

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah jenis penelitian eksperimen.

B. Waktu Dan Tempat Penelitian

1. Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Teknologi Sediaan Farmasi Prodi Farmasi Kemenkes Poltekkes Kupang.

2. Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan Februari- April tahun 2026

C. Populasi Dan Sampel

1. Populasi

Populasi dalam penelitian ini adalah tanaman bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br) yang diambil dari Desa Otan Kabupaten Kupang Nusa Tenggara Timur yaitu daun bunga putih yang diambil berwarna hijau tua dan masih segar.

2. Sampel dan Teknik Sampling

a. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br) yang berasal dari Desa Otan.

b. Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan dalam penelitian kali ini adalah purposive *sampling*, dengan kriteria daun berwarna hijau tua dan masih segar.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Konsentrasi ekstrak etanol daun bunga putih dalam formulasi krim (misalnya 10%, 15%, 20%).

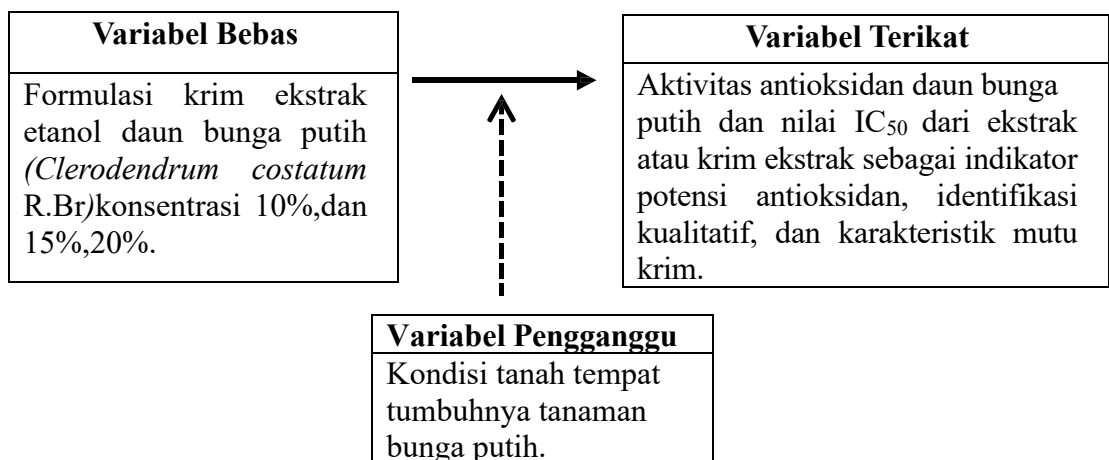
2. Variabel Terikat

Aktivitas antioksidan daun bunga putih dan nilai IC_{50} dari ekstrak atau krim ekstrak sebagai indikator potensi antioksidan, identifikasi kualitatif, dan karakteristik mutu fisik krim.

3. Variabel Pengganggu

Variabel pengganggu adalah kondisi tanah tempat tumbuhnya daun bunga putih.

E. Kerangka Konsep



Keterangan: Diteliti : —————

Tidak diteliti : — — — —

Gambar 1. Bagan Kerangka Konsep

F. Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No	Indikator Utama	Definisi Operasional	Alat Ukur	Skala
1	Aktivitas antioksidan	Kemampuan ekstrak etanol daun bunga putih dalam meredam radikal dengan menggunakan DPPH	Spektrofotometer UV-Vis	Rasio
2	Daun Bunga (<i>Clerodendrum costatum</i> R.Br)	Daun bunga putih (<i>Clerodendrum costatum</i> R.Br.) yang diambil dari Desa Otan Kecamatan Semau	—	Nominal
3	Ekstra etanol Daun Bunga Putih	Ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi daun bunga putih <i>Clerodendrum costatum</i> menggunakan pelarut etanol 70%	—	Nominal
4	Formulasi Krim	Proses pencampuran ekstrak dengan bahan dasar krim (basis krim) untuk konsentrasi 10%,15%,20% menghasilkan sediaan semi-padat yang stabil dan homogen.	—	Nominal
5	Mutu Krim	Karakteristik fisik krim yang mengandung ekstrak daun bunga putih dilakukan melalui serangkaian uji untuk mengevaluasi kualitas dan kestabilan sediaan. Pengujian tersebut meliputi uji organoleptis, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar, dan uji tipe krim.	—	Nominal
6	Nilai IC ₅₀	Parameter konsentrasi yang ekuivalen memberikan 50% aktivitas antioksidan. Semakin kecil harga IC ₅₀ maka antioksidan itu semakin kuat dalam menangkal radikal bebas atau dapat dikatakan memiliki aktivitas antioksidan yang semakin kuat.	Spektrofotometer UV-Vis	Rasio

