

BAB IV

PROSEDUR KERJA

4.1. Karakterisasi Serbuk Getah Jarak Cina

Uji stabilitas serbuk getah jarak cina dilakukan untuk memastikan serbuk yang akan digunakan masih layak untuk digunakan dengan menguji beberapa senyawa aktif yang dapat memberikan efek penyembuhan luka yaitu flavonoid, saponin, tanin dan kadar air.

4.1.1. Flavonoid

Sejumlah 1 gram serbuk simplisia atau serbuk ekstrak ditambah dengan 100 mL air panas, dididihkan selama 15 menit, kemudian disaring. Filtrat (larutan C) juga digunakan untuk pemeriksaan saponin, tanin dan kuinon. Larutan C sebanyak 5 mL ditambah serbuk magnesium, asam klorida dan amil alkohol, dikocok dengan kuat-kuat dan kemudian dibiarkan memisah. Terbentuknya warna jingga sampai merah muda pada lapisan amil alkohol menunjukkan adanya flavonoid (Farnsworth, 1966:263).

4.1.2. Saponin

Larutan C sebanyak 10 mL dalam tabung reaksi dikocok vertikal selama 10 detik, kemudian dibiarkan selama 10 menit. terbentuknya busa yang menetap selama tidak kurang dari 10 menit dengan tinggi 1-10 cm maka saponin positif. Busa ditambah dengan asam klorida 2N beberapa tetes, apabila busa hilang maka saponin negatif dan apabila busa tidak hilang maka simplisia positif mengandung saponin (Farnsworth, 1966:257).

4.1.3. Tanin

Sebanyak 15 mL larutan C dibagi menjadi tiga. Pertama ditambahkan dengan besi (III) klorida akan terbentuk warna hijau, violet atau hitam (fenol positif). Kedua ditambahkan dengan gelatin 1% dan terbentuk endapan putih (tanin positif). Ketiga ditambahkan dengan pereaksi Steasny terbentuk endapan merah muda (tanin katekat positif). Hasil dari bagian ketiga disaring dan filtratnya ditambahkan dengan natrium asetat dan besi (III) klorida terbentuk endapan biru tinta (tanin galat positif) (Farnsworth, 1966:264).

4.1.4. Kadar Air

Pengukuran kadar air dilakukan dengan menggunakan *moisture analyzer* dengan cara sebagai berikut: tombol on/off ditekan dan penutup dibuka, pan kosong ditempatkan kedalam alat dan ditutup kembali untuk mengnolkan (tare). Setelah stabil dan layar menunjukkan indikator, tutup kembali dibuka dan sampel ditambahkan sebanyak 0,5 gram. Kemudian alat akan memulai proses pengeringan sampai indikator hitam putih terlihat yang menunjukkan proses pengeringan telah selesai.

4.2. Orientasi Formula Basis Hidrogel

Orientasi konsentrasi basis hidrogel dilakukan dengan membuat basis hidrogel tanpa bahan aktif. Pertama dilakukan orientasi penambahan kalsium klorida pada karagenan pada beberapa variasi konsentrasi dapat dilihat pada **Tabel III.1**. Selanjutnya dilakukan orientasi PVP dan PVA dalam berbagai konsentrasi dengan penambahan polietilen glikol 1%, gliserin 1% dan 1%

agar. Setelah formula selesai, dimasukkan dalam cawan petri. Lalu, cawan petri yang telah berisi formula hidrogel diletakkan di *freezer refrigerator* pada suhu -20°C selama 18 jam. Setelah proses *freezing*, dilakukan *thawing* larutan yang beku pada suhu ruang selama 6 jam. perlakuan ini disebut satu siklus. Siklus yang digunakan pada penelitian ini yaitu 3,4, dan 5 siklus untuk mendapatkan siklus yang paling baik dalam pembentukan hidrogel. Formula basis hidrogel dapat dilihat pada **Tabel IV.2**.

Tabel IV.1 Orientasi Kalsium Klorida

Jenis bahan	Formula (%)			
	1	2	3	4
Karagenan	2	2	2	2
CaCl ₂	0,2	0,4	0,6	0,8

Tabel IV.2 Orientasi Basis Hidrogel

Jenis bahan	Formula (%)						
	1	2	3	4	5	6	7
PVP	7	1	2	3	-	-	-
PVA	3	-	-	-	1	2	3
Karagenan	-	2	2	2	2	2	2
CaCl ₂	-	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
PEG 400	1	1	1	1	1	1	1
Gliserin	1	1	1	1	1	1	1
Agar	1	1	1	1	1	1	1
Aquadest ad	100	100	100	100	100	100	100

