

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Jenis Penelitian**

Jenis penelitian ini merupakan penelitian deskriptif yaitu penelitian yang dilakukan untuk mendeskripsikan atau menggambarkan suatu fenomena yang terjadi di dalam suatu populasi tertentu (Sugiyono, 2015). Pada penelitian ini menggambarkan hasil skrining senyawa fitokimia dan analisis total fenol pada lulur tradisional Bali Tangi.

#### **B. Tempat dan Waktu Penelitian**

##### **1. Tempat Penelitian**

Pengambilan sampel lulur tradisional Bali dilakukan di PT. Bali Tangi spa Denpasar, sedangkan pemeriksaan skrining senyawa fitokimia dilakukan di Laboratorium Kimia Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Denpasar dan analisis total fenol pada lulur tradisional dilakukan di Laboratorium Kesehatan Lingkungan RSUP Sanglah Denpasar.

##### **2. Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret hingga Juni 2018.

#### **C. Populasi dan Sampel Penelitian**

##### **1. Populasi Penelitian**

Populasi adalah keseluruhan objek penelitian atau objek yang diteliti (Sugiyono, 2015). Populasi pada penelitian ini adalah semua varian lulur tradisional Bali yang diproduksi oleh PT. Bali Tangi yang berjumlah 14 jenis lulur tradisional

Bali.

## **2. Sampel Penelitian**

Sampel merupakan objek yang diteliti dan dianggap mewakili seluruh populasi (Sugiyono, 2015).

### **a. Jumlah dan besar sampel**

Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah seluruh varian lulur tradisional Bali Tangi yaitu 14 jenis lulur.

### **b. Teknik pengambilan sampel**

Teknik pengambilan sampel dalam penelitian ini adalah secara teknik sampling jenuh, dimana mengambil semua jenis lulur tradisional Bali Tangi (14 jenis lulur) yang dijual oleh PT. Bali Tangi dengan dilakukan replikasi dan pengulangan pada saat analisis total fenol sebanyak tiga kali.

## **D. Alat, Bahan, dan Prosedur Kerja**

### **1. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain 1 buah neraca analitik (Radwag), 1 buah kompor listrik, 1 buah gelas ukur (Iwaki Pyrex) 1000 mL, hotplate, 7 buah gelas arloji, 1 buah pipet volume 1 mL, 2 mL, 5 mL, 25 mL (Iwaki Pyrex), pipet ukur 5 mL, 10 mL, 25 mL (Iwaki Pyrex), pipet tetes, ball pipet (DdanN ball pipet), batang pengaduk, spatula, beaker glass, tabung reaksi (Iwaki Pyrex), rak tabung, labu takar, 1 buah mikropipet 5  $\mu$ l dan 10-500  $\mu$ l (Secorex), dan 1 buah spektrofotometer UV-Vis (Biochrom Libra S12).

### **2. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sampel lulur tradisional

Bali Tangi spa sebanyak 14 varian, asam klorida 2 N (Smartlab), akuadest (Lokal), reagen dragendorff (Merck), reagen mayer (E Merck), reagen wagner (Lokal), methanol (Merck), eter (Smartlab), etil asetat (Merck), etanol 95% (Merck), serbuk magnesium (Merck), asam klorida pekat (Smartlab), besi (III) klorida 1% (Merck), asam sulfat pekat (Smartlab), natrium hidroksida 1 N (Merck), asam galat (Merck), reagen *Folin-Ciocalteu phenol* (Merck), larutan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5% (Merck), dan alumunium foil (Lokal).

