4	Aktivitas antioksidan	Kemampuan sabun cair ekstrak daun pepaya untuk dapat meredam radikal DPPH (<i>2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl</i>) berdasarkan nilai IC_{50} dan AAI menggunakan spektrofotometer (Shimadzu tipe UV-1700).	Rasio
5	IC_{50}	Konsentrasi sampel sabun cair ekstrak etanol daun pepaya yang dapat meredam 50% kadar DPPH	Rasio
6	AAI	Indeks pengujian yang diperoleh dari pengujian aktivitas antioksidan sabun cair ekstrak daun pepaya	Rasio
7	Metode DPPH	Metode yang digunakan untuk menguji nilai aktivitas antioksidan dari sabun cair ekstrak daun pepaya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu tipe UV-1700).	Nominal
8	Spektrofotometer Uv-vis	Alat yang digunakan untuk melakukan pengukuran nilai aktivitas antioksidan sabun cair ekstrak daun pepaya	Interval

G. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah beaker glass (*pyrex*), timbangan analitik (*Shimadzu*), batang pengaduk (*pyrex*), cawan porselin

(pyrex) 100 ml, cawan porselin 50 ml, kertas saring, kertas perkamen, sendok tanduk, mikropipet, pipet tetes (pyrex), vial, bejana maserasi, labu ukur (pyrex), tabung reaksi, spektrofotometri UV-vis (*Shimadzu tipe UV-1700*), saringan, ayakan, alumunium foil, rotary evaporator, hot plate, waterbath, tissue (paseo).

2. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl*, ekstrak daun pepaya, KOH, minyak zaitun, sodium lauril sulfat, CMC, oleum rosae, aquades, alkohol 95%, alkohol 70% baku pembanding vitamin C.

H. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan bahan

Daun pepaya yang sehat, bebas hama dan berwarna hijau matang diambil di kelurahan Labat, Kecamatan kota Raja, Kota Kupang.

2. Pembuatan serbuk simplisia

Sampel daun pepaya dipanen dari tanaman pepaya yang sehat, bebas hama, dan berwarna hijau matang, kemudian dilakukan sortasi basah kemudian dicuci dengan air mengalir hingga bersih dan ditiriskan. Selanjutnya daun pepaya dilakukan perajangan untuk memperkecil ukuran, kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup menggunakan kain hitam hingga kering. Setelah kering dilakukan sortasi kering untuk menghilangkan pengotor kemudian ditimbang untuk mengetahui berat kering simplisia. Simplisia kering dihaluskan dengan cara diblender kemudian

diayak menggunakan ayakan No. 60 mesh lalu ditimbang sesuai kebutuhan (Depkes RI, 2017).

3. Maserasi simplisia daun pepaya

Sebanyak 1000 gram serbuk simplisia daun pepaya ditimbang kemudian dimaserasi dengan 7500 ml etanol 70% pada suhu kamar selama tiga hari, lalu disaring dengan sesekali pengadukan. Pengadukan bertujuan untuk menghomogenkan konsentration larutan. Ampas hasil maserasi kemudian dilakukan remaserasi dengan menggunakan 2500 ml etanol 70% pada suhu kamar selama dua hari, lalu disaring. Ekstrak yang didapat selanjutnya digabungkan dan disaring menggunakan kertas saring. Kemudian pelarut dihilangkan menggunakan *rotary vacuum evaporator* pada suhu 60°, Kemudian dipekatkan di *water bath* hingga mendapatkan ekstrak kental berupa cairan kemudian ditimbang dan dihitung rendemennya (Depkes RI, 2017).

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{Bobot simplisia}} \times 100\%$$

4. Skrining fitokimia

Pembuatan larutan uji untuk skrining fitokimia dilakukan dengan melarutkan 500 mg ekstrak daun pepaya ke dalam 50 mL etanol hingga diperoleh larutan homogen.