G. Alat Dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah Spektrofotometer UV-Vis, neraca analitik, neraca digital, toples kaca, labu ukur (Pyrex), beaker glass (Iwaki), gelas ukur (pyrex), blender, rotary evaporator, tabung reaksi (Pyrex), cawan porselin, pipet tetes, aluminium foil, rak tabung reaksi, pe costatumn jepit tabung, kaca arloji, sendok tanduk, kertas perkamen, labu ukur 25 mL (Iwaki), labu ukur 50 Ml (Iwaki), labu ukur 100 mL (Iwaki), beaker glass 250 mL dan kertas saring. Bahan yang digunakan adalah daun bunga putih (*clerodendrum costatum* R.Br), alkohol 96% , asam stearat, paraffin liq, nipasol, nipagin, propilenglikol, TEA (Trietanolamin), setil alkohol, cera alba, dan aquadest (Pharmaceutical guarantee).

H. Prosedur Penelitian

1. Pembuatan serbuk simplisia daun bunga putih

Dalam proses pembuatan simplisia, bagian yang diambil adalah daun yang masih segar dan tampak muda, yang ditandai oleh tanaman yang mulai berbunga. Untuk memanen ujung daun, disarankan mengambil daun yang masih segar dan berwarna hijau tua. Daun pertama-tama disortir, kemudian 2 kg daun bunga ditimbang, setelah itu dicuci bersih, ditiriskan, dan dikeringkan. Proses pengeringan dilakukan menggunakan sinar matahari tidak langsung yang ditutupi dengan kain hitam. Kemudian, berat daun diukur kembali setelah dikeringkan dan penyusutan akibat pengeringan dihitung. Setelah itu, daun dipotong menjadi potongan kecil dan digiling menggunakan blender (Gunawan, Didik, dan Mulyani, 2010). Produksi ekstrak dari sampel simplisia

bubuk daun bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br) dilakukan dengan maserasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarut. Sebanyak 200 gram bubuk simplisia ditimbang dan dimasukkan ke dalam wadah kaca. Kemudian, ditambahkan 2000 ml etanol 70%. Serbuk daun bunga putih simplisia dan pelarut yang telah dicampur kemudian ditutup rapat dan dilindungi dari sinar matahari. Proses perendaman berlangsung selama 3 hari sambil diaduk setiap 8 jam. Setelah 3 hari, campuran simplisia dan metanol disaring untuk memperoleh ekstrak. Residu direndam kembali dengan 500 mL etanol selama 1 hari, disaring lagi, dan ekstrak diperoleh. Ekstrak yang diperoleh kemudian diuapkan, dipisahkan dari ambaran, dan dikonsentrasikan menggunakan rotary evaporator pada 40°C hingga diperoleh ekstrak etanol yang kental (Farmakope Herbal Indonesia).

2. Pembuatan Sediaan Krim

Krim dibuat dalam 3 formula, masing-masing formula dengan berat 5 gram. Pembuatan krim ini menggunakan fase emulsi dengan tipe M/A dengan masing-masing komponen dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Formulasi sediaan krim ekstrak daun bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br)

Nama Bahan	Jumlah (%)	Fungsi
Paraffin liq	5	Emulsi
Nipasol	0,02	Pengawet
Nipagin	0,12	Pengawet
Propilenglikol	20	Humektan
Trietanolamin	2	Basis
Asam Stearat	5	Basis
Setil Alkohol	2	Pengental
Cera Alba	20	Basis
Aquadest	Ad 100%	Fase air

Tabel 3. Formulasi sediaan krim ekstrak daun bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br)

No	Komposisi	Formula (%)			
		FB	F1	F2	F3
1.	Ekstrak daun bunga putih	0	10	15	20
2.	Basis krim ad	100	100	100	100

Keterangan formulasi:

FB: Formulasi tanpa ekstrak daun bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br)

F1: Formulasi dengan ekstrak daun bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br)10%

F2: Formulasi dengan ekstrak daun bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br)15%

F3: Formulasi dengan ekstrak daun bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br)20%

