

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari bulan Maret sampai dengan November 2016. Adapun pelaksanaan penelitian dilakukan di Laboratorium Riset, Laboratorium Kimia Instrumen (LKI), Laboratorium Kimia Organik dan Biokimia Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia; Laboratorium Farmasi Bahan Alam Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung; Laboratorium Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Garut; dan *Center for Energy and Environmental Science*, Universitas Shinshu, Jepang.

3.2. Alat dan Bahan Penelitian

3.2.1. Alat

Peralatan yang digunakan pada tahap ekstraksi dan sintesis meliputi alat-alat gelas, satu set *rotary evaporator vacuum*, pompa vakum, neraca analitik, corong *Buchner*, *freeze dryer*, *stirrer*, *magnetic stirrer*, spatula, kaca arloji, corong kaca, pipet tetes, *sentrifuge* dan oven. Pada tahap karakterisasi, instrumen yang digunakan adalah spektrometer FTIR Shimadzu 8400, TG/DTA Shimadzu tipe DTG-60H, *Field Emission – Scanning Electron Microscopy* (FE-SEM) Hitachi SU800, dan *X-Ray Diffraction* (XRD) SmartLab and MiniflexII, Rigaku. Pada tahap uji katalepsi, peralatan yang digunakan diantaranya sonde, suntikan, spuit 3 ml, labu ukur, lumpang, alu, gelas ukur, dan kandang polipropilen.

3.2.2. Bahan

Pada penelitian ini, bahan yang digunakan adalah biji karabenguk (*Mucuna pruriens* Linn var. *Utilis*) yang diperoleh dari Bantul, Yogyakarta. Bahan kimia yang digunakan pada ekstraksi biji karabenguk dan sintesis nanopartikel magnetite-ekstrak biji karabenguk (Fe-MPn) meliputi akuades, etanol 96% teknis, asam sitrat p.a, FeCl₃ p.a., kertas indikator pH, dan kertas saring Whatman No.42. Sedangkan

pada uji katalepsi, hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan dan betina usia tiga bulan dengan berat badan sebesar 18-35 gram sebanyak 21 ekor, pakan mencit

CP 551, Haloperidol, PGA (*Poly Glutamic Acid*) dan L-DOPA standar.

