

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain penelitian yang digunakan adalah eksperimental.

4.2 Variabel Penelitian

a. Variabel bebas : Konsentrasi PVP (2% dan 7%), kombinasi PVP dengan CMC, kombinasi PVP dengan PVA, jumlah siklus pada metode *freezing and thawing cycle*.

b. Variabel terikat : Rasio *swelling*, fraksi gel dan struktur pori hidrogel

4.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biosains Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya Malang dan di Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Waktu penelitian dimulai bulan Maret sampai Juni 2013.

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Bahan Penelitian

PVP 90 , PVA, CMC, PEG 400 , Gliserin, Agar dan aquades.

4.4.2 Alat Penelitian

Mesin pembeku (*freezer refrigerator*), batang pengaduk, beaker glass, cawan petri, timbangan analitik, stirer mekanik, oven, *Scanning Electron Microscopy* (SEM), *stopwatch*, cawan petri dan kain kassa.

4.5 Definisi Operasional

4.5.1 Hidrogel

Hidrogel merupakan polimer jaringan tiga dimensi hidrofilik yang dapat berikatan silang (*cross link*) dan memiliki kemampuan mengembang (*swelling*) dengan menyerap air atau cairan biologis tanpa larut dan tetap mempertahankan struktur tiga dimensinya (Boateng, 2007).

4.5.2 Metode *freezing and thawing cycle* atau siklus pembekuan dan pencairan

Metode pembuatan hidrogel secara fisik yaitu proses pembekuan dan pencairan secara bergantian (Aziz, 2007).

4.5.3 Satu Siklus

Satu siklus pada metode siklus *freezing and thawing* yaitu ketika campuran bahan pembentuk hidrogel didinginkan (*freezing*) pada suhu -20°C selama 24 jam, lalu dilakukan pencairan (*thawing*) pada suhu 28°C selama 24 jam. Dua siklus adalah proses satu siklus tersebut diulangi hingga dua kali. Tiga siklus adalah proses satu siklus tersebut diulangi hingga tiga kali. Empat siklus adalah proses satu siklus tersebut diulangi hingga empat kali. Lima siklus adalah proses satu siklus tersebut diulangi hingga lima kali (Jeong, 2003).

4.5.4 Poly-N-vinylpyrrolidone (PVP)

PVP yang akan digunakan pada penelitian ini adalah PVP 90 (Datta, 2007).

4.5.7 Fraksi Gel

Fraksi Gel adalah pengukuran derajat ikat silang dari suatu hidrogel yang merupakan suatu ukuran apakah hidrogel benar-benar terbentuk, dimana ditandai dengan adanya jaringan-jaringan yang mengikat rantai polimer sehingga tidak mudah larut dalam cairan (Wijayanti, 2012).

4.5.8 Rasio *swelling*

Rasio *swelling* adalah perbandingan berat hidrogel saat kering dibandingkan dengan berat hidrogel saat mengembang. Hasil dari rasio *swelling* ini mengindikasikan ukuran banyaknya air atau pelarut lain yang dapat masuk ke dalam kerangka jaringan hidrogel (Virgian, 2012).

4.5.9 Struktur hidrogel porous

Struktur hidrogel yang berpori dan berrongga pada hasil SEM menunjukkan mudahnya penembusan air kedalam jaringan polimer (Anah, 2010).

4.6 Prosedur Pembuatan

4.6.1 Pembuatan Sediaan Hidrogel

Pada penelitian ini dibuat rancangan formula hidrogel yang dapat dilihat pada Tabel 4.1 berikut.

