BAB III
METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian eksperimental *(True Experiment).* Penentuan nilai SPF *(Sun Protection Factor)* ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam tunggal dilakukan secara *in vitro* di laboratorium menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan sampel bawang tunggal putih dan hitam tunggal.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Kesehatan Universitas Jenderal Achmad Yani Yogyakarta.

2. Waktu penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April 2021 – Juli 2021.

C. Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini yaitu bagian buah dari tanaman bawang putih tunggal *(Allium sativum* L*)* yang diperoleh di Desa Butuh, Kecamatan Kaliangkrik Kabupaten Magelang, Jawa tengah dengan ketinggian 1.700 mdpL yang berada di bawah kaki Gunung Sumbing. Sampel dari tanaman bawang putih tunggal tersebut sebagian dibuat menjadi ekstrak etanol bawang putih dan juga ekstrak etanol bawang hitam tunggal. Bawang hitam tunggal sendiri dibuat dengan cara pemanasan menggunakan *rice cooker* selama 12 hari dengan suhu 40-50˚C.

D. Variabel Penelitian

1. Variabel bebas *(independent variable)*

Konsentrasi ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam tunggal merupakan variabel bebas dalam penelitian ini.

2. Variabel terikat *(dependent variable)*

Nilai SPF pada ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam tunggal merupakan variabel terikat dalam penelitian ini.

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

3. Variabel terkendali

Suhu dan waktu pemanasan bawang putih menjadi hitam merupakan variabel terkendali dalam penelitian ini.

E. Definisi Operasional

1. Ekstrak etanol bawang hitam berasal dari pemanasan terhadap bawang putih (*Allium sativum* L*)* sehingga kandungan antioksidannya meningkat. Bawang putih *(Allium sativum* L*)* yang diperoleh dari petani di Desa Butuh, Kecamatan Kaliangkrik Kabupaten Magelang, kemudian diolah menggunakan *rice cooker* dengan suhu 40-50˚C selama 12 hari. Hasil pemanasan tersebut kemudian dibuat ekstrak dengan pelarut etanol 70%.
2. Pengukuran nilai SPF suatu ekstrak etanol bawang tunggal putih dan hitam yang berpotensi sebagai tabir surya dapat dilakukan secara *in vitro* dengan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis yaitu teknik analisis yang memakai sumber radiasi elektromagnetik sinar tampak (panjang gelombang 290-320 nm) dengan memakai instrument spektrofotometer yang kemudian hasilnya dimasukkan ke dalam persamaan Mansur dkk, (1986).
3. Konsentasi yang dianalisis adalah 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm dan 2500 ppm.

F. Alat dan Bahan

1. Alat yang digunakan

a. Alat yang digunakan dalam proses pembuatan bawang hitam yaitu timbangan, *rice cooker*.
b. Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol bawang hitam yaitu blender, kompor listrik, wajan, batang pengaduk, peralatan gelas laboratorium.
c. Alat yang digunakan dalam penentuan nilai SPF yaitu peralatan gelas laboratorium, neraca analitik (Ohaus SW version 10S), sonikator (Cole-parmer), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10S UV-Vis Spectrophotometer).

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

2. Bahan yang digunakan

a. Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 500 gram bawang putih tunggal diperoleh dari petani di Magelang yang kemudian dipanaskan sehingga menjadi bawang hitam.

b. Bahan yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam yaitu bawang putih dan hitam, etanol 70% (teknis) sebagai pelarut.

c. Bahan yang digunakan untuk skrining fitokimia yaitu n-heksan *(p.a)*, HCl pekat *(p.a)*, etanol 70% (teknis), $FeCl_3$ 5%, akuades, pereaksi wagner, serbuk magnesium.

d. Bahan yang digunakan untuk analisis penentuan nilai SPF yaitu etanol 96% *(p.a)*, kertas saring, ekstrak etanol bawang putih dan bawang hitam.