3.3. Metode Penelitian

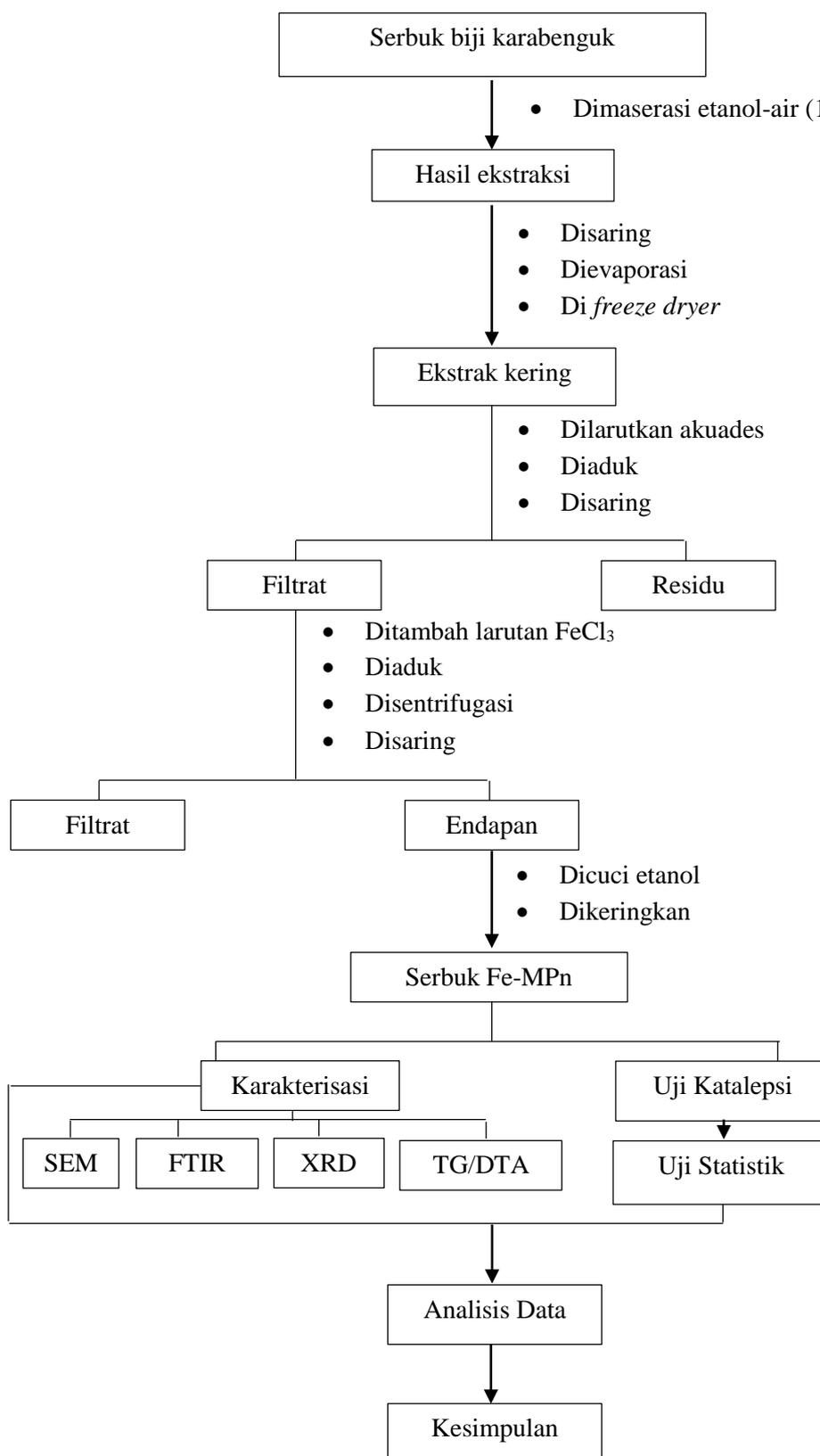
Penelitian ini dilaksanakan dalam beberapa tahap meliputi ekstraksi sampel; sintesis Fe-MPn; karakterisasi Fe-MPn berupa uji *Scanning Electron Microscopy* (SEM), spektroskopi *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *X-Ray Diffraction* (XRD), dan *Thermo Gravimetric/Differential Thermal Analysis* (TG/DTA); serta uji katalepsi. Alur metode penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.1.

3.3.1. Ekstraksi Sampel

Serbuk biji karabenguk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol-air (perbandingan volume 1:1) dan ditambahkan asam sitrat hingga pH 3. Filtrat hasil ekstraksi diuapkan sampai kering pada suhu 40°C di bawah tekanan rendah dalam *rotary vacuum evaporator*. Ekstrak biji karabenguk dikeringkan menggunakan *freeze dryer* dan hasilnya disimpan dalam wadah dengan kondisi vakum.

3.3.2. Sintesis Nanopartikel Magnetite - Ekstrak Biji Karabenguk (Fe-MPn)

Larutan ekstrak biji karabenguk konsentrasi 10.000 ppm dipreparasi dengan melarutkan 1 gram serbuk ekstrak biji karabenguk dalam 100 ml akuades dan diaduk selama 15 menit, kemudian disaring. Fe-MPn dipreparasi dengan menambahkan larutan ekstrak biji karabenguk konsentrasi 10.000 ppm tetes demi tetes ke dalam larutan FeCl₃ 0,01 M dengan perbandingan volume 1:1. Campuran tersebut diaduk selama 30 menit dan didiamkan dalam suhu ruangan selama 24 jam. Perubahan warna larutan dari coklat ke hitam mengindikasikan pembentukan nanopartikel magnetite. Suspensi yang dihasilkan disentrifugasi dengan kecepatan 5000 rpm dan dicuci beberapa kali menggunakan etanol dan dikeringkan dalam oven dengan suhu 40°C untuk menghasilkan serbuk Fe-MPn.



