

### 3. MATERI DAN METODE PENELITIAN

#### 3.1 Materi Penelitian

Materi penelitian terdiri dari bahan-bahan dan 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 yang digunakan dalam penelitian meliputi bahan utama, bahan-bahan pembuatan teh, bahan-bahan ekstraksi, bahan-bahan enkapsulasi, bahan-bahan pembuatan tablet, dan bahan-bahan pendukung. Bahan utama yang digunakan dalam pembuatan teh yaitu alga coklat *Sargassum cristaefolium* yang diperoleh dari Pantai Ponjuk Pulau Talango Kabupaten Sumenep Madura. Bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan teh antara lain: air dan kapur (gamping). Bahan-bahan yang digunakan untuk ekstraksi terdiri dari etanol dan kertas saring *Whatmann* nomor 1. Bahan yang digunakan untuk uji total padatan adalah kertas saring *Whatmann* nomor 41. Bahan-bahan yang digunakan untuk perlakuan enkapsulasi antara lain : maltodekstrin, kappa karagenan (SRC) dan aquadest. bahan-bahan yang digunakan dalam pembuatan tablet antara lain : amilum, pvp, laktosa dan avicel. pada setiap perlakuan juga dibutuhkan bahan-bahan pendukung seperti air, tisu, aluminium foil dan kertas label.

##### 3.1.2 Peralatan Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi peralatan pembuatan teh, peralatan ekstraksi, peralatan uji total padatan, peralatan enkapsulasi, peralatan pembuatan tablet, peralatan uji fisik tablet. Peralatan pembuatan teh antara lain: terpal, oven, *beaker glass* 2000 ml, timbangan digital,

akuarium besar, baskom, nampan dan gunting. Alat-alat yang digunakan pada perlakuan ekstraksi antara lain: *rotary evaporator*, *beaker glass* 250 ml, *cuvet*, *sentrifuge*, *hot plate*, *magnetic stirrer*, botol kaca gelap, gelas ukur 100 ml, timbangan digital, ayakan 60 mesh, dan *blender*. Peralatan uji padatan antara lain: timbangan analitik, gelas ukur 100 ml, *crushible tang*, desikator, oven, Loyang dan botol timbang. Peralatan yang digunakan pada perlakuan enkapsulasi antara lain: *freeze dryer*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *beaker glass* 100 ml dan timbangan digital. Peralatan yang digunakan dalam pembuatan tablet antara lain: oven, Loyang, timbangan digital, mortal dan alu, ayakan dan *hydraulic press*. sedangkan alat-alat yang digunakan dalam uji fisik tablet antara lain: timbangan digital, *friability tester*, *disintegration tester*, *hardness tester*, jangka sorong.

### 3.2 Metode Penelitian

Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode eksperimen. Menurut Sugiyono (2011), metode eksperimen merupakan metode penelitian yang digunakan untuk mencari pengaruh perlakuan tertentu terhadap yang lain dalam kondisi yang terkendali.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui dan membandingkan sifat fisik tablet ekstrak *Sargassum cristaefolium* kontrol dan tersalut maltodekstrin dan kappa karagenan (SRC) menggunakan metode *freeze drying*.

#### 3.2.1 Variabel Penelitian

Variabel adalah semua ciri atau faktor yang dapat menunjukkan variasi. Berdasarkan fungsinya ada 3 macam variabel yaitu variabel bebas, kontrol, dan terikat. Variabel bebas adalah variabel yang diselidiki pengaruhnya atau faktor yang menjadi pokok permasalahan yang ingin diteliti. Variabel kontrol adalah

variabel yang dikendalikan dan dibuat sama antara kelompok yang diteliti. Variabel terikat yaitu variabel yang diperkirakan akan timbul sebagai pengaruh dari variabel bebas (Hartanto,2003).

Variabel bebas dari penelitian ini adalah tablet ekstrak teh *Sargassum cristaefolium* tanpa penyalut dan tablet tersalut maltodekstrin : kappa karagenan (SRC) , sedangkan variabel terikatnya meliputi uji sifat fisik granul dan uji sifat fisik tablet. Dimana variabel bebas merupakan faktor yang menyebabkan suatu pengaruh, sedangkan variabel terikat merupakan faktor yang muncul disebabkan pengaruh dari variabel bebas.

