

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang dilakukan adalah penelitian eksperimental.

B. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Bunga flamboyan (*Delonix regia Raff*) yang berada Kuankobo, Kecamatan Maulafa, Kota Kupang, Nusa Tenggara Timur

C. Sampel dan teknik sampling

a. Sampel

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah bunga flamboyan (*Delonix regia Raff*), dimana bunga tersebut diambil dari Kuankobo, Kecamatan Maulafa, Nusa Tenggara Timur.

b. Teknik sampling

Teknik sampling dalam penelitian ini menggunakan teknik *purposive sampling*, dengan kriteria sampel berupa bunga flamboyan (*Delonix regia Raff*) yang masih segar.

D. Tempat dan Waktu Penelitian

1. Tempat Penelitian

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

2. Waktu penelitian

Penelitian akan dilakukan pada bulan April sampai Juni 2026

E. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas

Variabel bebas dari penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol 95% bunga flamboyan (*Delonix regia Raff*) 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm.

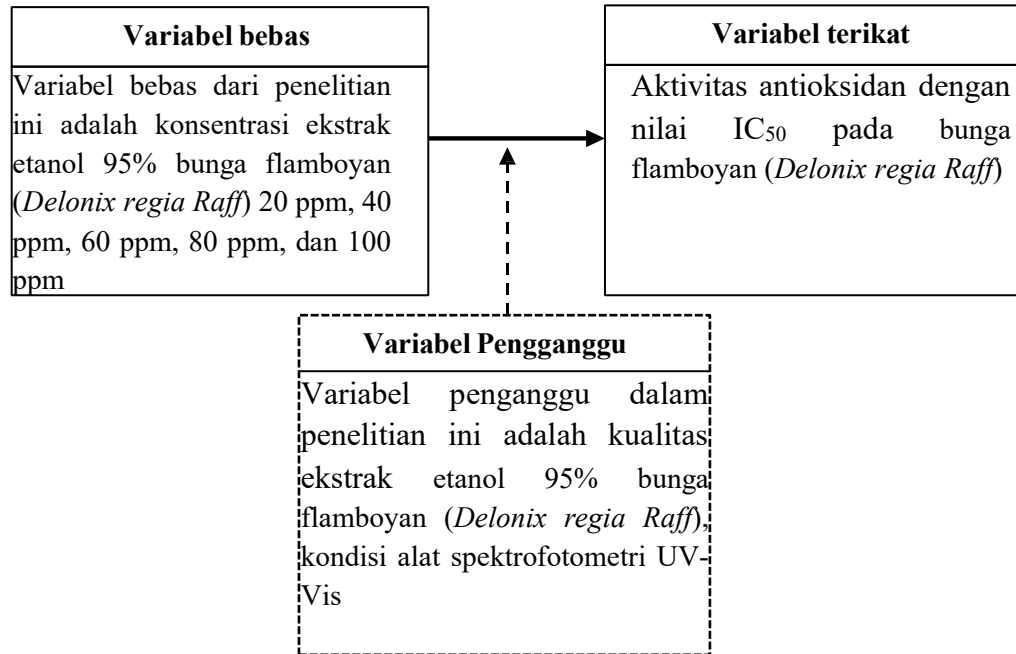
2. Variabel terikat

Variabel terikat dari penelitian ini adalah aktivitas antioksidan dengan nilai IC_{50} pada bunga flamboyan (*Delonix regia Raff*).

3. Variabel pengganggu

Variabel pengganggu adalah kualitas ekstrak etanol 95% bunga flamboyan (*Delonix regia Raff*), kondisi alat spektrofotometri UV-Vis.

