

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian yang digunakan adalah terdiri dari bahan beserta peralatan yang digunakan dalam penelitian. Bahan-bahan dan peralatan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain sebagai berikut :

##### 3.1.1 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini meliputi beberapa bahan yaitu bahan utama atau bahan baku yang digunakan adalah rumput laut coklat berjenis *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh dari desa Cabiya, Kecamatan Talango, Kabupaten Sumenep, Madura, Jawa Timur. Setelah itu rumput laut segar akan diolah menjadi teh, bahan-bahan pembuatan teh adalah kapur (gamping) dan air, bahan-bahan untuk proses ekstraksi adalah etanol PA dan kertas saring *Whatmann* nomor 1, bahan-bahan untuk uji total padatan adalah kertas saring *Whatmann* nomor 41. Bahan-bahan untuk proses mikroenkapsulasi adalah : maltodekstrin, kappa karagenan (SRC) dan aquadest, bahan-bahan untuk formulasi tablet adalah lactosa, amilum, avicel, dan pvp. Bahan-bahan yang digunakan pada uji disolusi adalah dapar fosfat sebanyak 900ml dengan pH 3 dan pH 8, Sedangkan bahan pendukung yang digunakan pada setiap perlakuan diantaranya adalah : air, aluminium foil, kertas label, *tissue*.

##### 3.1.2 Alat Penelitian

Alat –alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu peralatan untuk proses pembuatan teh antara lain adalah nampan, gunting, baskom, timbangan digital, akuarium besar, terpal, *beaker glass* 2000 ml, dan oven. Peralatan yang digunakan untuk proses ekstraksi adalah : *blander*, ayakan 60 *mesh*, timbangan

digital, gelas ukur 1000 ml, botol kaca gelap, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *sentrifuge*, *cuvet*, *beaker glass* 1000 ml, erlenmeyer 500 ml dan *rotary evaporator*. Peralatan uji total padatan antara lain adalah botol timbang, Loyang, oven, desikator, *crushible tong*, gelas ukur 100 ml, dan timbangan analitik. Alat-alat yang digunakan dalam proses enkapsulasi adalah lemari *freezer* dan *Freeze dryer*. Alat-alat yang digunakan untuk proses formulasi tablet adalah mortal dan alu. Alat yang digunakan untuk pembuatan tablet adalah oven, loyang, timbangan digital, dan *hydraulic press*. Alat yang digunakan untuk proses disolusi adalah *chamber*, dayung, botol kaca gelap dan gelas ukur, serta alat pendukung untuk uji disolusi adalah spektrofotometer UV-VIS.

### 3.2 Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan tujuan untuk membuktikan adanya penyalut dapat pengaruh atau tidak terhadap hasil uji disolusi tablet enkapsulat dengan tablet tanpa enkapsulasi pada pH 3 dan pH 8. Hal ini seperti yang dinyatakan oleh Sugiono (2014), bahwa metode eksperimental merupakan metode penelitian yang dapat digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap faktor lain dalam kondisi yang dapat dikendalikan. Metode eksperimen biasanya diterapkan didalam laboratorium dan terdapat perlakuan tertentu.

Metode eksperimental ini dilakukan untuk mendapatkan kesimpulan persen terlarut pada uji disolusi tablet ekstrak teh alga coklat *Sargassum cristaefolium* tanpa tersalut dan tersalut hasil enkapsulasi dengan metode *Freeze Drying* pada medium pH 3 dan pH 8 dengan data yang diperoleh dari uji disolusi menggunakan alat tipe II (Dayung) menggunakan 6 tablet uji (ulangan) pada tiap perlakuan Ph yang dibaca dengan alat Spektrofotometri UV-Vis, dengan penjabaran alasan melalui beberapa studi kepustakaan.

### 3.2.1 Variabel Penelitian

Variabel penelitian adalah suatu atribut atau sifat atau nilai dari objek atau kegiatan yang mempunyai variasi tertentu yang ditetapkan oleh peneliti untuk dipelajari dan kemudian ditarik kesimpulannya. Variabel independent ( bebas ) / predictor ( Peramal ) adalah variabel yang dipergunakan untuk memperkirakan dan Variabel terikat / Variabel tidak bebas adalah variabel yang nilainya akan diperkirakan/diramalkan ( Supranto, 2003 ).