### **3. Prosedur kerja**

#### **a. Uji kualitatif fitokimia pada lulur**

Adapun uji kualitatif fitokimia pada lulur menurut Marjoni (2016) dengan modifikasi, sebagai berikut :

##### **1. Pemeriksaan Alkaloida**

Sampel ditimbang sebanyak 1,25 gram kemudian ditambahkan 2,5 ml asam klorida 2 N dan 25 ml air suling, dipanaskan diatas penangas air selama 2 menit pada suhu  $50^{\circ}\text{C}$ , didinginkan dan disaring. Filtrat yang diperoleh dipakai untuk test alkaloida sebagai berikut:

1. Filtrat sebanyak 3 mL ditambahkan dengan 10 tetes pereaksi Dragendorff, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna merah atau jingga.
2. Filtrat sebanyak 3 mL ditambahkan dengan 10 tetes larutan pereaksi Mayer, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan menggumpal berwarna putih atau kuning.
3. Filtrat sebanyak 3 mL ditambahkan dengan 10 tetes pereaksi Wagner, reaksi positif ditandai dengan terbentuknya endapan berwarna coklat.

## **2. Pemeriksaan Flavonoida**

Sampel ditimbang sebanyak 1,25 gram lalu ditambahkan 25 mL metanol, dipanaskan selama 10 menit pada suhu 50<sup>0</sup>C, disaring panas-panas melalui kertas saring. Filtrat diencerkan dengan 25 mL air suling, setelah dingin ditambahkan 12,5 mL eter, dikocok hati-hati, lalu didiamkan sebentar. Lapisan metanolnya diambil, diuapkan pada temperature 40<sup>0</sup>C, sisanya dilarutkan dalam 12,5 mL etil asetat, didiamkan beberapa menit. Filtratnya dipipet dan digunakan untuk uji flavonoida dengan cara berikut:

1. Sebanyak 1 mL larutan percobaan diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dalam 2 mL (20 tetes) etanol 95%, lalu ditambahkan 0,1 gram serbuk magnesium dan 10 tetes asam klorida pekat. Jika terjadi warna merah jingga sampai warna merah ungu menunjukkan adanya flavonoida.
2. Sebanyak 1 mL larutan percobaan diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dengan 2 mL (20 tetes) etanol 95% lalu ditambahkan pereaksi FeCl<sub>3</sub> 1%. Jika terjadi warna hitam menunjukkan adanya flavonoida.
3. Sebanyak 1 mL larutan percobaan diuapkan sampai kering, sisanya dilarutkan dengan 2 mL (20 tetes) etanol 95% lalu ditambahkan pereaksi H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat. Jika terjadi warna hijau kekuningan menunjukkan adanya flavonoida.

## **3. Pemeriksaan Terpenoida/Steroida**

Sebanyak 2,5 gram sampel disari dengan 12,5 mL eter selama 2 jam, dilakukan pemeriksaan pada masing-masing pereaksi dengan prosedur berikut:

1. Filtrat sebanyak 3 mL ditambah dengan 2 mL pereaksi Salkowsky (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat). Apabila terbentuk warna merah menunjukkan adanya terpenoida/steroida.

#### **4. Pemeriksaan Tanin**

Sampel ditimbang sebanyak 10 gram, disari dengan 100 mL air suling, kemudian filtrat dipipet. Filtrat diencerkan dengan air sampai tidak berwarna (jika filtrat berwarna). Larutan diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan dengan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1 %. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin.

#### **5. Pemeriksaan Saponin**

Sampel ditimbang sebanyak 0,5 gram dan dimasukkan kedalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes asam klorida 2N menunjukkan adanya saponin.

#### **6. Pemeriksaan Kuinon**

Sampel ditimbang sebanyak 10 gram, disaring dengan 100 mL air suling. Filtrat diencerkan dengan air sampai tidak berwarna (jika filtrat berwarna). Larutan diambil sebanyak 2 mL dan ditambahkan dengan beberapa tetes NaOH 1 N. Hasil positif jika terbentuk warna kuning.