F. Kerangka Konsep



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

Gambar 3. Hubungan antar variabel

G. Definisi Operasional

1. Bunga flamboyon adalah bunga yang digunakan untuk memperoleh ekstrak, sehingga dilakukan pengujian antioksidan.
2. Ekstrak etanol 95% bunga flamboyon adalah ekstrak kental yang diperoleh dari hasil maserasi serbuk bunga flamboyon menggunakan pelarut etanol 95%
3. Uji aktivitas antioksidan adalah uji yang dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terdapat pada bunga flamboyon yaitu flavonoid yang

mempunyai sifat antioksidan. Pengujiannya meliputi penentuan nilai IC_{50} .

4. IC_{50} adalah konsentrasi larutan uji yang memberikan peredaman DPPH sebesar 50%.

H. Alat dan Bahan

1. Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi spektrofotometer *UV-VIS (shimadzu type UV-1700)*, timbangan analitik (*type EW-220-3NM*). Peralatan pendukung laboratorium terdiri dari pipet volume, mikropipet, labu ukur 100, 50, dan 25 mL, *beaker glass (pyrex)*, gelas ukur (*pyrex*), vial, bejana untuk maserasi, gelas beaker, labu erlenmeyer, gelas ukur, labu volumetri, batang pengaduk (Pyrex), cawan porselen, *waterbath*, *rotary evaporator*, aluminium foil, tabung reaksi, rak dan penjepitnya, kaca arloji, sendok tanduk, kertas perkamen

2. Bahan

Bahan yang digunakan adalah ekstrak bunga flamboyan, air suling, etanol 95%, vitamin C, DPPH (*2,2-difenil-pikrilhidrazil*), $FeCl_3$, reagen dragendorff, HCl pekat, HCl 1%, Sebuk Mg, H_2SO_4 , Aquadest.

I. Prosedur Penelitian

1. Pengambilan Sampel

Pengambilan tanaman dilakukan secara manual dengan memilih bunga yang segar dari tumbuhan flamboyan (*Delonix regia Raff.*). Bunga

flamboyan tersebut diperoleh dari Kelurahan Sikumana, kecamatan Maulafa, kota Kupang.

2. Pembuatan Simplisia

Sortasi basah dilakukan untuk menghilangkan kotoran dan benda asing pada tanaman. Bunga flamboyan dipisahkan dari bagian lain tanaman dan dipilih sesuai kriteria. Sampel dicuci menggunakan air mengalir, dirajang, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan serta dilindungi dari paparan sinar matahari langsung. Setelah kering, dilakukan sortasi kering untuk memisahkan pengotor, kemudian simplisia diserbukkan dan diayak menggunakan ayakan nomor 16 (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

3. Pembuatan Ekstrak

Simplisia bunga flamboyan ditimbang sebanyak 200gram dan ditempatkan dalam wadah maserasi. Kemudian ditambahkan etanol 95% sebanyak 2 liter. Proses maserasi dilakukan dengan melarutkan 200 gram serbuk dalam 1,5 liter etanol, kemudian dimasukkan kedalam wadah maserasi yang ditutup dengan aluminium foil dan disimpan pada suhu ruang selama 3 hari, sambil diaduk setiap 8 jam. Setelah 3 hari campuran disaring untuk menghasilkan maserat pertama. Ampas yang tersisa diekstraksi kembali (remaserasi) dengan sisa pelarut etanol sebanyak 0,5 liter selama 2 hari. Setelah proses kedua selesai, hasilnya kembali disaring untuk menghasilkan maserat kedua. Hasil kedua maserat diuapkan menggunakan rotary evaporator, lalu

dikentalkan dengan *waterbath*. Ekstrak akhir ditutup rapat dengan aluminium foil dan disimpan dalam lemari pendingin.

