

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Desain penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris.

B. Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan dari bulan Juni 2015 sampai November 2015, bertempat di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada, dan Laboratorium Fisika Fakultas MIPA Universitas Gadjah Mada.

C. Variabel Penelitian dan Definisi Operasional

1. Variabel Penelitian

a. Variabel Bebas

Variasi komposisi etil selulosa dan gelatin sebagai polimer yang digunakan untuk formulasi membran hidrogel dengan teknik *ice particle leaching*.

b. Variabel Tergantung

Karakteristik fisik mekanik membran hidrogel meliputi karakteristik organoleptik, besaran tegangan tarik dan konstanta elastisitas, kemampuan membran hidrogel untuk mengembang (% *age swelling*), selisih berat membran sebelum dan sesudah

terdegradasi (*weight loss*), dan *image* hasil pemeriksaan mikroskopik menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*).

- c. Variabel Terkendali
- 1) Perbandingan pelarut terhadap polimer
 - 2) Suhu uji persen *age swelling* dan *weight loss*
 - 3) Waktu yang dibutuhkan dalam pembekuan membran hidrogel
 - 4) Waktu yang dibutuhkan membran hidrogel untuk mengembang dan berdegradasi

2. Definisi Operasional

- a. Variasi komposisi dari membran hidrogel adalah perbandingan antara jumlah massa etil selulosa, gelatin, volume aquadest dan volume etanol.
- b. Metode *ice particle leaching* adalah dengan pembekuan campuran polimer untuk membentuk membran solid dan pelelehan butiran es dalam suhu ruang sehingga menghasilkan membran yang berpori.
- c. Analisis organoleptik adalah mengukur mutu membran hidrogel dengan menggunakan indra manusia.
- d. *Ultimate Tensile Strength* adalah kekuatan mekanis membran dalam menahan beban.
- e. Persen *age swelling* adalah kemampuan membran untuk menyerap air dilihat dari selisih berat basah dan berat kering.
- f. *Weight loss* adalah besarnya kehilangan berat material terhadap waktu yang diukur pada keadaan kering setelah membran mulai mengalami degradasi.

- g. Pemeriksaan mikroskopik menggunakan SEM (*Scanning Electron Microscope*) adalah pemeriksaan morfologi membran dengan mikroskop elektron.

D. Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah pipet ukur, pipet tetes, timbangan analitik, blender, pengaduk, kertas label, gelas beker (Iwaki pyrex®), gelas ukur (Iwaki pyrex®), cawan petri (Steriplan), gelas arloji (Iwaki pyrex®), pembolong hidrogel, *disposable petridish* (Iwaki pyrex®), *hot plate*, *water bath* (Memmert), *Universal Testing Machine (Traveling Microscope)*, SEM (*Scanning Electron Microscope*).

2. Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah etil selulosa (*pharmaceutical grade*), gelatin (*pharmaceutical grade*), etanol 96% dan aquadest yang diperoleh dari CV. General Lab, gliserin (Brataco), metil paraben (Brataco), propil paraben (Brataco), NaCl fisiologis yang diperoleh dari PT. Otsuka

E. Cara Kerja

1. Formulasi Membran Hidrogel

Formulasi membran hidrogel dilakukan dengan beberapa bahan yaitu etil selulosa, gelatin, etanol, dan aquadest. Perbandingan jumlah komponen dapat dilihat pada Tabel 1 di bawah ini.