G. Pelaksanaan Penelitian

1. Determinasi sampel bawang putih *(Allium sativum* L.*)*

Dalam penelitian ini determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan taksonomi bawang putih varietas tunggal yang diperoleh dari petani di Magelang. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

2. Penyiapan sampel penelitian

a. Pengolahan dan pembuatan sampel

Sebanyak 1 kg bawang putih tunggal dibagi menjadi dua kelompok yaitu bawang putih tunggal tanpa perlakuan dan bawang putih dengan perlakuan pemanasan. Bawang putih tunggal digunakan sebagai bahan utama dalam pembuatan bawang hitam tunggal. Bawang putih tunggal sebanyak 500 gram dipanaskan dalam *rice cooker (warm mode)* dengan suhu 40-50˚C tanpa perlakuan tambahan apapun dan didiamkan selama 12 hari (sampai bawang berubah menjadi bawang hitam).

b. Ekstraksi sampel

Bawang putih tunggal sebanyak 500 gram dan bawang hitam tunggal sebanyak 500 gram dihaluskan menggunakan blender kemudian

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan etanol 70% sebagai pelarutnya hingga ekstrak terendam selama 24 jam dan terlindung dari cahaya matahari. Hasil ekstraksi kemudian disaring dan residu hasil filtrasi diremaserasi 1 kali menggunakan pelarut yang sama yaitu etanol 70% hingga ekstrak terendam, tujuannya agar semua senyawa aktif dapat terekstrak ke pelarut. Hasil ekstraksi diuapkan dengan menggunakan alat penangas dan wajan dengan suhu ±50˚C hingga diperoleh ekstrak etanol kental bawang putih dan hitam. Kemudian dihitung rendemen dengan cara membandingkan berat ekstrak kasar yang diperoleh dengan berat yang digunakan dikalikan 100% (Suhaenah dkk., 2019).

c. Uji fitokimia

Uji ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa aktif yang terkandung dalam bawang hitam secara kualitatif.

1. Alkaloid

Ekstrak bawang tunggal putih dan hitam sebanyak 0,5 gram diletakkan pada tabung reaksi, kemudian ditetesi HCl 2 N dan diaduk kemudian didinginkan dalam suhu ruangan. Setelah dingin, sampel ditambahkan 0,5 g NaCl kemudian diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 3 tetes HCl 2 N dan 5 tetes pereaksi Wagner. Apabila terbentuk endapan putih, jingga sampai merah kecoklatan, menunjukkan hasil positif mengandung alkaloid (Agustina dkk., 2020).

2. Flavonoid

Ekstrak bawang tunggal putih dan hitam sebanyak 0,5 gram diuapkan. Residu dilarutkan dengan etanol dan disaring. Filtrat ditambahkan HCl pekat, kemudian dipanaskan menggunakan panangas air. Jika terjadi perubahan warna merah, menunjukkan hasil yang positif (Agustina dkk., 2020).

3. Fenolik

Ekstrak bawang tunggal putih dan hitam sebanyak 0,1gram dilarutkan dalam 20 mL metanol 70%, kemudian diambil 1 mL

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

larutan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 tetes pereaksi $FeCl_3$ 5%. Jika terjadi perubahan warna hijau kebiruan, menunjukkan hasil yang positif (Alhabsyi dan Suryanto, 2014).

4. Saponin

   Ekstrak bawang tunggal putih dan hitam sebanyak 0,5 gram sampel dimasukkan dalam tabung reaksi ditambahkan 5 mL akuades dan dikocok selama 30 detik. Mengandung saponin apabila terdapat busa yang tidak hilang, artinya menunjukkan hasil positif (Agustina dkk., 2020).

5. Sterol dan triterpenoid

   Ekstrak bawang tunggal putih dan hitam sebanyak 0,5 gram dilarutkan dengan kloroform, selanjutnya disaring dan filtratnya digunakan untuk pengujian. Larutan ditambahkan beberapa tetes asam sulfat pekat dan diamati perubahan warnanya. Sampel dikatakan positif mengandung steroid akan berwarna biru kehijauan, sedangkan untuk senyawa triterpenoid akan berwarna kuning pucat (Agustina dkk., 2020).

6. Tanin

   Ekstrak bawang tunggal putih dan hitam sebanyak 0,5 gram diekstraksi menggunakan akuades panas dan kemudian didinginkan. Setelah dingin ditambahkan NaCl 10% sebanyak 5 tetes kemudian disaring. Filtrat yang dihasilkan ditambahkan $FeCl_3$. Sampel dikatakan positif mengandung tanin galat akan berwarna hitam sedangkan tanin katekol akan berwarna biru (Agustina dkk., 2020).