Gambar 3.1. Alur Metode Penelitian

3.3.3. Karakterisasi Nanopartikel Magnetite - Ekstrak Biji Karabenguk (Fe-MPn)

3.3.3.1. *Scanning Electron Microscopy (SEM)*

Karakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscopy (SEM)* dilakukan untuk mengetahui bentuk dan ukuran Fe-MPn yang terbentuk. SEM yang digunakan dalam penelitian ini adalah FE-SEM Hitachi SU800.

3.3.3.2. *Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR)*

Karakterisasi gugus fungsi senyawa yang terkandung dalam ekstrak biji karabenguk dan Fe-MPn dilakukan dengan spektroskopi FTIR. Penentuan gugus-gugus fungsi ini dilakukan menggunakan spektroskopi FTIR Shimadzu 8400 dengan *range* 4000-400 cm^{-1} .

3.3.3.3. *X-Ray Diffraction (XRD)*

Karakterisasi menggunakan XRD dilakukan untuk menganalisa sinar X yang dihamburkan oleh material sampel dan mengetahui bentuk kristal nanopartikel. Pengukuran XRD Fe-MPn dilakukan dengan instrument SmartLab and MiniflexII, Rigaku dengan radiasi Cu-K α ($\lambda = 0.154 \text{ nm}$).

3.3.3.4. *Thermo Gravimetric/Differential Thermal Analysis (TG/DTA)*

Karakterisasi menggunakan TG/DTA dilakukan untuk mengetahui kestabilan termal dari Fe-MPn. Pada prinsipnya, sampel dialirkan gas nitrogen dan dipanaskan pada laju konstan (berkisar 1-10 $^{\circ}\text{C}$ /menit) hingga suhu tertentu. Instrumen yang digunakan adalah TG/DTA Shimadzu tipe DTG-60H.

3.3.4. Uji Katalepsi

3.3.4.1. Preparasi Hewan Uji

Mencit yang digunakan adalah mencit jantan dan mencit betina usia tiga bulan dengan berat badan berkisar 18-35 gram. Mencit dijaga dalam kondisi standar $\pm 22^{\circ}\text{C}$, dalam kandang polipropilen selama kurang lebih satu minggu untuk beradaptasi dengan kondisi laboratorium. Mencit diberi pakan CP 551 dan minum

air mineral. Mencit didistribusikan ke dalam tujuh kelompok yang berbeda dengan masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor mencit.

3.3.4.2. Preparasi Pembuatan Dosis

Pada uji katalepsi, dosis ekstrak biji karabenguk yang digunakan adalah dosis 200 mg/kg berat badan. Sedangkan dosis nanopartikel magnetite – ekstrak biji karabenguk (Fe-MPn) yang digunakan adalah dosis 5 mg/kg, 15 mg/kg, dan 25 mg/kg berat badan.

1. Pembuatan sediaan ekstrak biji karabenguk dosis 200 mg/kg berat badan

Ekstrak biji karabenguk sebanyak 200 mg dan PGA sebanyak 100 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan air sedikit demi sedikit lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan air sampai tanda batas dan dihomogenkan.

2. Pembuatan sediaan Fe-MPn dosis 25 mg/kg berat badan

Serbuk Fe-MPn sebanyak 25 mg dan PGA sebanyak 100 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan air sedikit demi sedikit lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan air sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3. Pembuatan sediaan Fe-MPn dosis 15 mg/kg berat badan

Dosis Fe-MPn 25 mg/kg berat badan diambil 6 ml kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan diencerkan dengan air.

