

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Sampel, Alat dan Bahan

3.1.1 Sampel

Sampel *Sargassum* sp. diperoleh dari Teluk Awur Jepara pada pertengahan bulan September 2001. Penyortiran dilakukan untuk memilah sampel dari rumput laut lainnya dan menghilangkan kotoran seperti pasir, kerikil, kerang dan sebagainya. Setelah dicuci, sampel dikeringkan dibawah sinar matahari dan kemudian dihaluskan.

3.1.2 Alat

Peralatan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah:

1. corong gelas
2. cawan porselin
3. erlenmeyer
4. gelas beaker
5. gelas pengaduk
6. labu takar
7. kompor listrik
8. kertas saring
9. penangas air
10. rotary evaporator
11. spektrofotometer UV-Vis
12. seperangkat alat GC-MS

3.1.3 Bahan

Pelarut yang digunakan untuk isolasi adalah yang berkualitas teknis, sedangkan untuk analisa digunakan bahan yang berkualitas p.a:

1. Amonia
2. Asam asetat anhidrid
3. Asam klorida
4. Asam sulfat pekat
5. Etil asetat
6. Metanol
7. Eter
8. *n*-Heksana
9. FeCl₃
10. Kloroform
11. Pereaksi Dragendorff
12. Pereaksi Meyer

3.2 Cara Kerja

3.2.1 Pembuatan Ekstrak Rumput laut

Serbuk rumput laut *Sargassum* sp. sebanyak 50 gram dimaserasi (40 - 50 %) dengan 200 ml pelarut. Pelarut yang digunakan yaitu metanol, etil asetat dan *n*-heksana, kemudian ketiga ekstrak tersebut disaring dan diuapkan dengan alat rotary evaporator sehingga diperoleh tiga krude yaitu metanol, etil asetat dan *n*-heksana.

3.2.2 Uji Aktivitas Sebagai Tabir Surya

Masing-masing krude dibuat larutan dengan pelarut yang sama dengan ekstraknya, pada tingkat konsentrasi yang sama. Setiap larutan diamati nilai serapannya pada rentang panjang gelombang 292,5 – 372,5 nm dengan perubahan setiap kali pengamatan 5,0 nm.

3.2.3 Evaluasi Aktivitas

Aktivitas sebagai tabir surya dari setiap cuplikan dapat diketahui menghitung persentase transmitansi eritema ($\Sigma \%T \times Fe/\Sigma Fe$) dan persentase transmitansi pigmentasi ($\Sigma \%T \times Fp/\Sigma Fp$) untuk larutan dengan konsentrasi tertentu, selanjutnya dibandingkan dengan pedoman perhitungan %T eritema dan pigmentasi yang dikembangkan oleh Cumpelik (1972) dan Kreps (1972), yaitu jika %T eritema < 1 % dan %T pigmentasi 3 – 40 % dikategorikan sebagai *sunblock*; jika %T eritema 6 – 18 % dan %T pigmentasi 45 – 86 % dikategorikan sebagai *suntan*.

3.2.4 Skrining Fitokimia dan Identifikasi dengan GC-MS

3.2.4.1 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap ekstrak yang paling efektif sebagai tabir surya dengan berbagai pelarut untuk uji alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, triterpenoid/steroid, dan kuinon:

a. Uji Alkaloid

Sebanyak dua gram serbuk simplisia dilembabkan dengan 5 ml amonia 25 % dan digerus dalam mortir porselin. Kemudian ditambah 20 ml kloroform, digerus kuat dan disaring. Untuk pemeriksaan alkaloid, 10 ml larutan organik diekstraksi dua kali dengan larutan asam klorida (1:10). Sebanyak 5 ml larutan ini masing-masing dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi. Adanya

alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan merah bata setelah ditambah pereaksi Dragendorff dan adanya endapan putih setelah ditambah pereaksi Mayer.

b. Uji Saponin

Sebanyak 1 gram serbuk dididihkan dalam 10 ml air selama 5 menit kemudian disaring dalam keadaan panas. Selanjutnya 10 ml larutan tersebut dikocok kuat secara vertikal selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1 cm yang stabil tidak kurang dari 10 menit dan tidak hilang pada penambahan setetes asam klorida 2 N, menunjukkan adanya saponin.

c. Uji Flavonoid

Sebanyak 5 ml filtrat dari larutan diatas ditambah serbuk magnesium, 1 ml asam klorida pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat dan dibiarkan memisah. Adanya flavonoid ditunjukkan jika terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol.

d. Uji Triterpenoid/steroid

Sebanyak 5 gram serbuk dimaserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam kemudian disaring. Selanjutnya 5 ml filtrat yang diperoleh diuapkan dalam cawan penguap sampai kering. Jika kedalam residu ditambah 2 tetes asam asetat anhidrid dan 1 tetes asam sulfat pekat terbentuk warna merah yang berubah menjadi hijau, kemudian ungu, dan akhirnya biru, hal ini menunjukkan adanya triterpenoid dan steroid.

e.Uji Tanin

Sebanyak 1 gram serbuk ditambah 100 ml air panas, didihkan selama 5 menit, disaring. Sebagian filtrat direaksikan dengan larutan besi(III) klorida 10 %. Timbul warna hijau kehitaman bila terdapat tanin. Pada penambahan gelatin akan timbul endapan putih.

3.2.4.2 Identifikasi dengan GC-MS

Identifikasi senyawa terhadap ekstrak yang aktif sebagai tabir surya dengan metode kromatografi gas-spektrometri massa (GC-MS).