3. Analisis SPF

1. Penyiapan sampel ekstrak etanol bawang hitam

   Cara untuk mengetahui kategori nilai SPF yang baik dari ekstrak etanol bawang tunggal putih dan bawang tunggal hitam yang telah diperoleh, dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm. Ekstrak kental yang telah didapat, selanjutnya ditimbang masing – masing sebanyak 10 mg, 15 mg, 20 mg, 25 mg lalu dilarutkan

UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI PERPUSTAKAAN YOGYAKARTA

dengan pelarut etanol 96% sampai 10 mL dalam labu takar, kemudian larutan sampel diultrasonikasi hingga larut selama (±12 menit), kemudian disaring menggunakan kertas saring. Perlakuan sama pada masing-masing konsentrasi

2. Pengukuran absorbansi

Masing-masing larutan ekstrak etanol bawang tunggal putih dan bawang hitam yang dibuat dalam konsentrasi 1000 ppm, 1500 ppm, 2000 ppm, 2500 ppm, kemudian dilakukan pengenceran dengan penambahan larutan etanol sebanyak 10 mL dan diukur absorbannya pada panjang gelombang 290-320 nm dengan interval panjang gelombang 5 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Dalam pengukuran digunakan etanol 96% sebagai blanko. Kemudian dihitung absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

H. Analisis Data

1. Perhitungan Nilai SPF

Nilai SPF dihitung dengan menggunakan persamaan Mansur dkk, (1986). Spektrum serapan sampel diperoleh dengan menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 290-320 nm. Nilai serapan dicatat setiap interval 5 nm dari panjang gelombang 290-320 nm. Nilai serapan yang didapat dikalikan dengan EE x I untuk masing-masing interval nilai EE x I yang terdapat pada (tabel 3). Jumlah EE x I yang didapat dikalikan dengan faktor koreksi yang nilainya 10 untuk mendapatkan nilai SPF dari sampel yang diuji (Surya dkk., 2015). Cara menghitung SPF menurut metode Mansur dkk, (1986):

$$\boldsymbol{SPFspektrofotometer} = CF\ x \sum_{290}^{320} \left((\mathrm{EE})xI(\lambda)\right)x\ (Abs(\lambda))$$

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

Dimana:

EE : Spektrum efek eritemal

I : Intensitas Spektrum Sinar

Abs : Absorbansi produk tabir surya

CF : Corection Factor

Hasil perhitungan nilai SPF kemudian disesuaikan dengan klasifikasi nilai SPF menurut FDA berikut:

Tabel 6. Klasifikasi nilai SPF (FDA, 2011)

Klasifikasi	Nilai SPF
Minimal	2 – 4
Sedang	4 – 6
Ekstra	6 – 8
Maksimal	8 – 15
Ekstra	>15

