

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan tempat penelitian**

Penelitian ini dilakukan dari bulan Februari sampai Juli 2019 dan dilaksanakan di Laboratorium Riset gedung FPMIPA B, Laboratorium Kimia Instrumen (LKI), Departemen Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FPMIPA UPI), dan Laboratorium hewan fakultas farmasi Universitas Islam Bandung.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

##### **3.2.1 Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi:

- a. Pada tahap ekstraksi dan sintesis peralatan yang digunakan meliputi alat-alat gelas, satu set *rotary vacuum evaporator*, pompa vakum, neraca analitik, corong Buchner, pH meter, *freeze dryer*, *stirrer*, *magnetic stirrer*, spatula, kaca aroji, corong kaca, pipet tetes, *sentrifuge*, sonikator, dan oven.
- b. Pada tahap karakterisasi, instrumen yang digunakan adalah spektrometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Prestige 21 Shimadzu, *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX) IT 300 (LA), dan *X-Ray Diffraction* (XRD).
- c. Pada tahap uji katalepsi, peralatan yang digunakan diantaranya sonde, suntikan 1 mL, pipet 3 mL, labu ukur 10 mL, lumpang, alu, gelas ukur 10 mL, alat uji katalepsi.

##### **3.2.2 Bahan**

Pada penelitian ini, bahan yang digunakan adalah biji karabenguk (*Mucuna pruriens* L.). Bahan kimia yang digunakan pada ekstraksi biji karabenguk dan sintesis perak-biji karabenguk-nanopartikel meliputi aquades, etanol 96% teknis, aqua demineralisasi, asam sitrat p.a, perak nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) p.a, dan kertas saring Whatman. Sedangkan pada uji katalepsi, hewan uji yang digunakan adalah mencit (*Mus musculus*), pakan mencit, Haloperidol, PGA (*Poly Glutamic Acid*) dan L-Dopa standar.

### 3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 4 tahap, yaitu (1) tahap ekstraksi biji karabenguk (*Mucuna pruriens*); (2) optimasi sintesis nanopartikel perak-ekstrak biji karabenguk (*Mucuna pruriens*) (AgMPn) (3) Karakterisasi nanopartikel perak-ekstrak biji karabenguk (*Mucuna pruriens*) (AgMPn) dengan menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR), *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX), dan X-Ray Diffraction (XRD); dan (4) uji katalapsi terhadap mencit. Bagan alir penelitian yang dilakukan dapat dilihat pada Gambar 3.1

#### 3.3.1 Ekstraksi Biji Karabenguk (*Mucuna pruriens*)

Serbuk biji karabenguk (*Mucuna pruriens* L.) diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% : aquades dengan perbandingan volume (1:1) kemudian pelarut ditambahkan asam sitrat sampai pH larutan 3. Teknik ekstraksi yang digunakan adalah cair-padat dengan metode maserasi. Sampel direndam dalam pelarut selama 3 x 24 jam dengan penggantian pelarut baru setiap 24 jam. Maserat ditambahkan NaOH hingga pH larutan netral, kemudian maserat diuapkan pelarutnya dengan menggunakan rotary vacuum evaporator hingga diperoleh ekstrak yang lebih pekat, kemudian dengan menggunakan alat *freeze dryer* ekstrak cair dikeringkan sampai didapatkan ekstrak karabenguk yang kering.

#### 3.3.2 Optimasi sintesis nanopartikel perak-ekstrak biji karabenguk (*Mucuna pruriens* L.) (AgMPn)

##### 3.3.2.1 Optimasi sintesis nanopartikel perak-ekstrak biji karabenguk (*Mucuna pruriens* L.) (AgMPn) berdasarkan perbedaan konsentrasi

Variasi konsentrasi AgNO<sub>3</sub> : ekstrak biji karabenguk yang digunakan pada optimasi konsentrasi yaitu 1:5, 1:3, 1:2, 3:1 dan 2:1. Pada optimasi AgMPn 1:5 larutan ekstrak biji karabenguk 50.000 ppm dipaparkan dengan melarutkan 0,5 gram serbuk ekstrak biji karabenguk dalam 10 mL aqua demineralisasi, larutan perak nitrat 10.000 dipaparkan dengan melarutkan 0,1 gram perak nitrat dalam aqua demineralisasi, percobaan dilakukan sebanyak triplo, kemudian masing-masing larutan tersebut disonikasi selama 15 menit. Larutan ekstrak karabenguk di stirrer selama 15 menit. Lalu larutan ekstrak dipipet secara perlahan kedalam larutan perak nitrat (10.000 ppm,