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah perlakuan yang digunakan. Perlakuan yang digunakan yaitu penggunaan penyalut dan pH media. Tablet ekstrak teh *Sargassum cristaefolium* dengan penyalut Kappa-karagenan (SRC) dan Maltodekstrin dibandingkan dengan kontrol yakni tablet ekstrak teh *Sargassum cristaefolium* tanpa penyalut. pH media yang digunakan pada uji disolusi adalah pH 3 dan pH 8. sedangkan variabel terikatnya adalah hasil persen terlarut disolusi.

### 3.2.2 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian pada penelitian ini menggunakan rancangan percobaan rancangan acak lengkap faktorial dengan menggunakan 6 kali ulangan yang bertujuan untuk mengetahui hubungan atau interaksi antara faktor penggunaan penyalut dan tanpa penyalut pada tablet serta pada faktor pH media disolusi yang digunakan pH 3 dan pH 8. Apabila dari hasil perhitungan didapatkan perbedaan nyata ( $F_{hitung} > F_{tabel}$ ) maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Terkecil (BNT) pada taraf kepercayaan 5 %, dan model rancangan penelitian dilihat pada tabel 4.

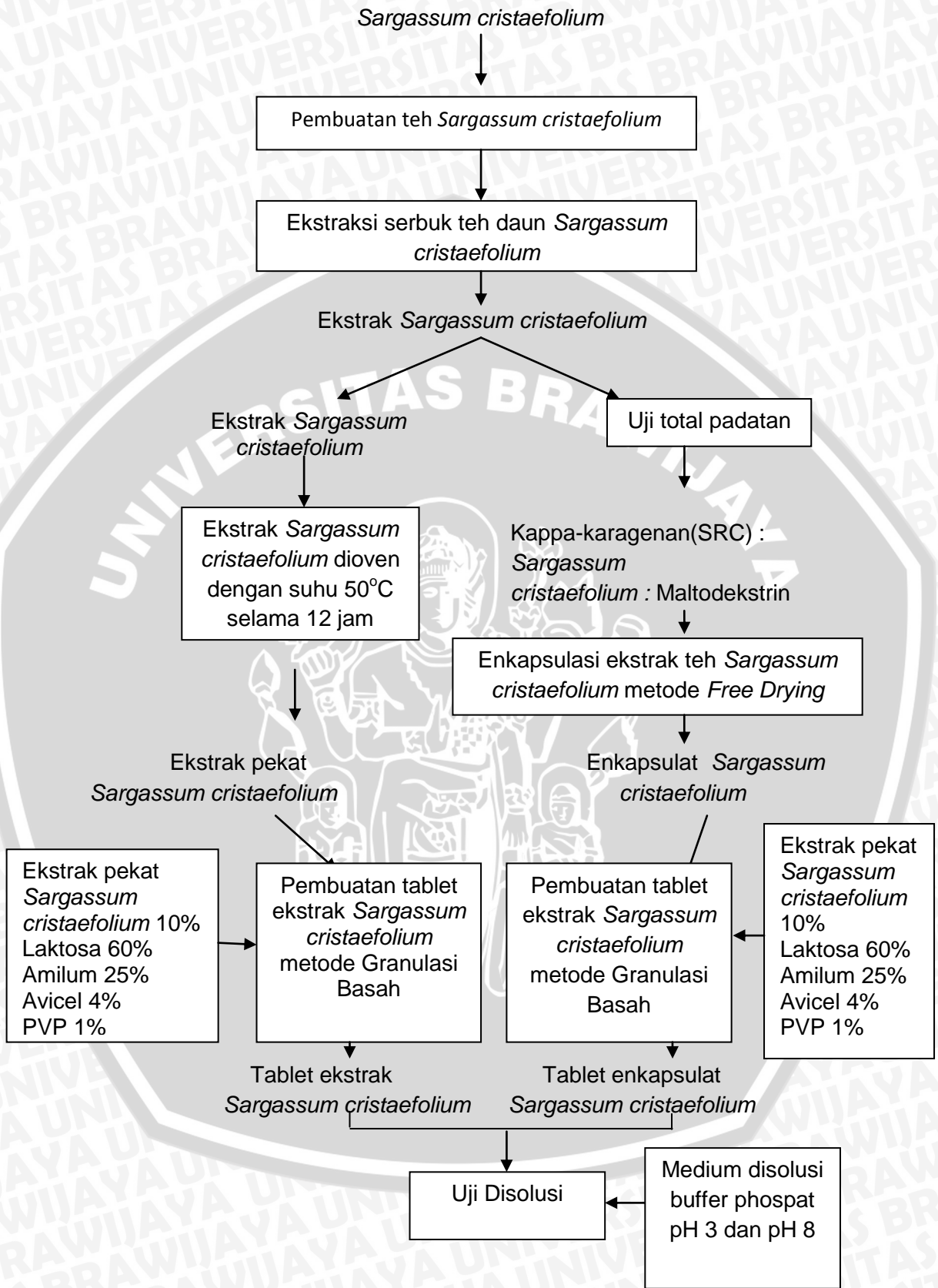
**Tabel 4. Model Rancangan**

Jenis Sampel	Parameter	Ulangan						Jumlah	Rata-rata
		1	2	3	4	5	6		
Kontrol	pH 3								
	pH 8								
Tersalut	pH 3								
	pH 8								

### 3.3 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian pada penelitian ini meliputi proses pembuatan teh rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium*, proses ekstraksi, enkapsulasi, pembuatan tablet, analisis uji disolusi dan Spektrofotometri UV Vis sebagai alat pendukung dalam mengukur panjang gelombang atau absorbansi dari hasil uji disolusi dengan prosedur penelitian secara umum dapat dilihat pada Gambar 11





Gambar 11. Prosedur Penelitian Secara Umum

### 3.3.1 Pembuatan teh rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium* (Yuan *et al.*, 2015, Masduqi *et al.*, 2014 serta Sediadi dan Utomo, 2011 yang telah dimodifikasi)

Prosedur pembuatan teh adalah rumput laut *Sargassum cristaefolium* diambil daun dan batang mudanya terlebih dahulu karena diduga mengandung senyawa flavonoid lebih banyak pada bagian tersebut. Kemudian *S. cristaefolium* dicuci dengan air yang mengalir untuk menghilangkan kotoran dan sisa-sisa bagian dari rumput laut yang tidak terpakai untuk bahan penelitian. Setelah itu daun dan batang muda direndam larutan