Tabel 4. 1 Rancangan Formula

Formula	Siklus	Konsentrasi Bahan (%)						
		PVP	PVA	CMC	PEG	Gliserin	Agar	Aqua des (ml)
Awal		10	-	-	3	-	0,8	Ad 100
1	3	7	3	-	1	1	1	Ad 100
	4	7	3	-	1	1	1	Ad 100
	5	7	3	-	1	1	1	Ad 100
2	3	2	8	-	1	1	1	Ad 100
	4	2	8	-	1	1	1	Ad 100
	5	2	8	-	1	1	1	Ad 100
3	3	7	-	3	1	1	1	Ad 100
	4	7	-	3	1	1	1	Ad 100
	5	7	-	3	1	1	1	Ad 100
4	3	2	-	8	1	1	1	Ad 100
	4	2	-	8	1	1	1	Ad 100
	5	2	-	8	1	1	1	Ad 100

4.6.1.1 Formula Awal

- a. Ditimbang PVP 10%, PEG 3% dan Agar 0,8%
- b. Dilarutkan PVP 10% dalam 50 ml aquades menggunakan stirrer mekanik pada suhu $120^{\circ}\text{C} \pm 20$ menit
- c. Dilarutkan PEG 3% dalam 30 ml aquades lalu diaduk sampai homogen
- d. Dilarutkan Agar 0,8% dalam no.3 lalu diaduk sampai homogen
- e. Dilarutkan (d) dan (b) lalu diaduk sampai homogen
- f. Lalu (e) ditambah aquades sampai 100 ml diaduk sampai homogen
- g. (f) dimasukkan dalam tiga cawan petri. Satu cawan petri untuk siklus 3, satu cawan petri untuk siklus 4 dan satu cawan petri untuk siklus 5.
- h. Setelah dingin ± 15 menit, cawan petri yang telah berisi formula hidrogel diletakkan di *freezer refrigerator* pada suhu -20°C selama 24 jam
- i. Setelah proses pembekuan, dilakukan pencairan larutan yang beku pada suhu ruang selama 24 jam. Perlakuan (h) dan (i) disebut satu siklus
- j. Tahap (h) dan (i) diulangi tiga kali untuk cawan petri dengan siklus 3

k. Siklus yang dilakukan adalah 3, 4 dan 5.

4.6.1.2 Formula 1

- a. Ditimbang semua bahan yang akan digunakan PVP 7%, PVA 3%, PEG 1%, Gliserin 1% dan Agar 1%
- b. Dilarutkan PVP 7% dalam 30 ml aquades menggunakan stirrer mekanik pada suhu $120^{\circ}\text{C} \pm 20$ menit
- c. Dilarutkan PVA 3% dalam 50 ml aquades $\pm 1,5$ jam menggunakan stirrer mekanik pada suhu 120°C . Waktu $\pm 1,5$ jam diperlukan untuk melarutkan PVA yang berbentuk kristal.
- d. Ditambahkan PEG 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- e. Ditambahkan Gliserin 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- f. Ditambahkan Agar 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- g. (b) dimasukkan ke (c) lalu diaduk sampai homogen
- h. (g) ditambah aquades sampai 100 ml lalu diaduk sampai homogen
- i. (h) dimasukkan dalam tiga cawan petri. Satu cawan petri untuk siklus 3, satu cawan petri untuk siklus 4 dan satu cawan petri untuk siklus 5.
- j. Setelah dingin ± 15 menit, cawan petri yang telah berisi formula hidrogel diletakkan di *freezer refrigerator* pada suhu -20°C selama 24 jam
- k. Setelah proses pembekuan, dilakukan *thawing* larutan yang beku pada suhu ruang selama 24 jam. Perlakuan (i) dan (j) disebut satu siklus
- l. Tahap (i) dan (j) diulangi tiga kali untuk cawan petri dengan siklus 3
- m. Siklus yang dilakukan adalah 3, 4 dan 5.

