

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimen.

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Daun pepaya dan kulit buah pepaya (*Carica papaya* L) yang berada di Liliba, Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur.

2. Sampel dan teknik sampling

a. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol 70% daun dan kulit buah pepaya (*Carica papaya* L), yang mana daun dan kulit buah tersebut diambil lahan kering universitas Nusa Cendana, Kelurahan Penfui, Kecamatan Maulafa, Nusa Tenggara Timur.

b. Teknik sampling

Pemilihan sampel dilakukan secara *purposive sampling* berdasarkan kondisi bahan, yaitu daun pepaya segar dan kulit buah pepaya matang.

C. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

Pelaksanaan penelitian bertempat di Laboratorium Kimia, Teknologi Sediaan Farmasi dan Farmasi Bahan Alam Program Studi D-III Farmasi Kemenkes Poltekkes Kupang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Februari sampai Mei 2026

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Perlakuan yang diberikan berupa ekstrak etanol 70% daun dan kulit buah pepaya (*Carica papaya* L.).

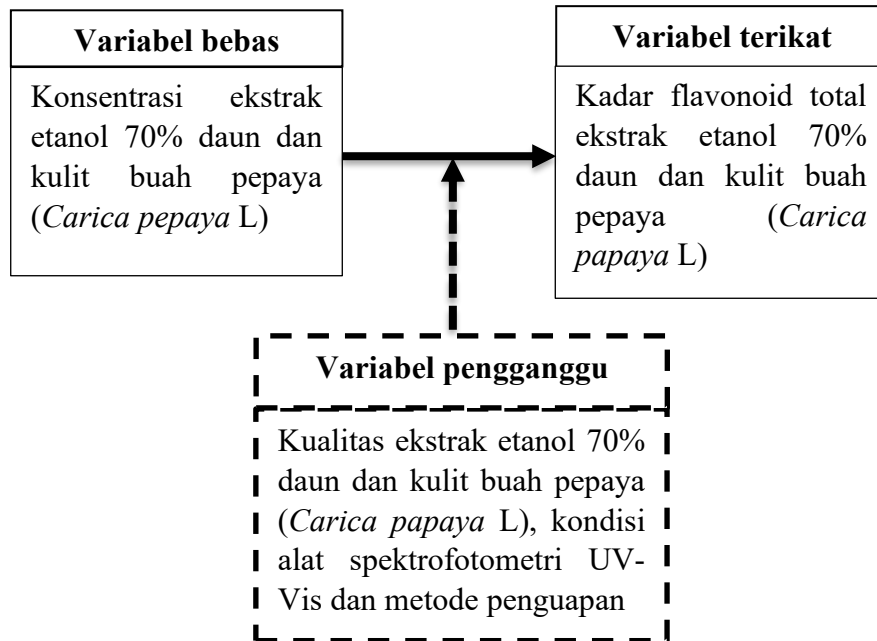
2. Variabel terikat

Parameter yang diamati ialah kadar flavonoid total dari kedua ekstrak tersebut.

3. Variabel pengganggu

Faktor yang berpotensi memengaruhi hasil meliputi mutu ekstrak, kondisi spektrofotometer UV-Vis, serta proses penguapan.

E. Kerangka Konsep



Hubungan antar variabel

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

F. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi operasional	Alat ukur	Skala
1.	Daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L)	Daun pepaya (<i>Carica papaya</i> L) segar berwarna hijau		Nominal
2.	Kulit buah pepaya (<i>Carica papaya</i> L)	Kulit buah pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) yang berasal dari buah pepaya masak, ditandai dengan warna kulit kuning–oranye		Nominal
3.	Ekstrak etanol	Ekstrak maserasi daun dan kulit buah pepaya (<i>Carica papaya</i> L.) dengan etanol 70% dipekatkan pada 55 °C menggunakan <i>rotary evaporator</i> , lalu diuapkan pada 50 °C dengan <i>water bath</i>		Nominal
4.	Kadar flavonoid total	Total flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol 70% daun pepaya segar dan kulit buah pepaya masak (<i>Carica papaya</i> L.) yang dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang tertentu dengan metode kompleksasi $AlCl_3$.	Spektrofotometer UV-Vis	Rasio

G. Prosedur Penelitian

1. Alat dan Bahan

a. Alat

Penelitian ini menggunakan beberapa peralatan, meliputi Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-2600), neraca analitik dan digital, *Herbs grinder* MKS-ML200, bejana maserasi, cawan porselin, batang pengaduk, pipet tetes, corong, *rotary evaporator*, *aluminum foil*, saringan putih, spatel, kertas perkamen dan saring, labu ukur 25 mL dan 100 mL (IWAKI), vial, pipet ukur, bola penghisap, *beaker glass* 250 mL (Pyrex), serta erlenmeyer 250 mL (Pyrex).

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun pepaya (*Carica papaya* L), kulit buah pepaya (*Carica papaya* L), baku kuersetin, etanol 70%, aluminium (III) klorida p.a, natrium asetat, HCl pekat, serbuk magnesium, dan aquadest.

2. Pengambilan sampel

Tumbuhan akan diambil atau dipetik bagian daun segar dari pepaya segar sebanyak 2 kg dan buah pepaya masak sebanyak 2 kg. Daun pepaya dan buah pepaya (*Carica papaya* L) akan diambil di lahan kering universitas Nusa Cendana, Kelurahan Penfui, Kecamatan Maulafa, Nusa Tenggara Timur.