kapur berkonsentrasi 0,5 % dan pH 11 dengan perbandingan sekitar 12,5 gr rumput laut : 250 ml air : 1 gr kapur selama 4 jam dengan tujuan untuk menghilangkan bau amis dan pemucatan. Kemudian rendam kembali rumput laut dengan air bersih selama 24 jam dan pergantian air dilakukan pagi dan sore hari dengan tujuan agar dapat menghilangkan sisa kotoran dan kapur yang masih menempel pada rumput laut. Selanjutnya rumput laut ditiriskan dan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 4-5 hari. Kemudian dilanjutkan dengan proses pengovenan selama 15 menit dengan suhu 50°C, hal ini bertujuan untuk mendapatkan rumput laut kering tanpa merusak kandungan senyawa bioaktifnya. Dan proses pembuatan teh rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Lampiran 1 dan Gambar Alur prosesnya dapat dilihat pada Lampiran 8.

### 3.3.2 Ekstraksi teh rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium* (Metode Anaelle *et al.*, 2013; Ambika dan Sujatha, 2015; Septiana dan Asnani, 2012; serta Devi *et al.*, 2012 yang telah dimodifikasi)

Proses ekstraksi teh rumput laut coklat *sargassum cristaefolium* adalah dengan menghaluskan sampel rumput laut coklat kering dengan menggunakan *blander*, kemudian diayak menggunakan ayakan 60 *mesh* dengan tujuan didapatkannya bubuk rumput laut dengan partikel lebih halus. Selanjutnya adalah timbang bubuk rumput laut sebanyak 60 gr menggunakan timbangan digital, tambahkan etanol 95% sebanyak 450 ml dan masukkan kedalam botol gelap

dengan ditutup aluminium foil dan aduk menggunakan *magnetic stirrer* dan *hot plate* pada suhu 40°C selama  $\pm 3$  jam, hal ini bertujuan untuk pengkondisian gelap untuk memaksimalkan proses ekstraksi dan agar larutan lebih homogen. Setelah itu larutan dimasukkan kedalam cuvet dan disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit dengan tujuan untuk memisahkan antara residu dan *supernatant* sehingga dapat mempermudah proses penyaringan. Kemudian *supernatant* yang dihasilkan disaring menggunakan kertas saring Whatmann nomor 1 dan dievaporasi atau dipekatkan dengan menggunakan evaporator dengan suhu 40°C dengan kecepatan 45 rpm untuk mendapatkan ekstrak pekat dan diproses selanjutnya untuk diuji total padatan dan dienkapsulasi. Proses ekstraksi teh rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Lampiran 2 dan Gambar alur prosesnya dapat dilihat pada Lampiran 9.