3. Prosedur Pembuatan krim Dari Ekstrak Daun Bunga Putih

Prosedur pembuatan krim dimulai dengan pelelehan fase minyak (Asam Stearat, Parafin liq, Setil alkohol, TEA, dan Cera Alba, Nipasol) dipanaskan hingga temperatur 70°C (Campuran pertama). Fase air disiapkan (Propilen glikol, dan Nipagin) dilarutkan dengan air panas (Campuran kedua). Campuran kedua (fase air) sedikit demi sedikit dimasukkan ke dalam campuran pertama (fase minyak) sambil terus diaduk. Setelah tercampur lalu digerus dalam mortir yang telah dipanaskan sampai terbentuk massa krim. Penggerusan dilakukan hingga suhu ruang. Pengadukan berlanjut hingga campuran mencapai konsistensi krim lalu Ekstrak daun bunga putih ditambahkan terakhir, krim yang sudah terbentuk kemudian di masukan ke dalam pot krim. (Yusriyani & Dewi, 2020)

I. Identifikasi kandungan senyawa fitokimia

a. Alkaloid

Sebanyak 1 g ekstrak daun bunga putih dan masukkan kedalam tabung reaksi dengan 3 tetes asam sulfat 2 N dilakukan dengan menambahkan 2-3 tetes reagen Wagner dan Dragendorff. Kehadiran alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat atau kemerahan (Laut *et al.*, 2022).

b. Tanin

Sebanyak 0,5 g ekstrak daun bunga putih senyawa tanin dilakukan dengan menempatkan ke dalam tabung reaksi, kemudian menambahkan 5 tetes FeCl₃ 0,1%. Terbentuknya warna biru-hitam, hijau, atau biru-hijau serta endapan menunjukkan adanya tanin (Putri *et al.*, 2025).

c. Flavonoid

Timbang 1 g ekstrak daun bunga putih dan masukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian tambahkan 0,5 g bubuk Mg (magnesium) dan tambahkan 3 tetes HCl pekat. Ekstrak akan menunjukkan hasil positif untuk flavonoid jika muncul warna merah, oranye, atau merah kehitaman (Istiqomah *et al.*, 2025)

d. Saponin

Sebanyak 1g ekstrak ditambahkan ke 10 mL air panas sambil diaduk selama 1 menit, kemudian ditambahkan 2 tetes 1 N HCl. Jika busa yang terbentuk tetap stabil selama ± 7 menit, ekstrak dianggap mengandung saponin (Suoth *et al.*, 2022).

J. Evaluasi Sediaan Krim

a. Uji Organoleptik

Dilakukan dengan mengamati berbagai aspek, termasuk bentuk, aroma, warna, dan tekstur dari sediaan krim yang telah dibuat (Prasetya & Endriyatno, 2025).

b. Uji Homogenitas

Sejumlah kecil krim diolesi pada kaca objek dan susunan partikel yang terbentuk atau ketidakhomogenan diamati. Krim harus menunjukkan komposisi homogen dan tidak ada bintik-bintik yang terlihat (Yuliani *et al.*, 2024).

c. Uji pH

Dilakukan dengan menggunakan pH meter. pH meter dikalibrasi menggunakan larutan buffer. Pengukuran dilakukan pada suhu 25°C dengan mencelupkan elektroda pH meter yang telah dibilas dengan air suling ke dalam sampel. Nilai pH ditentukan setelah angka yang terbaca pada pH meter stabil. Rentang toleransi pH untuk sediaan krim berkisar antara 4,0- 7,5 (Yuliani *et al.*, 2024).

d. Uji Daya Sebar

Dilakukan sebanyak 0,5gram krim diletakkan di atas kaca objek, kemudian ditutup dengan kaca penutup lain. Setelah itu, beban seberat 50gram ditambahkan menggunakan timbangan, kemudian diameter sebarannya diukur. Berdasarkan SNI, daya sebar untuk formulasi topikal yang baik adalah pada 5-7 cm (Patandung & Ishariyanto, 2025).

e. Uji Daya Lekat

Timbang 0,5 gram krim dan oleskan pada sebuah lempeng kaca, kemudian letakkan beban seberat 250 gram di atasnya selama 5 menit. Angkat beban dan pisahkan kedua lempeng kaca yang menempel sambil mencatat waktu hingga lempeng-lempeng tersebut terpisah. Standar daya lekat untuk krim yang baik adalah >4 detik (Paneo *et al.*, 2024).

f. Uji Viskositas

Menggunakan viskometer *Brookfield*, dengan memasang spindel no. 4 pada alat. Kemudian, dicelupkan ke dalam preparat sampai batas tertentu dan kecepatan 30 rpm pada suhu 25°C. Setiap pengukuran dibaca pada skala (pembacaan dial) ketika jarum merah telah stabil. Nilai viskositas dalam *centipoise* (cps) diperoleh dari pembacaan dial hasil perkalian dengan faktor koreksi untuk setiap spindel. Persyaratan viskositas yang baik untuk preparat semi-padat adalah 4000 – 40000 cps (Yuliani *et al.*, 2024).

g. Uji Tipe Krim

Pengujian jenis krim menggunakan air suling melibatkan penimbangan 1gram krim, kemudian menaruhnya ke dalam gelas beaker dan menambahkan air suling. Jika krim dapat tercampur secara homogen dengan air, maka krim tersebut adalah tipe O/W, dan jika krim terpisah menjadi fase setelah ditambahkan air, maka krim tersebut adalah tipe W/O (Maleh *et al.*, 2024).