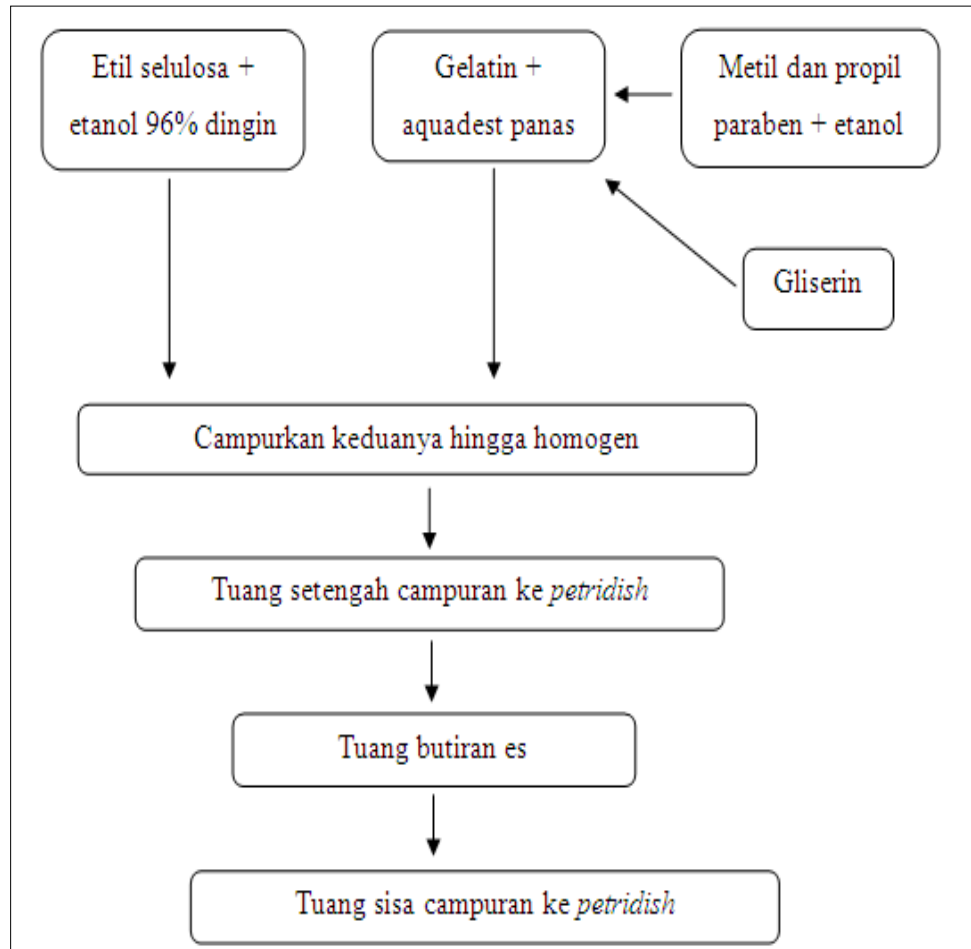
Tabel 1. Perbandingan Jumlah Komponen

| Formula | Komponen | | | | | |
|---------|----------------------|----------------|-----------------|---------------|------------------------------|------------------|
| | Etil Selulosa (gram) | Gelatin (gram) | Etanol 96% (ml) | Aquadest (ml) | Metil dan Propil Paraben (%) | Gliserin (tetes) |
| 1 | 3 | 3 | 10 | 6 | 0,1 | 6 |
| 2 | 2,4 | 3,6 | 7 | 6 | 0,1 | 6 |
| 3 | 2 | 4 | 5 | 6 | 0,1 | 6 |

Formulasi membran hidrogel berpori dilakukan dengan beberapa komposisi campuran etil selulosa dan gelatin. Perbandingan etil selulosa dan gelatin yang digunakan adalah formula satu (F1) 1:1, formula dua 1:1,5 dan formula tiga 1:2. Formula tersebut didapatkan dari hasil *trial and error* yang dilakukan sebelumnya. Formula dengan perbandingan 3:1 ketika sudah dikeringkan menghasilkan membran hidrogel yang mudah patah atau rapuh dikarenakan adanya gugus yang tidak berikatan silang dengan gelatin, sedangkan perbandingan 1:3 menghasilkan membran hidrogel yang terlalu keras hal ini dikarenakan sifat gelatin yang dipengaruhi oleh berat molekul dan panjang ikatan rantai asam aminonya. Semakin panjang ikatan rantai asam amino maka berat molekul gelatin semakin besar sehingga ikatan yang terbentuk semakin padat dan kuat (Junianto, 2006). Metode pelarutan digunakan

dalam pembuatan formulasi ini. Etil selulosa dilarutkan dalam etanol 96% sebanyak 10 ml untuk formula satu, 7 ml untuk formula dua dan 5 ml untuk formula tiga. Volume etanol yang digunakan berbeda-beda karena pada volume tertentu ikatan antara etanol dan etil selulosa sudah mengalami kejenuhan sehingga berapapun volume etanol yang diberikan maka tidak akan berpengaruh terhadap kelarutan etil selulosa. Gelatin dilarutkan dengan aquadest panas masing-masing formula sebanyak 6 ml karena pada volume tersebut gelatin sudah dapat larut dan membentuk campuran yang tidak terlalu kental maupun cair. Gelatin yang telah dilarutkan kemudian ditambahkan antimikroba yaitu metil paraben dan propil paraben dengan konsentrasi 0,1% yang diperoleh dari perhitungan (Lampiran 1). Campuran tersebut kemudian ditambahkan 6 tetes gliserin untuk menambah elastisitas membran. Perhitungan volume gliserin dapat dilihat pada perhitungan (Lampiran 1). Bahan yang sudah homogen tersebut dituang secara bertahap dalam *disposable petri dish* hal ini untuk memudahkan butiran es untuk membentuk pori saat setelah terjadi pelelehan membran hidrogel. Campuran hidrogel ditambahkan butiran es sebagai agen pembentuk pori melalui dua tahap yaitu setengah campuran hidrogel dituang dalam *petri dish* kemudian ditambahkan butiran es pada permukaannya dan ditambahkan sisa campuran hidrogel serta butiran es. Pembentukan membran berpori dengan metode *ice particle leaching* dilakukan dengan membekukan membran pada almari es agar terbentuk solid selama 24 jam, kemudian komponen air yang membeku