### 3.3 Rancangan Percobaan dan Analisis Data

Rancangan percobaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Uji t yaitu membandingkan dua macam perlakuan (kontrol dan tersalut maltodekstrin : kappa karagenan (SRC) sehingga diketahui hasil yang beda atau tidak. Dalam penelitian ini dilakukan uji t secara berpasangan. Rumus Uji t sebagai berikut:

$$t_{hitung} = \frac{|\bar{x} - \bar{x}_i|}{S_d}$$

Keterangan:

$\bar{x}$  = rata-rata sampel

$\bar{x}_i$  = rata-rata pembanding

S = ragam

$\bar{d}$  = selisih antara rata-rata sampel dan rata-rata pembanding

Model rancangan percobaan dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Model Rancangan Percobaan

Ulangan	Jumlah hasil uji per tablet		A – B = d
	A	B	
1	A1	B1	d1
2	A2	B2	d2
3	A3	B3	d3
4	A4	B4	d4
5	A5	B5	d5

Keterangan:

A = tablet dengan perlakuan kontrol (tanpa penyalut)

B = tablet dengan perlakuan tersalut maltodekstrin:kappa karagenan (SRC)

Langkah selanjutnya adalah membandingkan antara t hitung dengan t tabel:

- Jika  $t_{0,05(n-1)} < t_{hitung} < t_{0,01(n-1)}$ , maka terima  $H_1$ ; perlakuan A dan B berbeda nyata
- Jika  $t_{hitung} > t_{0,05(n-1)}$ , maka terima  $H_1$ ; perlakuan A dan B berbeda sangat nyata
- Jika  $t_{hitung} < t_{0,05(n-1)}$ , maka terima  $H_0$ ; tidak ada perbedaan antara perlakuan A dan B

### 3.4 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi pembuatan teh *Sargassum cristaefolium*, ekstraksi, enkapsulasi, pembuatan tablet serta analisis uji dengan prosedur penelitian secara umum dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 3.4.1 Pembuatan Teh *Sargassum cristaefolium* (Yuan *et al.*,2015, Masduqi *et al.*,2014 serta Sediadi dan utomo, 2012 yang telah dimodifikasi)

Rumput laut *Sargassum cristaefolium* dicuci untuk meghilangkan kotoran yang menempel, selanjutnya diambil daun dan batang mudanya karena diduga senyawa yang diinginkan banyak terkonsentrasi pada bagian tersebut. Daun dan

batang muda kemudian direndam menggunakan larutan kapur (0,5%) pH 11 dengan perbandingan kira-kira 250 ml air : 1 g kapur : 12,5 g rumput laut selama 4 jam untuk pemucatan dan pengurangan bau. Kemudian rumput laut direndam dengan air bersih selama 24 jam untuk menghilangkan sisa kapur dengan pergantian air pada pagi dan sore hari. setelah proses perendaman selesai, sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan sampai agak kering (lembab) kemudian dilanjutkan dengan pengovenan bersuhu 50% selama 15 jam. Perlakuan pengeringan ini dengan alasan agar didapatkan teh *Sargassum cristaefolium* kering tanpa merusak senyawa bioaktif yang dikandungnya. Pada akhir proses ini didapatkan sampel kering. Proses pembuatan teh *Sargassum cristaefolium* dapat dilihat pada Lampiran 2.

#### **3.4.2 Ekstraksi Teh *Sargassum cristaefolium* (Metode Anaelle *et al.*, 2013; Ambika dan Sujatha, 2015; Septiana dan Asnani, 2012; serta Devi *et al.*, 2012 yang telah dimodifikasi)**

Sampel kering *S. cristaefolium* dihaluskan menggunakan *blander*, kemudian diayak menggunakan ayakan 60 mesh untuk memperluas permukaannya. Kemudian sampel halus ditimbang sebanyak 60 gram lalu ditambah etanol PA sebanyak 450 ml. larutan kemudian dimasukkan dalam botol kaca gelap lalu dipanaskan dengan diaduk menggunakan *magnetic stirrer* dan *hot plate* dengan suhu 40°C selama  $\pm 3$  jam dalam suasana gelap. Perlakuan tersebut merupakan proses inti ekstraksi, penggunaan suhu dan pengadukan bertujuan untuk memaksimalkan ekstraksi, sedangkan perlakuan suasana gelap karena diduga senyawa bioaktif dalam sampel bersifat sensitif terhadap cahaya.

Setelah  $\pm 3$  jam, larutan kemudian dimasukkan dalam cuvet untuk disentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 10 menit. Tujuan sentrifugasi adalah untuk memisahkan residu dan supernatant agar mempermudah proses penyaringan. Selanjutnya supernatant disaring dengan kertas saring *Whatmann*

nomor 1, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 40°C selama 45 rpm, sehingga pada akhir proses ini didapatkan ekstrak pekat. Proses ekstraksi teh *S. cristaefolium* dapat dilihat pada Lampiran 3.