4. Pembuatan sediaan Fe-MPn dosis 5 mg/kg berat badan

Dosis Fe-MPn 25 mg/kg berat badan diambil 2 ml kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan diencerkan dengan air.

5. Pembuatan sediaan haloperidol dosis 5 mg/70kg berat badan

Haloperidol sebanyak 5 mg dan PGA sebanyak 100 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan air sedikit demi sedikit lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan air sampai tanda batas dan dihomogenkan.

6. Pembuatan sediaan PGA 1%

PGA sebanyak 100 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan air sedikit demi sedikit lalu dimasukkan ke dalam

labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan air sampai tanda batas dan dihomogenkan.

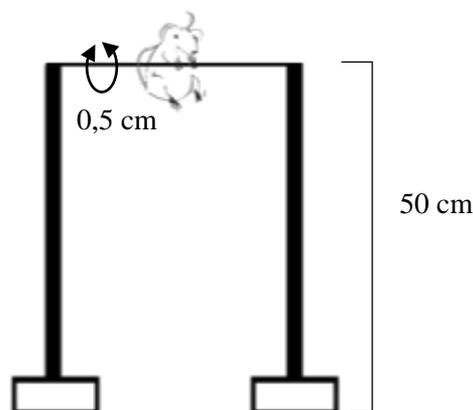
7. Pembuatan sediaan L-DOPA dosis 10 mg/kg berat badan

L-DOPA sebanyak 10 mg dan PGA sebanyak 100 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan air sedikit demi sedikit lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml, kemudian ditambahkan air sampai tanda batas dan dihomogenkan

3.3.4.3. Tahap Pengujian

Mencit dibagi menjadi tujuh kelompok utama yaitu kelompok kontrol normal (mencit sehat), kelompok kontrol negatif (mencit yang diberi haloperidol 5 mg/70 kg), kelompok kontrol positif I (mencit yang diberi L-DOPA 10 mg/kg), kelompok kontrol positif II (mencit yang diberi ekstrak biji karabenguk dosis 200 mg/kg), kelompok uji dosis I (mencit yang diberi Fe-MPn dosis 5 mg/kg), kelompok uji dosis II (mencit yang diberi Fe-MPn dosis 15 mg/kg), dan kelompok uji dosis III (mencit yang diberi Fe-MPn dosis 25 mg/kg).

Intensitas katalepsi diukur sebagai lamanya waktu mencit menggantung dengan kedua kaki depan memegang kawat berdiameter 0,5 cm dengan tinggi 50 cm tanpa melakukan pergerakan. Pengamatan katalepsi dilakukan setelah 30 menit pemberian suspensi haloperidol. Haloperidol diberikan pada mencit secara oral 30 menit setelah pemberian suspensi pembawa (PGA 1%) atau Fe-MPn dosis 5 mg/kg, 15 mg/kg, 25 mg/kg berat badan, ekstrak biji karabenguk dosis 200 mg/kg berat badan, dan L-DOPA dosis 10 mg/kg berat badan yang diberikan secara oral juga (Costall & Olley, 1971). Volume dosis yang diberikan disesuaikan dengan massa setiap mencit. Skema pengujian katalepsi ditunjukkan pada Gambar 3.2.



Diani Dwi Erfianty, 2016

SINTESIS NANOPARTIKEL MAGNETITE - EKSTRAK BIJI KARABENGGUK (*Mucuna pruriens* Linn var. *Utilis*) INDONESIA DAN UJI POTENSINYA DALAM MENURUNKAN KATALEPSI PADA MENCIT
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Gambar 3.2. Skema pengujian katalepsi

3.3.5. Analisis Data

Data hasil uji pengujian katalepsi pada mencit kemudian diolah secara statistik menggunakan *one-way* ANOVA metode Dunnet. Data tersebut dianalisis dengan menggunakan bantuan software SPSS 22. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk melihat signifikansi data hasil pengujian katalepsi (Ardianti, 2014).