Kissi Hannani Fitriani, 2019

OPTIMASI SINTESIS NANOPARTIKEL PERAK-EKSTRAK BIJI KARABENGGUK (*Mucuna pruriens* L.) (AgMPn) DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTI PARKINSON

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

10 mL), selama sintesis AgMPn berlangsung, larutan disonikasi selama 100 menit, larutan tidak berwarna secara perlahan berubah menjadi abu-abu dan akhirnya terbentuk larutan berwarna abu-abu. Hal ini mengindikasikan terbentuknya AgMPn. Kemudian larutan AgMPn di stirrer selama 20 menit dengan kecepatan 500 rpm agar partikel yang dihasilkan memiliki bentuk/ukuran yang seragam. Setelah itu, larutan yang terbentuk disimpan pada suhu ruang selama 24 jam. Lalu, suspensi koloid yang dihasilkan disentrifugasi dengan kecepatan 4.000 rpm. Supernatan yang terbentuk kemudian dipisahkan dan dikeringkan menggunakan hotplate pada suhu 75°C.

### **3.3.2.2 Optimasi sintesis nanopartikel perak-ekstrak biji karabenguk (*Mucuna pruriens* L.) (AgMPn) berdasarkan perbedaan waktu homogenasi**

Variasi waktu reaksi AgNO<sub>3</sub> dan ekstrak biji karabenguk berdasarkan waktu homogenasi (pengadukan) yaitu 5 menit, 10 menit, 20 menit, 60 menit dan 80 menit.