a. Identifikasi Alkaloid

Larutan uji sebanyak 2 mL diuapkan diatas cawan porselin. Residu yang dihasilkan kemudian dilarutkan dengan 5 mL HCl 2N. larutan

yang diperoleh dibagi ke dalam 4 tabung reaksi. Tabung pertama ditambahkan dengan tetes HCl 2N yang berfungsi sebagai blanko. Tabung kedua ditambahkan 3 tetes pereaksi Dragendorff, tabung ketiga ditambahkan 3 tetes pereaksi mayer, tabung kelima ditambahkan dengan 3 tetes pereaksi wagner (Depkes RI, 1995)

b. Identifikasi Flavonoid

Larutan uji sebanyak 1 mL diuapkan hingga kering, dibasahkan residu dengan aseton P, ditambahkan sedikit serbuk halus asam borat P dan serbuk halus asam oksalat P, dianaskan di atas penangas air dan dihindari pemanasan berlebihan. ditambahkan dengan 10 mL eter P. diamati di bawah sinar UV 366 nm, larutan berfluoresensi kuning intensif menunjukkan adanya flavonoid (Depkes RI, 1995)

c. Identifikasi saponin

Larutan uji sebanyak 10 mL dikocok vertical di dalam tabung reaksi selama 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 detik. Saponin ditunjukkan dengan terbentuknya busa setinggi 1-10 cm yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit (Depkes RI, 1995).

d. Identifikasi Tanin

Larutan uji sebanyak 1 mL direaksikan dengan larutan besi (III) klorida 10%, jika terjadi warna biru tua atau hitam kehijauan menunjukkan adanya tanin (Mahatrinny *et al.*, 2018).

5. Uji bebas etanol pada ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.)

Ekstrak daun pepaya yang sudah jadi kemudian dilakukan uji bebas etanol, pengujian ini dapat dilakukan dengan menambahkan 1 ml asam asetat dan 1 ml asam sulfat pekat yang kemudian dipanaskan. Ekstrak dinyatakan bebas etanol jika tidak ada bau ester (Nor *et al.*, 2018).

6. Formulasi sediaan sabun cair ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.)

Tabel 2 Formula sabun cair ekstrak daun pepaya

No	Komposisi bahan	Fungsi	Formulasi Sabun cair	
			F1	F2
1	Ekstrak daun pepaya	Bahan aktif	2,5%	5%
2	Minyak zaitun	Pelembab	30	30
3	KOH	Alkali	20	20
5	Na CMC	Pengental	1	1
6	SLS	Pembusa	3	3
7	Oleum rosae	Pengaroma	0,1	0,1
8	Aquades	Pelarut sampai	100	100

Sumber; modifikasi dari (Patmawati *et al.*, 2021)

7. Prosedur pembuatan sabun

Semua bahan ditimbang terlebih dahulu sesuai dengan takaran. Wadah atau botol yang digunakan ditimbang untuk menjamin ketepatan pengukuran. Dimasukkan minyak zaitun sebanyak 30 gram pada beaker glass sedikit demi sedikit sambil digerus sambil dipanaskan pada suhu 60° C. Ditambahkan kalium hidroksida 40% sebanyak 20 gram sedikit demi sedikit sambil terus diaduk dan dipanaskan hingga terbentuk pasta sabun. Ditambahkan ± 15 gram aquadest sedikit demi sedikit, lalu ditambahkan *sodium carboxymethyl cellulose* (CMC) sebanyak 1 gram yang telah dikembangkan menggunakan 20 gram aquadest, lalu diaduk hingga

homogen. Ditambahkan pengaroma, dan ekstrak etanol daun pepaya, gerus hingga homogen. Ditambahkan aquades hingga beratnya 100 gram, dan dimasukkan ke dalam wadah bersih (Patmawati *et al.*, 2021).

8. Pengujian aktivitas antioksidan sediaan sabun cair ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.)

a. Penetapan kontrol penelitian

Kontrol yang digunakan dalam penelitian ini terdiri atas blanko, kontrol negatif, dan kontrol positif. Blanko berupa etanol 95% digunakan untuk menetapkan nilai nol pada spektrofotometer UV-Vis sebelum dilakukan pengukuran sampel, sehingga absorbansi yang terukur hanya berasal dari reaksi antara DPPH dan zat uji (Molyneux, 2004). kontrol negatif berupa formula basis sabun cair tanpa penambahan ekstrak daun pepaya (F0), yang digunakan untuk mengetahui pengaruh basis sabun terhadap aktivitas antioksidan. kontrol positif yang digunakan adalah kuersetin, yang berfungsi sebagai pembanding aktivitas antioksidan terhadap sampel uji.