4.6.1.3 Formula 2

- a. Ditimbang semua bahan yang akan digunakan PVP 2%, PVA 8%, PEG 1%, Gliserin 1% dan Agar 1%
- b. Dilarutkan PVP 2% dalam 30 ml aquades menggunakan stirrer mekanik pada suhu $120^{\circ}\text{C} \pm 20$ menit
- c. Dilarutkan PVA 8% dalam 50 ml aquades $\pm 1,5$ jam menggunakan stirrer mekanik pada suhu 120°C . Waktu $\pm 1,5$ jam diperlukan untuk melarutkan PVA yang berbentuk kristal.
- d. Ditambahkan PEG 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- e. Ditambahkan Gliserin 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- f. Ditambahkan Agar 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- g. (b) dimasukkan ke (c) lalu diaduk sampai homogen
- h. (g) ditambah aquades sampai 100 ml lalu diaduk sampai homogen
- i. (h) dimasukkan dalam tiga cawan petri. Satu cawan petri untuk siklus 3, satu cawan petri untuk siklus 4 dan satu cawan petri untuk siklus 5.
- j. Setelah dingin ± 15 menit, cawan petri yang telah berisi formula hidrogel diletakkan di *freezer refrigerator* pada suhu -20°C selama 24 jam
- k. Setelah proses pembekuan, dilakukan *thawing* larutan yang beku pada suhu ruang selama 24 jam. Perlakuan (i) dan (j) disebut satu siklus
- l. Tahap (i) dan (j) diulangi tiga kali untuk cawan petri dengan siklus 3
- m. Siklus yang dilakukan adalah 3, 4 dan 5.

4.6.1.4 Formula 3

- a. Ditimbang semua bahan yang akan digunakan PVP 7%, CMC 3%, PEG 1%, Gliserin 1% dan Agar 1%

- b. Dilarutkan PVP 7% dalam 30 ml aquades menggunakan stirrer mekanik pada suhu $120^{\circ}\text{C} \pm 20$ menit
- c. Dilarutkan CMC 3% dalam 50 ml aquades ± 1 jam menggunakan stirrer mekanik pada suhu 120°C . Waktu ± 1 jam diperlukan untuk melarutkan CMC.
- d. Ditambahkan PEG 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- e. Ditambahkan Gliserin 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- f. Ditambahkan Agar 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- g. (b) dimasukkan ke (c) lalu diaduk sampai homogen
- h. (g) ditambah aquades sampai 100 ml lalu diaduk sampai homogen
- i. (h) dimasukkan dalam tiga cawan petri. Satu cawan petri untuk siklus 3, satu cawan petri untuk siklus 4 dan satu cawan petri untuk siklus 5.
- j. Setelah dingin ± 15 menit, cawan petri yang telah berisi formula hidrogel diletakkan di *freezer refrigerator* pada suhu -20°C selama 24 jam
- k. Setelah proses pembekuan, dilakukan *thawing* larutan yang beku pada suhu ruang selama 24 jam. Perlakuan (i) dan (j) disebut satu siklus
- l. Tahap (i) dan (j) diulangi tiga kali untuk cawan petri dengan siklus 3
- m. Siklus yang dilakukan adalah 3, 4 dan 5.

4.6.1.5 Formula 4

- a. Ditimbang semua bahan yang akan digunakan PVP 2%, CMC 8%, PEG 1%, Gliserin 1% dan Agar 1%
- b. Dilarutkan PVP 2% dalam 30 ml aquades menggunakan stirrer mekanik pada suhu $120^{\circ}\text{C} \pm 20$ menit