### **3.3.3 Karakterisasi nanopartikel perak-ekstrak biji karabenguk (*Mucuna pruriens* L.) (AgMPn)**

#### **3.3.3.1 Spektroskopi Fourir Transform Infrared (FTIR)**

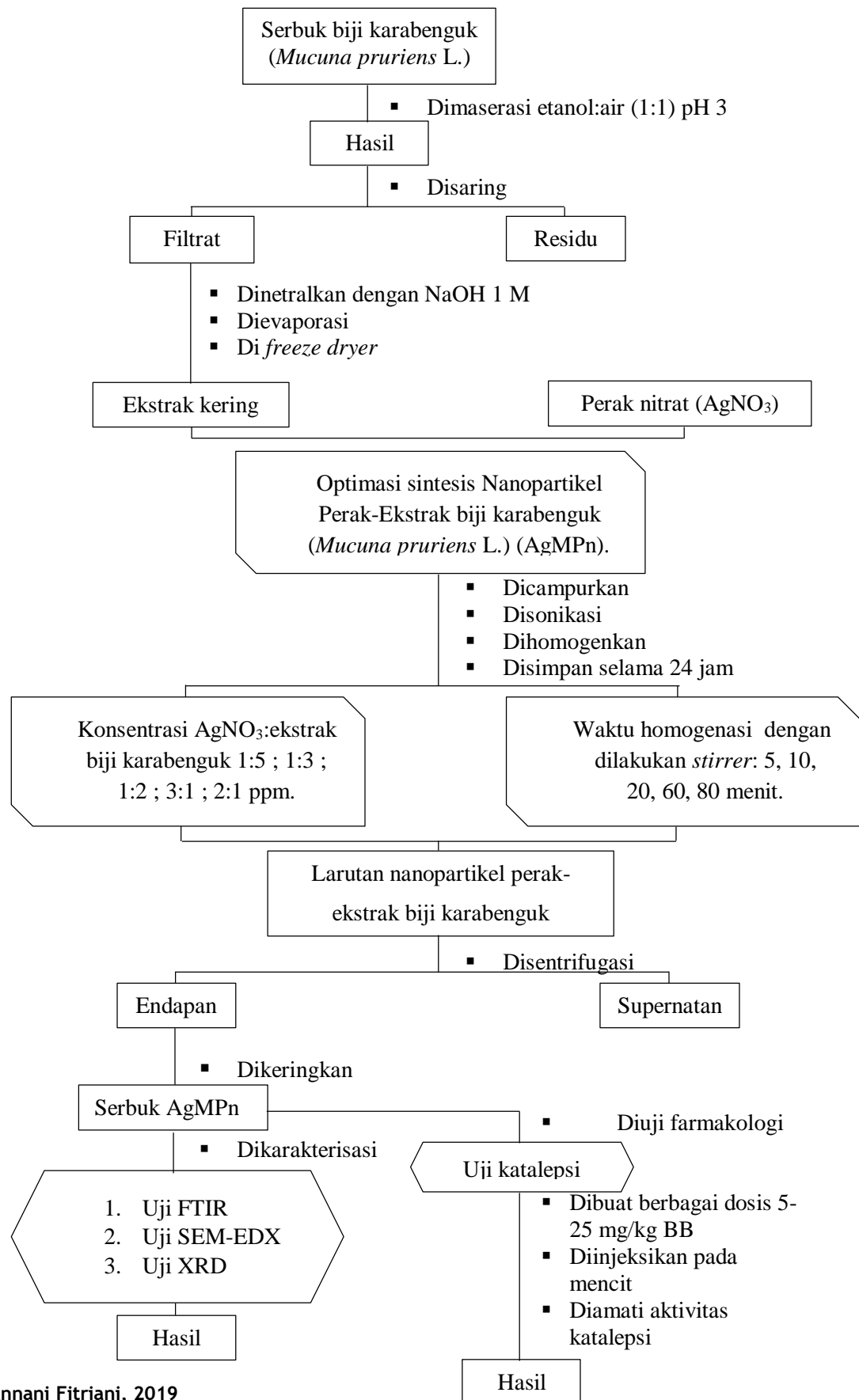
Karakterisasi gugus fungsi senyawa yang terkandung dalam ekstrak biji karabenguk, AgMPn dilakukan dengan spektroskopi FTIR. Penentuan gugus-gugus fungsi ini dilakukan dengan menggunakan spektroskopi FTIR Prestige 21 Shimadzu dengan range 4500-400 cm<sup>-1</sup>.

#### **3.3.3.2 Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray (SEM-EDX)**

Karakterisasi menggunakan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) dilakukan untuk mengetahui bentuk dan ukuran AgMPn yang terbentuk. Detektor yang digunakan adalah *Energy Dispersive X-Ray* (EDX), sehingga dapat diketahui unsur yang terdapat pada AgMPn.

#### **3.3.3.3 X-Ray Diffraction (XRD)**

Karakterisasi menggunakan *X-Ray Diffraction* (XRD) dilakukan untuk mengetahui morfologi kristal AgMPn yang terbentuk



Kissi Hannani Fitriani, 2019  
 OPTIMASI SINTESIS NANOPARTIKEL PERAK-EKSTRAK BIJI KARABENGGUK (*Mucuna pruriens* L.)  
 (AgMPn) DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTI PARKINSON  
 Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

**Gambar 3.1** Bagan alir penelitian

### **3.3.4 Uji katalepsi**

#### **3.3.4.1 Preparasi hewan uji**

Mencit yang digunakan adalah mencit jantan 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 511 dan minum air mineral. Mencit di distribusikan ke dalam sembilan 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 AgMPn yang digunakan adalah dosis 5, 10, 15, 20, dan 25 mg/kg berat badan.

1. Pembuatan sediaan PGA 1%

PGA sebanyak 1,0 gram ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan aquades hangat sedikit demi sedikit lalu dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan aquades sampai tanda batas dan dihomogenkan.