4.3. Pembuatan Hidrogel Serbuk Getah Jarak Cina

Langkah awal pembuatan hidrogel yaitu penimbangan semua bahan yang akan digunakan seperti Poly-N-vinylpyrrolidone (PVP), Polivinil Alkohol (PVA), Karagenan, kalsium klorida, Polietilen Glikol 400 (PEG 400), Gliserin dan agar. Semua bahan di sterilisasi kemudian bahan dilarutkan satu per satu, diawali dengan melarutkan PVP/PVA dalam 30 ml aquades menggunakan pengaduk mekanik pada suhu $120^{\circ}\text{C} \pm 20$ menit. Lalu, dilarutkan bahan lainnya seperti

karagenan dan ditambahkan 50 ml aquades \pm 1,5 jam. Kedalam larutan, kemudian ditambahkan bahan lain seperti kalsium klorida, nipagin, nipasol, polietilen glikol, gliserin dan agar 1%. Serbuk getah jarak cina ditambahkan ke dalam basis hidrogel, diaduk hingga homogen dan ditambahkan aquades sampai 100 ml. Kemudian dilakukan proses *freeze and thawing* sesuai dengan siklus yang terpilih.

4.4. Evaluasi Hidrogel

Evaluasi sediaan hidrogel dilakukan untuk mengetahui sifat dan karakteristik dari hidrogel. Evaluasi hidrogel meliputi pengamatan organoleptik, rasio *swelling*, fraksi gel, uji tegangan putus hidrogel dan uji sterilitas.

4.4.1. Pengamatan organoleptik

Dilakukan dengan mengamati perubahan-perubahan bentuk, warna, dan bau dari sediaan hidrogel secara visual pada setiap siklus.

4.4.2 Rasio *swelling*

Evaluasi rasio *swelling* dilakukan untuk mengetahui kapasitas penyerapan cairan yang dapat masuk ke dalam kerangka jaringan hidrogel. Adapun prosedur evaluasi rasio *swelling*, awalnya dipotong hidrogel seberat 3 gram, lalu hidrogel dikeringkan pada suhu $50^{\circ}\text{C} \pm 4$ jam dan ditimbang sebagai W_d . Selanjutnya hidrogel yang telah kering direndam dalam aquades 100 ml pada suhu ruang. Pada saat 1 jam pertama, 2 jam, 24 jam hidrogel ditimbang untuk mengetahui kemampuan *swelling* (W_s) sampai 48 jam perendaman. Lalu, dilakukan perhitungan rasio *swelling* dengan rumus berikut (Atikah dkk., 2013:5) :

$$\text{Rasio } swelling = \frac{W_s - W_d}{W_d} \quad (1)$$

4.4.3 Fraksi gel

Evaluasi fraksi gel dilakukan untuk memprediksi ikatan silang antar polimer yang berbentuk. Adapun prosedur evaluasi fraksi gel awalnya hidrogel dipotong seberat 3 gram. Lalu, hidrogel kering dibungkus dengan kain kasa dan direndam dalam aquades sampai terendam sempurna selama 24 jam. Hidrogel yang tersisa di kain kasa dikeringkan kembali dalam oven. Setelah itu, hidrogel ditimbang kembali sebagai bobot kering akhir (W_1). Lalu dilakukan perhitungan persentase fraksi gel menggunakan rumus berikut (Atikah dkk., 2013:3) :

$$\% \text{Fraksi gel} = \frac{W_1}{W_0} \times 100\% \quad (2)$$

4.4.4 Uji tegangan putus hidrogel

Sifat mekanik yaitu tegangan putus dan perpanjangan putus diukur dengan menggunakan alat Instron Universal Testing Instrument Model 1122 (Toyoseiki, Japan) dengan kecepatan tarik 50 mm/menit pada suhu kamar. Uji tegangan putus dilakukan di Balai Besar Tekstil Bandung. Selanjutnya hidrogel dengan bentuk *dumbbell* tersebut pada kedua ujungnya dijepit dengan alat penjepit khusus, dan mesin dinyalakan pada posisi *on*, maka akan terjadi proses penarikan pada salah satu posisi penjepit. Ukuran tegangan putus pada hidrogel dari mesin diukur pada saat hidrogel putus pada posisi tengahnya (Erizal, 2008:272).

4.4.5 Uji sterilitas

Dari sediaan diambil secara aseptik sejumlah 250 mg sampai 500 mg dan dipindahkan bagian bahan uji tersebut kedalam sejumlah tertentu wadah bagian

media (Depkes RI, 1995:860). Campuran uji diinkubasi dengan Media Tioglikolat cair selama 14 hari pada suhu 30°C hingga 35°C. pertumbuhan pada media diamati secara visual pada hari ke-3 atau ke-4 atau ke-5, pada hari ke-7 atau ke-8 dan pada hari terakhir dari masa uji. (Depkes RI, 1995:859).