dilelehkan pada suhu ruang selama kurang lebih 6 hari. Skema pembuatan membran hidrogel berpori dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 1. Skema Prosedur Pembuatan

2. Analisis Karakteristik Membran Hidrogel

a. Analisis Organoleptik

Membran hidrogel dari kombinasi etil selulosa dan gelatin dianalisis karakteristik fisiknya secara organoleptik. Aspek yang dianalisis meliputi

warna, kehalusan dan elastisitas dengan menggunakan panca indra manusia.

b. Uji Kekuatan Tarik (*Tensile Strength*)

Membran dipotong dengan lebar 2 cm dan panjang 6 cm kemudian diletakkan antara pelat atas dan bawah dari *tensile tester* (Dutta, 2012). Kekuatan tarik diperoleh dengan menggunakan pengukuran elastisitas (k) dan gaya putus membran yang dikonversi menjadi nilai UTS (*Ultimate Tensile Strength*). Pengukuran gaya putus (F) dilakukan dengan memberi beban pada sampel dan perhitungan waktu dengan persamaan 1.

$$UTS = \frac{F}{A} \quad (1)$$

c. Analisis Persen *Age Swelling*

Analisis persen *age swelling* dilakukan dengan memotong sampel sebagai berat kering kemudian ditambahkan 1 mL NaCl fisiologis ke dalam masing-masing *test tube*, setelah itu sampel diinkubasi selama 5 menit pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, NaCl fisiologis diserap dengan kertas adsorben kemudian sampel dibilas dengan aquadest. Aquadest bekas bilasan dihilangkan dengan kertas adsorben dan dilakukan perhitungan berat basah dengan persamaan 2.

$$\% S = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100 \quad (2)$$

d. Analisis *Weight Loss*

Langkah yang dilakukan adalah dengan menimbang berat kering membran pada waktu $t=0$ kemudian direndam di dalam NaCl fisiologis dengan interval waktu 15 dan 30 menit pada suhu 37°C . Kemudian ditimbang untuk mengetahui berat basah, sebagai $t=n$. Besar *weight loss* dihitung menggunakan persamaan 3.

$$\text{Weight loss} = \frac{W_{d,t=0} - W_{d,t=n}}{W_{d,t=0}} \quad (3)$$

e. Pemeriksaan Mikroskopik (*Scanning Electron Microscope*)

Morfologi permukaan membran diamati menggunakan alat *Scanning Electron Microscope* dengan perbesaran hingga 10.000 kali dengan standar ASTM F2900-11 yaitu suatu standar metode yang digunakan untuk mengetahui karakterisasi hidrogel dalam produk rekayasa jaringan (*International ASTM, 2011*).

F. Analisa Data

Analisis data dilakukan secara kuantitatif dengan metode statistik parametrik yaitu uji analisis variansi (ANOVA) satu jalur. ANOVA satu jalur digunakan untuk menguji rata-rata lebih dari dua sampel berbeda dengan tingkat signifikansi 95%. Data disajikan sebagai rata-rata \pm standar deviasi. Sebelum menggunakan hasil analisis ini sebagai alat pengambil keputusan, harus diuji terlebih dahulu validitas hasil analisisnya. Kevalidan hasil dapat diketahui melalui uji asumsi yang mendasari ANOVA satu jalur, asumsi

pertama yaitu populasi terdistribusi normal, kedua sampel diambil secara acak dari masing-masing populasi, dan ketiga adalah variansi semua populasi sama (*homogeneity of variance*). Sampel yang digunakan kurang dari 50 maka untuk asumsi pertama dan ke dua dapat dilihat dari *test normality Shapiro-Wilk*, sedangkan pada asumsi ketiga harus dipenuhi saat pengambilan sampel yang dilakukan secara acak terhadap beberapa kelompok yang independen. Apabila salah satu asumsi tersebut tidak dipenuhi maka uji ANOVA satu jalur tidak dapat digunakan sebagai alat pengambil keputusan yang valid sehingga harus menggunakan metode statistik non-parametrik yaitu *Kruskal Wallis Test*