Perhitungan rendemen mengikuti rumus berikut:

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Ekstrak kental}}{\text{Berat simplisia}} \times 100 \%$$

4. Identifikasi fitokimia

a. Alkaloid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan beberapa tetes HCl 1%, setelah larut kemudian ditambahkan 1 ml pereaksi mayer (Cahyaningsih *et al.*, 2019).

b. Flavonoid

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan dengan 100 ml air panas, kemudian dididihkan selama 5 menit, dan selanjutnya disaring. Filtrat diukur sebanyak 5 ml kemudian ditambahkan 0,05 mg serbuk Mg dan 1 ml HCl pekat, selanjutnya dikocok kuat (Cahyaningsih *et al.*, 2019)

c. Saponin

Sebanyak 40 mg ekstrak ditambahkan dengan 10 ml air, kemudian dikocok selama 1 menit, selanjutnya ditambahkan 2 tetes HCl 1 N (Cahyaningsih *et al.*, 2019)

d. Tanin

Sebanyak 40 mg ekstrak dilarutkan dengan 4 ml air, selanjutnya ekstrak yang sudah larut diambil sebanyak 2 ml kemudian ditambahkan 1 ml FeCl₃ 10% (Cahyaningsih *et al.*, 2019)

5. Uji aktivitas antioksidan

a. Pembuatan larutan DPPH

Larutan DPPH yang digunakan dibuat dengan cara ditimbang 0,01577 g serbuk dpph dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL, kemudian dilarutkan dengan etanol 95% sampai tanda batas 100 ml, sehingga diperoleh larutan induk DPPH konsentrasi 0,4 Mm. Larutan ini harus disimpan dalam wadah gelap atau dibungkus aluminium foil.

b. Pembuatan larutan pembanding vitamin C

Vitamin C sebanyak 5 mg ditimbang dan dilarutkan menggunakan etanol 50 ml, sehingga diperoleh larutan induk vitamin C dengan konsentrasi 100 ppm. Kemudian diencerkan menjadi 2, 4, 6, 8, dan 10 ppm.

c. Pembuatan larutan stok ekstrak etanol bunga flamboyan

Ekstrak etanol bunga flamboyan dilarutkan dalam etanol untuk membuat larutan stok dengan konsentrasi 1000 ppm dengan menimbang 100 mg sampel kemudian dilarutkan dengan 100 ml etanol 95%. Kemudian dilakukan pengenceran dengan variasi konsentrasi 20, 40, 60, 80, dan 100 ppm, dengan cara memipet sejumlah tertentu larutan induk kemudian ditambahkan dengan etanol 95% hingga diperoleh beberapa konsentrasi.

d. Penetapan panjang gelombang maksimum DPPH

1 mL larutan DPPH 0,4 mM ditambahkan 4 mL etanol dikocok homogen dan diukur serapannya yang diperoleh pada rentang λ 400-800 nm dengan blanko etanol.

- c. Pengukuran aktivitas antioksidan larutan uji ekstrak etanol bunga flamboyan (*Delonix regia* Raff) dan larutan pembanding Vitamin C. Sebanyak 4 mL masing-masing larutan uji dan pembanding dimasukkan ke dalam vial. Selanjutnya ditambahkan juga masing-masing 1 mL larutan DPPH dan dihomogenkan. Setelah itu, diinkubasi pada tempat yang terlindung dari cahaya selama waktu yang dihasilkan oleh penentuan waktu inkubasi optimum yaitu selama 30 menit. Terakhir dicari absorbansi menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum yang dihasilkan oleh penentuan panjang gelombang maksimum (Potalangi et al., 2024).

J. Analisis Data

Penghambatan penangkal radikal bebas dihitung menggunakan rumus persen penghambatan:

$$(\%) \text{ inhibisi} = \frac{A \text{ blanko} - A \text{ sampel}}{A \text{ blanko}} \times 100 \%$$

A blanko = nilai absorbansi DPPH pada blanko

A sampel = nilai absorbansi DPPH dalam sampel atau pembanding.

% inhibisi yang didapat sebelumnya kemudian diplot masing-masing pada sumbu y dan x pada persamaan regresi linear. Persamaan regresi linear yang didapat dalam bentuk $y = a + bx$

Keterangan :

Y= absorbansi

a = tetapan regresi (intersep)

X = konsentrasi

b = koefisien regresi (*slope*/ kemiringan)