#### **b. Analisis Total Fenol**

##### **1) Penentuan panjang gelombang maksimum**

- a) Dipipet 1,5 ml larutan asam galat 5 ppm, 15 ppm, 25 ppm, ke dalam tabung reaksi.
- b) Ditambahkan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu phenol*
- c) Dihomogenkan dan didiamkan 5 menit
- d) Ditambahkan 4 ml Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5%

- e) Dihomogenkan dan didiamkan 30 menit
- f) Dibaca nilai absorbansi pada panjang gelombang 600-800 nm

**2) Pembuatan kurva standar :**

- a) Ditimbang 0,01 gram asam galat
- b) Diencerkan dengan 100 ml aquadest
- c) Larutan yang diencerkan konsentrasinya menjadi 100 ppm (mg/L)
- d) Dibuat 6 seri pengenceran dengan pipet sebagai berikut :

Tabel 2.  
Seri Pengenceran Asam Galat

Konsentrasi larutan standar (ppm)	Asam Galat 100 ppm ( $\mu\text{L}$ )	Aquadest ( $\mu\text{L}$ )
0	-	500
5	25	475
10	50	450
15	75	425
20	100	400
25	125	375

- e) Ditambahkan 0,5 ml reagen *Folin-Ciocalteu phenol*
- f) Dihomogenkan dan didiamkan 5 menit
- g) Ditambahkan 4 ml  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  5%
- h) Dihomogenkan dan didiamkan 30 menit
- i) Dibaca nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum.
- j) Dibuat persamaan garis dan kurva larutan standar.

Regresi Linier  $y = ax + b$

**3) Uji Total Fenol metode spektrofotometri dengan reagen *Folin-Ciocalteu phenol* (Shetty dkk. 1995 dalam Purnama 2015 dengan modifikasi)**

Kandungan total fenol ditentukan dengan metode Folin-Ciocalteu berdasarkan kemampuan senyawa fenol mereduksi fosfomolibdat dalam *Folin-Ciocalteu* membentuk molybdenum berwarna biru (Dai dan Mumper, 2010).

- a) Sebanyak 1 g sampel dilarutkan dalam 25 mL etanol 95%.
- b) Larutan tersebut diambil 0,5 mL ke tabung reaksi
- c) Ditambahkan 0,5 mL reagen *Folin-Ciocalteu phenol*
- d) Dihomogenkan dan didiamkan 5 menit
- e) Ditambahkan 4 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 5%
- f) Dihomogenkan dan didiamkan 30 menit
- g) Dibaca nilai absorbansi pada panjang gelombang maksimum
- h) Dihitung total fenol dengan rumus:

$$\% \text{ TF (GAE)} = \frac{X \frac{\text{mg}}{\text{L}} \times fp \times TV(L) \times 100}{W (mg)}$$

Keterangan :

GAE : *Gallic Acid Equivalent*

$X (mg/L)$  : konsentrasi fenol dalam sampel

$TV (L)$  : total volume sampel

$W (mg)$  : massa sampel

## **E. Jenis dan Teknik Pengumpulan Data**

### **1. Jenis data yang dikumpulkan**

Jenis data yang dikumpulkan pada penelitian ini adalah data primer. Data primer diperoleh melalui pengamatan langsung yang dilakukan oleh peneliti. Data primer pada penelitian ini adalah hasil pemeriksaan skrining fitokimia dan kadar total fenol pada sampel lulu tradisional Bali yang diperiksa.

### **2. Cara pengumpulan data**

Pengumpulan data dalam penelitian ini dilakukan dengan cara pemeriksaan skrining fitokimia dan analisis total fenol pada semua varian lulu tradisional Bali Tangi spa secara kualitatif dan kuantitatif.

### **3. Instrumen pengumpulan data**

- a. Alat tulis yang digunakan mencatat hasil penelitian.
- b. Kamera digunakan untuk mendokumentasikan penelitian
- c. Lembar hasil analisa skrining fitokimia dan analisis total fenol pada semua varian lulu tradisional Bali Tangi spa.

## **F. Pengolahan dan Analisis Data**

### **1. Teknik pengolahan data**

Data yang diperoleh dari hasil skrining fitokimia dan analisis total fenol pada semua varian lulu tradisional Bali akan diolah dengan menggunakan pengolahan data secara tabulasi, yaitu teknik penyajian data dalam bentuk tabel. Kemudian dideskripsikan dalam bentuk narasi.

### **2. Analisis data**

Analisis data yang digunakan dalam penelitian ini adalah analisis data deskriptif

yaitu menggambarkan hasil analisa skrining fitokimia dan analisis total fenol pada semua varian lulur tradisional Bali Tangi spa.