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

Uji total padatan ini dilakukan untuk menentukan volume yang ditambahkan pada larutan penyalut (formulasi mikro kapsul). Sebelum dilakukan uji terlebih dahulu dilakukan preparasi botol timbang dengan tutup setengah tertutup di oven dengan suhu 105°C selama 1 jam. Setelah 1 jam, botol timbang dimasukkan desikator selama 15 menit/sampai dingin kemudian ditimbang beratnya. Proses tersebut diulang sampai diperoleh berat botol timbang konstan (A).

Untuk pengujian, ekstrak pekat yang dihasilkan dari evaporasi dikocok agar persebaran padatan merata, lalu diukur sebanyak 25 ml dan dimasukkan dalam botol timbang, kemudian dipanaskan pada *hot plate* sampai kering. Selanjutnya botol timbang di oven selama 1 jam dengan suhu 105°C, lalu dimasukkan desikator selama 15 menit kemudian ditimbang dengan timbangan analitik. Botol timbang selanjutnya dimasukkan desikator kembali dan ditimbang kembali sampai diperoleh berta konstan (B). kadar padatan total dihitung dengan rumus sebagai berikut.

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

#### 3.4.4 Enkapsulasi (Fernandez *et al.*,2014; Laokuldilok *et al.*,2016; dan Saikia *et al.*,2015 yang telah dimodifikasi)

Pembuatan bahan penyalut dilakukan dengan cara mencampurkan 19,25 gram maltodekstrin dengan 0,75 gram kappa karagenan (SRC) yang dilarutkan dengan aquades sampai 100 ml, lalu dihomogenkan menggunakan *magnetic*

*stirrer* dan *hot plate* bersuhu 70°C sampai larut. Penggunaan suhu disebabkan kappa karagenan (SRC) hanya dapat larut pada suhu air hangat. Kemudian larutan dijenuhkan selama semalam sehingga didapatkan larutan penyalut dengan konsentrasi 20% (19,25% maltodekstrin : 0,75% kappa karagenan). Setelah larutan siap, kemudian ditambahkan 25% sampel yang sebelumnya telah diuji total padatan sehingga didapatkan konsentrasi 25% dari 20% penyalut adalah sebanyak 10,5 ml ekstrak pekat dengan perhitungan pada Lampiran 4. Selanjutnya dihomogenkan dengan magnetic stirrer kecepatan penuh selama  $\pm$  5 menit. Selanjutnya larutan dikeringkan dengan *freeze dryer* pada suhu -70,8°C selama 36 jam, sehingga pada akhir proses diperoleh enkapsulat ekstrak teh *Saragassum cristaefolium*.

#### **3.4.5 Granulasi (Kuswahyuning dan Soebagyo, 2005; Ansel, 2008; Siregar, 2010 yang telah dimodifikasi)**

Pada penelitian ini proses granulasi dilakukan dengan metode granulasi basah yang telah dimodifikasi pada penelitian yang mengalami modifikasi pada cara pencampuran, bahan-bahan pengisi, pengayakan dan waktu pengovenan. Bahan ekstrak serbuk terenkapsulasi ditimbang, lalu dicampurkan dengan bahan laktosa, amilum, avicel dan PVP dengan kadar ekstrak daun *Sargassum cristaefolium* 10% secara manual. Kemudian granul diayak dengan ayakan 12 mesh lalu dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C selama 120 menit, selanjutnya granul yang kering diayak kembali dengan ayakan 18 mesh. Granul yang sudah kering dan homogen kemudian diuji sifat fisik granul yang meliputi: waktu alir dan sudut diam.

#### 3.4.5.1 Uji Waktu Alir dan Sudut Diam (Depkes RI, 1995)

Pengujian waktu alir granul dilakukan dengan cara dimasukkan ke dalam alat uji waktu alir yang berbentuk corong, kemudian penutup corong dibuka sehingga granul keluar. kemudian granul ditampung pada bidang datar, setelah itu waktu alir dicatat dan sudut diamnya dihitung dengan cara mengukur diameter dan tinggi tumpukan granul yang keluar dari mulut corong. Pengujian waktu alir dan sudut diam dilakukan sebanyak 3 kali ulangan dengan sampel sebanyak 50 gram setiap kali ulangan. Syarat sudut diam granul tidak lebih dari 30°C. sedangkan syarat waktu alir granul yaitu tidak lebih dari 10 detik untuk 100 gram granul. Gambar alat uji waktu alir dan sudut diam granul dapat dilihat pada Gambar 3.