3. Pembuatan Simplisia

Sampel daun dan kulit pepaya (*Carica papaya* L) diolah menjadi serbuk simplisia melalui beberapa tahap, yaitu pencucian, pengeringan, sortasi, perajangan, pengeringan lanjutan, dan pembuatan serbuk. Tahap pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran dan tanah yang masih melekat pada bahan simplisia. Pencucian dilakukan menggunakan air bersih yang mengalir. Selanjutnya, sampel dirajang untuk mempermudah proses pengeringan. Setelah perajangan, sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan hingga setengah kering dan dilanjutkan dengan pengoven pada suhu 50 °C. Bahan kering diperiksa melalui sortasi untuk menghilangkan kotoran dan bagian tanaman yang mengalami kerusakan selama pengeringan. Tahap akhir berupa penyerbukan simplisia yang bertujuan untuk memperbesar luas permukaan simplisia agar mudah ditarik oleh pelarut selama proses ekstraksi (Nugroho, 2017).

4. Pembuatan ekstrak

Ditimbang sebanyak 300 gram serbuk simplisia daun dan 200 gram kulit buah pepaya (*Carica papaya* L), lalu dimasukkan ke dalam masing-masing wadah maserasi. Kemudian ditambahkan 3 liter etanol 70% sebagai pelarut. Proses maserasi berlangsung selama 5 hari dengan pengadukan setiap 24 jam. Campuran disaring pada hari ketiga untuk memisahkan filtrat dari residu, yang kemudian dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 55 °C dan kecepatan 50 rpm

Residu hasil penyaringan diremaserasi dengan sisa pelarut, dan filtrat kedua diuapkan pada kondisi yang sama hingga diperoleh ekstrak kental. yang rendemennya dihitung menggunakan rumus yang telah ditentukan (Wardani, 2021). Perhitungan rendemen dilakukan berdasarkan persamaan berikut :

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

5. Identifikasi fitokimia senyawa flavonoid

Ekstrak ditimbang sebanyak 0,1 gram dalam cawan porselin, kemudian dipanaskan lalu ditambahkan sedikit serbuk magnesium dan 3 tetes HCl pekat. Sampel selanjutnya diaduk dan diamati perubahan warna yang. Terbentuknya warna merah atau jingga pada ekstrak menunjukkan keberadaan senyawa flavonoid (Potti *et al.*, 2022).

6. Penetapan kadar flavonoid total

a. Pembuatan larutan induk kuersetin 100 ppm

Sebanyak 10 mg baku kuersetin ditimbang, kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL dan dilarutkan dengan etanol 70% hingga tanda batas, lalu dihomogenkan (Asmorowati *et al.*, 2019).

b. Penentuan panjang gelombang

Pengukuran diawali dengan menyiapkan campuran kuersetin bersama AlCl_3 10% sebanyak 0,1 mL dan natrium asetat 1 M sebanyak 0,1 mL. Ke dalam campuran tersebut ditambahkan etanol 70% 1,5 mL serta akuades 2,8 mL, kemudian dibiarkan selama 30

menit. Selanjutnya, absorbansi dibaca pada 400–800 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk menentukan panjang gelombang dengan serapan maksimum (Islamiyati *et al.*, 2024).

c. Pembuatan kurva baku kuersetin

Larutan induk digunakan untuk menyiapkan larutan baku pada konsentrasi 30, 45, 60, 75, dan 90 ppm dalam labu ukur 25 mL. Selanjutnya, setiap larutan diambil 0,5 mL dan dimasukkan ke vial, kemudian ditambahkan 0,1 mL AlCl_3 10%, 0,1 mL natrium asetat 1 M, 1,5 mL etanol 70%, serta 2,8 mL akuades. Larutan dikocok hingga homogen, kemudian diukur absorbansinya pada panjang gelombang maksimum yang telah ditentukan sebelumnya

d. Penetapan kadar flavonoid total

Ekstrak etanol daun dan kulit buah pepaya (*Carica papaya* L.) masing-masing ditimbang sebanyak 0,2 g, kemudian dilarutkan dalam 25 mL etanol 70% dan diaduk selama 30 menit menggunakan pengaduk magnetik. Larutan disaring ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan etanol 70% melalui penyaring hingga tanda batas. Preparasi sampel dilakukan sebanyak tiga replikasi untuk masing-masing ekstrak. Pengujian dilakukan dengan mencampurkan 0,5 mL larutan sampel bersama AlCl_3 10% (0,1 mL), natrium asetat 1 M (0,1 mL), etanol 70% (1,5 mL), dan akuades (2,8 mL). Campuran selanjutnya didiamkan pada kondisi ruang selama

30 menit agar reaksi berlangsung, kemudian absorbansi diukur menggunakan spektrofotometer pada lamda maksimal.

H. Analisis Data

Hasil pengukuran spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menentukan konsentrasi flavonoid pada kedua ekstrak. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dimasukkan ke dalam persamaan regresi linear dari kurva baku, dengan hubungan konsentrasi dan absorbansi mengacu pada hukum Lambert–Beer.

$$y = ax + b$$

Keterangan :

y = Absorbansi (Serapan)

x = Konsentrasi (µg/ml)

b = Slope (kemiringan) kurva linier

a = Intersep (titik potong kurva terhadap sumbu y)

Selanjutnya dilakukan perhitungan konsentrasi kadar flavonoid total menggunakan rumus:

$$F = \frac{C \times V \times Fp}{m}$$

Keterangan :

C = konsentrasi (mg/mL)

V = volume sampel (mL)

fp = Faktor pengenceran

m = bobot sampel (g)