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

Haloperidol sebanyak 6,5 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 25 mL, kemudian ditambahkan larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

3. Pembuatan sediaan L-Dopa dosis 10 mg/kg berat badan

L-Dopa sebanyak 4 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit lalu dimasukan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

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

Ekstrak biji karabenguk sebanyak 80 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortir sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit

lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

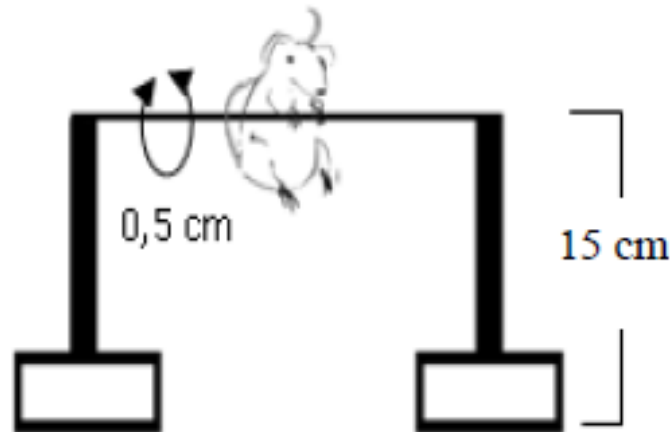
5. Pembuatan sediaan AgMPn dosis 5 mg/kg berat badan  
Serbuk AgMPn sebanyak 2 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortar sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit lalu dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.
6. Pembuatan sediaan AgMPn dosis 10 mg/kg berat badan  
Serbuk AgMPn sebanyak 4 gram ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortar sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.
7. Pembuatan sediaan AgMPn dosis 15 mg/kg berat badan  
Serbuk AgMPn sebanyak 6 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortar sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.
8. Pembuatan sediaan AgMPn dosis 20 mg/kg berat badan  
Serbuk AgMPn sebanyak 8 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortar sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.
9. Pembuatan sediaan AgMPn dosis 25 mg/kg berat badan  
Serbuk AgMPn sebanyak 10 mg ditimbang dan dicampur dengan menggunakan mortar sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit lalu dimasukkan kedalam labu ukur 10 mL, kemudian ditambahkan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

#### **3.3.4.3 Tahap pengujian**

Mencit dibagi menjadi sembilan kelompok utama, yaitu:

1. Kelompok uji I : kontrol normal (mencit yang diberi PGA 1%)
2. Kelompok uji II : kontrol negatif (mencit yang diberi haloperidol)
3. Kelompok uji III : kontrol positif (mencit yang diberi L-Dopa murni)
4. Kelompok uji IV : mencit yang diberi ekstrak karabenguk
5. Kelompok uji V : mencit yang diberi AgMPn dosis 1
6. Kelompok uji VI : mencit yang diberi AgMPn dosis 2
7. Kelompok uji VII : mencit yang diberi AgMPn dosis 3
8. Kelompok uji VIII : mencit yang diberi AgMPn dosis 4
9. Kelompok uji IX : mencit yang diberi AgMPn dosis 5

Intensitas katalepsi diukur menggunakan modifikasi metode Costrall dan Olley, berapa lama mencit menggantung dengan kedua kaki depan memegang kawat 0,5 cm dengan tinggi 15 cm tanpa melakukan pergerakan. Pengamatan katalepsi dilakukan tiga kali secara berturut-turut dalam interval waktu 30-60 menit pemberian haloperidol. Haloperidol diberikan pada mencit secara intramuscular 30 menit setelah pemberian suspensi pembawa (PGA atau AgMPn dosis 5, 10, 15, 20, 25, ekstrak biji karabenguk, L-Dopa). Volume dosis yang diberikan disesuaikan dengan berat badan mencit.



**Gambar 3. 1** Skema pengujian katalepsi.

### **3.3.5 Analisis Data**

Data hasil pengujian katalepsi pada mencit kemudian diolah secara statistik menggunakan *one way* ANOVA dilanjutkan dengan uji Dunnet. Data tersebut dianalisis dengan menggunakan bantuan software SPSS 24. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk melihat signifikansi dari data hasil pengujian katalepsi.



Kissi Hannani Fitriani, 2019

**OPTIMASI SINTESIS NANOPARTIKEL PERAK-EKSTRAK BIJI KARABENGGUK (*Mucuna pruriens L.*) (AgMPn) DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTI PARKINSON**

Universitas Pendidikan Indonesia | [repository.upi.edu](http://repository.upi.edu) | [perpustakaan.upi.edu](http://perpustakaan.upi.edu)