### 3.3.3 Uji Total Padatan (SNI 06-6989.26, 2005 yang telah dimodifikasi)

Uji total padatan ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui dan menentukan berapa volume yang akan ditambahkan pada larutan penyalut (formulasi mikrokapsul) sehingga volume yang ditambahkan dapat sesuai dengan kebutuhan pada saat proses enkapsulasi. Pertama yang harus dilakukan adalah dengan terlebih dahulu melakukan preparasi botol timbang dengan pengkondisian setengah ditutup, kemudian dilakukan pengovenan dengan suhu 105°C selama 1 jam. Kemudian botol timbang tersebut dimasukkan desikator selama 15 menit sampai dingin dan timbang kembali secara berulang sampai didapatkan berat botol timbang konstan sebagai berat (A) dan dilanjutkan pengujian ekstraknya.

Setelah didapatkan berat botol timbang konstan (A) dilanjutkan proses pengujian, ekstrak pekat hasil dari proses evaporasi kemudian dikocok dengan tujuan persebaran padatan merata dan di ukur sebanyak 25 ml dan dimasukkan

dalam botol timbang, setelah itu dipanaskan pada *hot plate* sampai kering. Kemudian botol timbang tersebut dioven dengan suhu 105°C selama 1 jam, setelah itu dimasukkan desikator selama 15 menit dan ditimbang dengan timbangan analitik. Botol timbang selanjutnya dimasukkan kembali pada desikator dan ditimbang kembali sampai diperoleh berat konstan (B). Kadar padatan total dihitung dengan rumus dibawah ini dan untuk perhitungannya dapat dilihat pada Lampiran 3.

$$\text{Kadar padatan total (g/ml)} = \frac{(B-A)}{\text{ml sampel}}$$

### 3.3.4 **Enkapsulasi teh rumput laut coklat *Sargassum cristaefolium* (Fernandez et al., 2014; Laokuldilok et al., 2016; dan Saikia et al., 2015 yang telah dimodifikasi)**

Prosedur enkapsulasi pada penelitian ini adalah pertama pembuatan bahan penyalut dengan cara mencampurkan kedua penyalut dengan perbandingan (19,25% maltodekstrin : 0,75% kappa karagenan) yang dilarutkan dengan *aquadest* sampai 100ml, kemudian diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dengan tujuan agar lebih homogen, setelah itu dipanaskan dengan menggunakan *hot plate* bersuhu 70°C sampai larut, hal ini dikarenakan kappa karragenan (SRC) hanya dapat larut pada suhu air hangat.

Setelah dipanaskan, larutan dijenuhkan selama semalam dengan tujuan untuk mendapatkan larutan larutan penyalut dengan konsentrasi 20% (19,25% maltodekstrin : 0,75% kappa karagenan). Setelah larutan penyalut siap, kemudian ditambahkan 25% sampel yang sebelumnya telah diuji total padatan sehingga didapatkan konsentrasi 25% dari 20% penyalut adalah sebanyak 10,82 ml ekstrak pekat dengan perhitungan pada Lampiran 3 dan Gambar alur prosesnya dapat dilihat pada Lampiran 10. Selanjutnya dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* kecepatan penuh selama ±5 menit. Setelah itu, larutan dikeringkan dengan *freeze dryer* pada suhu -70,8°C selama 36 jam, sehingga



pada akhir proses ini didapatkan mikrokapsul ekstrak teh *Sargassum cristaefolium*.

### 3.3.5. Proses Pembuatan Tablet (Depkes RI, 1979)

Pembuatan tablet dari ekstrak dari alga coklat *Sargassum cristaefolium* adalah dengan metode granulasi basah yaitu zat berkhasiat dan bahan pengisi dicampur sampai homogen, kemudian ditambahkan bahan pengikat yaitu terdiri dari Ekstrak 10% atau  $\pm 60$  mg, Laktosa 60% atau 360 mg, Amilum 25 % atau 150 mg, Avicel 4 % atau 24 mg, dan PVP 1 % atau 6 mg dengan ditambahkan air. Setelah itu diayak menjadi granul dengan ayakan 12 *mesh*, dan dikeringkan dalam oven pengering pada suhu 40<sup>0</sup>-50<sup>0</sup>C selama 120 menit. Setelah kering kemudian diayak kembali dengan ayakan 18 *mesh* untuk memperoleh granul dengan ukuran yang diperlukan dan ditimbang sebanyak  $\pm 600$ mg dicetak menjadi tablet secara manual dengan mesin *Hydraulic press* dan dapat dilihat pada Lampiran 5 dan Gambar alur prosesnya dapat dilihat pada Lampiran 11, dan alat yang digunakan dalam pembuatan tablet (*Hydraulic press*) dapat dilihat pada Gambar 12.