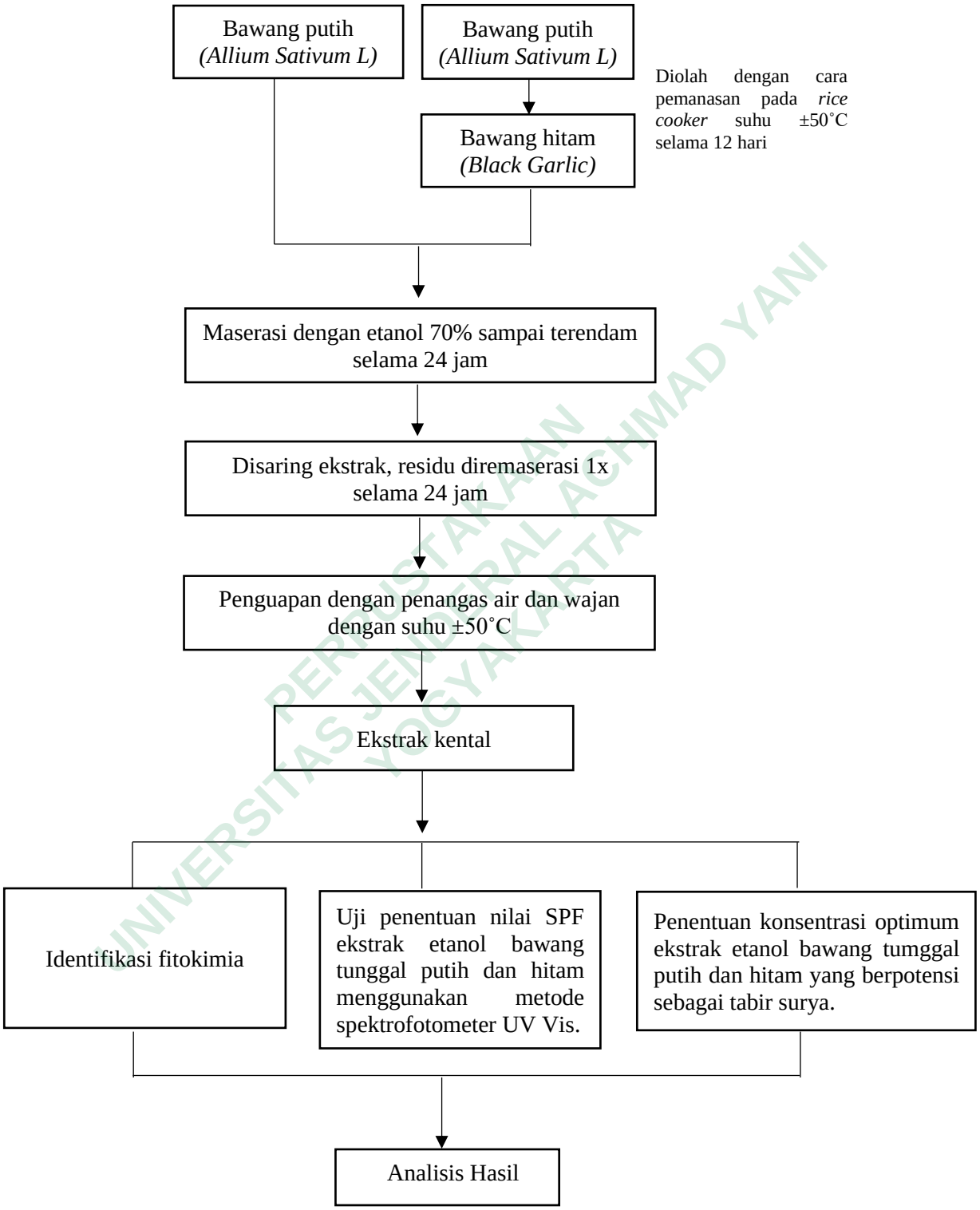
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA

2. Analisa Statistik

Seluruh data yang diperoleh dari hasil penelitian dikumpulkan kemudian di analisis secara statistik untuk mengetahui konsentrasi optimum ekstrak bawang putih dan bawang hitam signifikan atau tidak. Sebelumnya dilakukan terlebih dahulu uji normalitas dan homogenitas. Uji Normalitas pada penelitian ini menggunakan Uji Normalitas Shapiro Wilk karena jumlah sampel kurang dari 50, sedangkan uji homogenitas dilakukan dengan uji Levene's. Analisis statistik pada penelitian ini dengan uji *Repeated ANOVA* untuk mengetahui berapa perbandingan antar kedua kelompok. Kemudian untuk melihat apakah ada perbedaan kedua sampel signifikan yaitu menggunakan uji *T-Test dependent* atau *paired sampel t-test* untuk membandingkan rata-rata dua set data adalah nilai SPF EEBPT dan EEBHT pada masing-masing kelompok sampel untuk menguji kebenaran atau kepalsuan hipotesis nol dengan taraf kepercayaan 95% jika data terdistribusi normal dan homogen. Bila signifikansinya <0,05 (α<0,05) artinya terdapat

perbedaan yang signifikan antara dua kelompok, namun apabila (α>0,05) maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara dua kelompok.

PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI
YOGYAKARTA



Gambar 8. Skema Jalannya Penelitian

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS JENDERAL ACHMAD YANI YOGYAKARTA