**Gambar 3.** Alat Uji Waktu Alir dan Sudut Diam

#### 3.4.6 Proses Pembuatan Tablet (Depkes RI, 1995)

Proses pembuatan tablet dari ekstrak alga coklat (*Sargassum cristaefolium*) adalah dengan metode granulasi basah yaitu zat berkhasiat dan bahan pengisi dicampur sampai homogen, kemudian ditambahkan bahan pengikat. Bahan yang digunakan pembuatan tablet yaitu laktosa 60%, amilum 25%, avicel 4% dan enkapsulat ekstrak *Sargassum cristaefolium* tersalut maltodekstrin dan kappa karagenan (SRC) 10%. Semua bahan yang digunakan dicampur sampai homogen, lalu dicampur bahan pengikat PVP 1% hingga terbentuk massa yang kempal. Setelah itu diayak menjadi granul dengan ayakan

10 mesh, dan dikeringkan dalam menggunakan oven bersuhu 50°C selama 120 menit. Setelah kering kemudian diayak kembali dengan ayakan 16 mesh untuk memperoleh granul dengan ukuran yang diperlukan dan dicetak menjadi tablet secara manual dengan alat pembuat tablet.

#### 3.4.7 Sifat Fisik Tablet (Depkes RI, 1995)

Sifat fisik tablet yang dilakukan terhadap sediaan tablet meliputi: uji keseragaman bobot, uji keseragaman ukuran tablet, kekerasan tablet, waktu hancur tablet dan uji kerapuhan tablet.

##### – Uji Keseragaman Bobot

Diambil 20 tablet secara acak kemudian ditimbang semua tablet dan dihitung rata-ratanya. Setelah itu ditimbang satu persatu tablet dan dibandingkan dengan bobot rata-rata tablet. uji keseragaman bobot dilakukan sebanyak 20 kali ulangan dan setiap uji keseragaman bobot menggunakan sampel 1 butir tablet. Syarat keseragaman bobot tablet dengan bobot lebih dari 300 mg yaitu tidak lebih dari 2 tablet yang bobotnya menyimpang dari bobot rata-rata lebih besar dari 5% dan tidak ada 1 tablet yang bobotnya menyimpang dari bobot rata-rata lebih dari 10%.

##### – Uji Keseragaman Ukuran

Diambil 10 tablet secara acak kemudian setiap tablet diukur diameter tablet dan ketebalan tablet dengan menggunakan jangka sorong. Pengujian ini dilakukan sebanyak 10 kali ulangan dan setiap melakukan uji keseragaman ukuran menggunakan sampel 1 butir tablet.

#### – Uji Kekerasan Tablet

Uji kekerasan tablet dilakukan dengan menggunakan alat *hardness tester*. Uji kekerasan tablet dilakukan dengan cara ambil 20 tablet kemudian letakkan setiap tablet pada ujung *hardness tester* dengan posisi vertikal kemudian sekrup pada ujung yang lain diputar sehingga tablet akan tertekan. Pemutaran sekrup dihentikan pada saat tablet sudah pecah, skala pada saat pecah inilah yang akan menunjukkan kekerasan tablet dalam satuan kg. uji kekerasan tablet dilakukan 20 kali ulangan dan setiap pengujian menggunakan sampel 1 butir tablet. Alat *hardness tester* dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. *Hardness Tester*

#### – Uji Waktu Hancur Tablet

Diambil tablet sebanyak 12 butir secara acak kemudian dimasukkan masing-masing tablet ke dalam alat uji waktu hancur (*desintegrasi tester*). Setelah itu dimasukkan satu cakram pada masing-masing tabung. Air yang digunakan bersuhu 37°C sebagai media. Setelah itu *desintegrasi tester* dinyalakan dan dihitung waktu hancur tablet. Uji waktu hancur dilakukan sebanyak 12 kali ulangan dengan menggunakan sampel sebanyak 1 butir tablet setiap melakukan uji waktu hancur tablet. Alat desintegrasi tester dapat dilihat pada Gambar 5.



**Gambar 5.** Desintegrasi Tester

– **Uji Kerapuhan atau Keregasan**

Diambil 20 tablet lalu dibersihkan dari debu dan ditimbang, setelah itu masukkan tablet ke dalam alat uji kerapuhan (*friability tester*). Alat diputar pada kecepatan 25 rpm selama 4 menit, alat tersebut akan menjatuhkan tablet sejauh 6 inci dalam setiap putaran, kemudian tablet dikeluarkan dan dibersihkan dari debu serta ditimbang kembali, lalu dihitung berkurangnya bobot tablet dalam satuan persen. Syarat kerapuhan tablet lebih kecil dari 1%. Alat *friability tester* dapat dilihat pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Friability Tester

Kerapuhan dalam sediaan pengujian tablet berdasarkan pemaparan dari Martin *et al.*, (1983), dinyatakan dalam selisih berat tablet sebelum dan sesudah pengujian dibagi berat sebelum pengujian dikalikan 100%.

$$\% \text{kerapuhan} = \frac{W_0 - W_1}{W_0} \times 100\%$$

Keterangan :  $W_0$ : berat tablet sebelum diuji

$W_1$  : berat tablet setelah diuji.