b. Penyiapan larutan uji

Sebanyak 250 mg sabun cair ekstrak daun pepaya (F1 dan F2) serta basis sabun cair (F0) ditimbang, kemudian masing-masing dilarutkan dengan etanol 70% hingga tanda batas pada labu ukur 50 mL sehingga diperoleh larutan induk dengan konsentrasi 1000 ppm. Dari larutan induk tersebut dibuat seri pengenceran dengan konsentrasi 500 ppm, 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, dan 2500 ppm (Patria, 2024).

c. Penyiapan larutan DPPH

Serbuk DPPH ditimbang sebanyak 5 mg, kemudian dilarutkan menggunakan etanol 95% hingga mencapai tanda batas dalam labu ukur 50 mL sehingga diperoleh larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM, yang dihitung berdasarkan bobot molekul DPPH sebesar 394,32 g/mol. Selama penyimpanan, labu ukur dilapisi alumunium foil dan dijauhkan dari paparan cahaya.

d. Penyiapan larutan pembanding

Larutan vitamin C dibuat dengan cara menimbang 5 mg serbuk vitamin C, dimasukkan ke dalam labu ukur 50 mL dan ditambah etanol 95% hingga tanda batas. Larutan ini disebut larutan induk dengan konsentrasi 100 ppm yang kemudian diencerkan menjadi konsentrasi yang lebih kecil yaitu 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm dan 25 ppm.

e. Penentuan panjang gelombang maksimum

Sebanyak 1 mL blanko yaitu etanol 95% dimasukkan kedalam vial, ditambahkan 4 mL larutan DPPH 0,2 mM, lalu ditutup dan diukur pada panjang gelombang 510-520 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis (Molyneux, 2004).

f. Pengukuran absorbansi peredaman radikal DPPH

Sebanyak 1 mL larutan blanko, larutan uji, dan larutan pembanding pada berbagai konsentrasi diambil kemudian masing-masing ditambahkan 4 mL larutan DPPH ke dalam vial dan dikocok secara merata untuk memastikan homogenitas larutan. Campuran tersebut dibiarkan bereaksi

selama 30 menit pada kondisi terkontrol, kemudian absorbansinya diukur menggunakan spektrofotometer pada Panjang gelombang maksimum DPPH.

I. Analisis Data

Hasil dari pengukuran absorbansi yang dilakukan dengan spektrofotometer UV-Vis digunakan untuk menentukan presentase (%) pengurangan radikal bebas DPPH. Presentase pengurangan radikal bebas DPPH dihitung dengan menerapkan rumus:

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

Keterangan:

Absorbansi blanko : serapan radikal DPPH 0,2 mM

Absorbansi sampel : serapan sampel terhadap radikal 0,2 mM

Daya aktivitas antioksidan peredaman radikal bebas DPPH (presentase peredaman) sabun cair ekstrak etanol daun pepaya dianalisis, dan nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan analisis regresi linear:

$$y = a + bx$$

Keterangan:

y = persentase aktivitas antioksidan

x = konsentrasi larutan uji

a = tetapan slope (perpotongan garis di sumbu y)

b = tetapan intersep

Hasil perhitungan dimasukkan kedalam persamaan regresi dengan konsentrasi ekstrak sebagai absis (sumbu x) dan nilai persentase peredaman (aktivitas antioksidan) sebagai ordinatnya (sumbu y). Hasil analisis regresi linear berupa nilai x, dimasukkan kedalam rumus: $IC_{50} = \text{anti Ln}(x)$ dan ditentukan tingkat kekuatan antioksidan berdasarkan nilai IC_{50} .

Perhitungan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*) digunakan untuk mengetahui index aktivitas antioksidan dengan rumus:

$$\text{Nilai AAI} = \frac{\text{konsentrasi DPPH (ppm)}}{IC_{50} \text{ sampel (ppm)}}$$

Parameter dari Nilai AAI berdasarkan Scherer *et al.*, (2009) yaitu: aktivitas antioksidan berdasarkan nilai AAI (*Antioxidant Activity Index*), dikatakan lemah sebagai antioksidan jika nilai $AAI < 0.5$, aktivitas antioksidan sedang jika $0,5 < AAI < 1$ aktivitas antioksidan kuat $1 < AAI < 2.0$ dan aktivitas antioksidan sangat kuat jika nilai $AAI > 2.0$ (Jawa, 2019).