Gambar 12. Alat pencetak tablet (*Hydraulic press*)

### 3.4.6. Uji Disolusi (Depkes RI, 1995)

Pada uji disolusi ini didahului dengan menentukan kurva baku, penentuan kurva baku berdasarkan kandungan zat aktif didalam tablet yaitu flavonoid. Penentuan dari kurva baku ini menggunakan flavonoid jenis kuersetin karena jenis flavonoid tersebut adalah jenis flavonoid yang banyak ditemukan dan terdapat pada tumbuhan serta mudah untuk didapatkan. Penentuan kurva baku flavonoid menggunakan spektrofotometri uv-vis jenis Cary 50 versi 3.00 dengan panjang gelombang maksimal untuk kuersetin konsentrasi 100 ppm yaitu 404 nm. Kurva baku kuersetin menggunakan konsentrasi 1,0 ; 1,2 ; 1,4 ; dan 1,6 ppm. Setelah dibuat konsentrasi lalu dihitung absorbansinya menggunakan spektrofotometri uv-vis sehingga bisa didapatkan persamaan regresi linier  $y = ax + b$  yang diperoleh persamaan regresi  $Y = 0,02434X - 0,00240$  dengan nilai  $R = 0,97621$ .  $Y$  dan dari rumus bisa digunakan untuk menentukan kadar zat terdisolusi pada tablet hasil enkapsulasi ekstrak teh *Sargassum cristaefolium* tersalut Maltodekstrin dan Kappa-karagenan (SRC) menggunakan metode *Freeze drying* dengan pH 3 dan pH 8.

Uji disolusi ini ditujukan untuk mengetahui berapa lama obat dapat larut sehingga dengan uji ini dapat mengetahui obat larut pada menit atau jam ke berapa zat aktif pada obat dapat larut. Pada uji disolusi ini menggunakan alat disolusi tipe 2 (dayung), pertama siapkan bahan uji terlebih dahulu yaitu dapar phosphat 900ml dengan pH 3 dan pH 8 disesuaikan dengan pH saluran cerna pada tubuh, Menurut Gad (2008) pH 1,2 sampai 3,5 merupakan asam kuat di lambung, pH 5 sampai 6 merupakan asam mendekati netral di usus dua belas jari, dan pH 6,5 sampai 8 merupakan basa lemah, netral sampai basa lemah di usus halus dan usus besar. Diduga pada salah satu kondisi pH saluran pencernaan tersebut penyalut dapat mulai terlepas sehingga senyawa bioaktif yang dikandungnya akan keluar atau larut. pembuatan media dapar phosphat

dapat dilihat pada Lampiran 6. Setelah larutan dapar fosfat siap, selanjutnya masukkan larutan tersebut kedalam wadah (*Chamber*), kemudian atur suhu sampai mencapai  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$ . Setelah suhu mencapai  $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$  kemudian masukkan tablet dengan bobot 0,6 gr, kemudian atur kecepatan alat pengaduk pada alat uji disolusi (*dayung*) dengan kecepatan  $\pm 50$  rpm selama 8 jam. Setelah itu larutan di sampling sebanyak 5 mL pada menit ke (60, 120, 180, 240, 300, 360, 420, dan 480) dan dimasukkan pada botol kaca gelap berlabel dengan ketentuan setiap pengambilan larutan sampling, harus segera ditambahkan larutan media yang baru dengan suhu dan volume yang sama seperti banyak volume sampling yang diambil yaitu 5 ml. Kemudian larutan sampling yang disimpan di botol kaca gelap berlabel tersebut diukur absorbansinya dengan menggunakan alat spektrofotometri UV-Vis, kemudian hasil kadar zat yang terdisolusi dihitung dengan menggunakan kurva standar flavonoid quersetin, untuk proses uji disolusi dapat dilihat pada Lampiran 7 dan untuk alat uji disolusi dapat dilihat pada Gambar 13.



**Gambar 13. Alat uji disolusi Tipe II (Dayung)**