K. Uji antioksidan krim ekstrak daun bunga putih

a. Penyiapan larutan uji krim ekstrak daun bunga putih

Krim ekstrak daun bunga putih ditimbang sebanyak 1 g, kemudian dilarutkan dengan etanol 95% didalam labu ukur 100 ml sampai tanda batas, sehingga diperoleh konsentrasi 10000 ppm. Larutan krim ekstrak daun bunga putih dari larutan induk tersebut dibuat dengan seri konsentrasi pengenceran yaitu 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, 50 ppm, dan 60 ppm (Ulfah *et al.*, 2024).

b. Penyiapan larutan DPPH

Ditimbang serbuk DPPH sebanyak 10 mg, kemudian dilarutkan dengan etanol 95% sampai tanda batas pada labu ukur 50 mL, sehingga diperoleh konsentrasi 0,5 mM, yang dihitung terhadap BM DPPH sebesar 394,32 g/mol. Labu takar yang digunakana dilapisi aluminium foil dan disimpan terhindar dari cahaya matahari.

c. Penyiapan larutan pembanding

Larutan pembanding kuersetin, dibuat dengan ditimbang sebanyak 10 mg kuersetin dimasukkan ke dalam labu ukur 100 ml ditambahkan etanol 95% dikocok hingga homogen dicukupkan dengan etanol 95% sampai tanda batas, sehingga didapat konsentrasi larutan kuersetin 100 ppm. Lalu dibuat larutan uji pembanding dengan konsentrasi 1 ppm, 2 ppm, 3 ppm, 4 ppm dan 5 ppm dengan dipipet sebanyak 0,1 ml, 0,2 ml, 0,3 ml, 0,4 ml dan 0,5 ml dari larutan induk dimasukkan ke dalam labu ukur 25 ml ditambahkan etanol 95% sampai tanda batas (Rahayu *et al.*, 2021).

d. Penentuan panjang gelombang

Sebanyak 4 mL blanko yaitu etanol 95% dimasukkan kedalam vial, ditambahkan 1 mL larutan DPPH, lalu ditutup dan diukur pada Panjang gelombang 515-520 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

e. Absorbansi peredaman radikal DPPH

Blanko, larutan uji dan larutan pembanding yang dibuat dalam beberapa konsentrasi diambil sebanyak 4 mL ditambahkan 1 mL larutan DPPH dimasukkan dalam vial lalu dikocok. Larutan didiamkan selama 30 menit, kemudian dibaca serapannya pada Panjang gelombang maksimum. Blanko yang digunakan adalah etanol 95%.

L. Analisis Data

1. Analisis Deskriptif Kuantitatif

Analisis data menggunakan metode deskriptif yaitu formulasi sediaan krim ekstrak etanol daun bunga putih dievaluasi melalui serangkaian uji fisik antara lain uji organoleptik, uji homogenitas, uji pH, uji daya sebar dan uji tipe krim untuk memastikan kualitas krim tersebut.

2. Nilai IC₅₀

Hasil pengukuran absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis digunakan untuk menghitung persentase penangkapan radikal bebas DPPH. Persentase (%) penangkapan radikal bebas DPPH dihitung menggunakan

rumus :

$$\% \text{ Inhibisi} = \frac{(\text{Abs blanko} - \text{Abs sampel})}{\text{Abs blanko}} \times 100\%$$

Keterangan :

Abs blanko : serapan radikal DPPH 0,5 mM (milimolar)

Abs sampel : serapan sampel terhadap radikal 0,5 mM (milimolar)

Daya aktivitas antioksidan dalam menangkal radikal bebas DPPH (persentase perendaman) dari ekstrak etanol daun bunga putih (*Clerodendrum costatum* R.Br) dan perbandingannya dengan kuersetin dianalisis, serta nilai IC_{50} untuk masing-masing dihitung menggunakan formula analisis regresi linear.

$$y = a + bx$$

Keterangan :

y : presentase aktivitas antioksidan

a : konsentrasi larutan uji

b : tetapan intersep (perpotongan garis disumbu y)