- c. Dilarutkan CMC 8% dalam 50 ml aquades \pm 1 jam menggunakan stirrer mekanik pada suhu 120°C . Waktu \pm 1 jam diperlukan untuk melarutkan CMC.
- d. Ditambahkan PEG 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- e. Ditambahkan Gliserin 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- f. Ditambahkan Agar 1% pada (c) lalu diaduk sampai homogen
- g. (b) dimasukkan ke (c) lalu diaduk sampai homogen
- h. (g) ditambah aquades sampai 100 ml lalu diaduk sampai homogen
- i. (h) dimasukkan dalam tiga cawan petri. Satu cawan petri untuk siklus 3, satu cawan petri untuk siklus 4 dan satu cawan petri untuk siklus 5.
- j. Setelah dingin \pm 15 menit, cawan petri yang telah berisi formula hidrogel diletakkan di *freezer refrigerator* pada suhu -20°C selama 24 jam
- k. Setelah proses pembekuan, dilakukan *thawing* larutan yang beku pada suhu ruang selama 24 jam. Perlakuan (i) dan (j) disebut satu siklus
- l. Tahap (i) dan (j) diulangi tiga kali untuk cawan petri dengan siklus 3
- m. Siklus yang dilakukan adalah 3, 4 dan 5.

4.7 Evaluasi atau Karakterisasi Hidrogel

4.7.1 Fraksi gel

4.7.1.1 Tujuan Evaluasi

Untuk mengetahui kemampuan atau seberapa besar potensi hidrogel mengembang atau kah larut.

4.7.1.2 Prosedur Evaluasi

- a. Dipotong hidrogel seberat 3 gram
- b. Hidrogel dikeringkan pada suhu $50^{\circ}\text{C} \pm 4$ jam

- c. Lalu ditimbang sebagai bobot kering awal (W_0)
- d. Selanjutnya hidrogel dibungkus dengan kain kasa
- e. Kemudian direndam dalam aquades 100 ml sampai terendam sempurna selama 24 jam
- f. Hidrogel yang tersisa di kain kasa dikeringkan kembali dalam oven pada suhu $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 4$ jam.
- g. Hidrogel ditimbang kembali sebagai bobot kering akhir (W_1), dan fraksi gel dihitung dengan persamaan berikut :

$$\text{Fraksi gel (\% hidrogel)} : \frac{W_1}{W_0} \times 100\% \quad (\text{Erizal, 2007})$$

4.7.1.3 Spesifikasi Evaluasi

Semakin tinggi persentase fraksi gel nya maka hidrogel banyak yang terlarut dalam cairan.

4.7.2. Rasio Swelling (Pengembangan)

4.7.2.1 Tujuan Evaluasi

Untuk mengetahui kapasitas penyerapan cairan yang dapat masuk ke dalam kerangka jaringan hidrogel.

4.7.2.2 Prosedur Evaluasi

- a. Dipotong hidrogel seberat 3 gram
- b. Hidrogel dikeringkan pada suhu $50^{\circ}\text{C} \pm 4$ jam
- c. Lalu, ditimbang sebagai W_d
- d. Selanjutnya hidrogel yang telah kering direndam dalam aquades 100 ml pada suhu ruang

- e. Pada saat 1 jam pertama, 2 jam, 24 jam hidrogel ditimbang untuk mengetahui kemampuan swelling (W_s) sampai 48 jam perendaman.
- f. Dilakukan perhitungan rasio swelling dengan rumus :

$$\text{Swelling ratio} : \frac{W_s - W_d}{W_d}$$

Keterangan : W_s : berat hidrogel pada saat mengembang

W_d : berat hidrogel pada saat kering (Gulrez, 2011).

4.7.2.3 Spesifikasi Evaluasi

Rasio swelling yang dihasilkan 10 – 100 kali massa aslinya.

4.7.3 Struktur Pori

4.7.3.1 Tujuan Evaluasi

Untuk mengetahui morfologi hidrogel yaitu apakah sudah terbentuk jaringan antar polimer.

4.7.3.2 Prosedur Evaluasi

1. Dilakukan *freeze drying* pada hidrogel selama 5 hari
2. Sampel hidrogel dipotong sekitar 1x1 cm
3. Sampel hidrogel ditempatkan pada suatu plat untuk dianalisis
4. Selanjutnya dilakukan pemotretan menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

4.7.3.3 Spesifikasi Evaluasi

Terbentuknya rongga atau pori pada hidrogel.