

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Waktu dan Tempat Penelitian**

Penelitian dilakukan dari bulan Februari sampai Juli 2019 di Laboratorium Riset gedung FPMIPA B; Laboratorium Kimia Instrumen (LKI) gedung FPMIPA A Departemen Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia (FPMIPA UPI); Laboratorium Hidrogeologi dan Hidrogeokimia Program Studi Pertambangan Institut Teknologi Bandung; Laboratorium Penelitian Kimia Analitik Institut Teknologi Bandung; Laboratorium Hewan Universitas Islam Negeri Bandung.

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

##### **3.2.1 Alat**

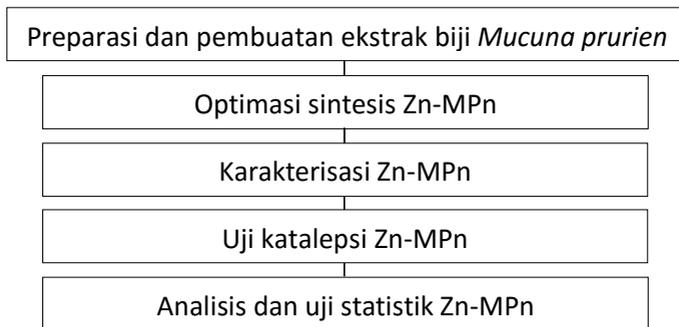
Peralatan yang digunakan antara lain gelas kimia, gelas ukur, gelas *Erlenmeyer*, labu takar, *rotary vacuum evaporator*, pH meter, neraca analitik, corong kaca, corong *Buchner*, *freeze dryer*, *stirrer*, spatula, batang pengaduk, *magnetic stirrer*, kaca arloji, pipet tetes, *sentrifuge*, sonikator, lumpang alu dan oven. Pada tahap karakterisasi digunakan instrumen spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Shimadzu 8400, *Scanning Electron Miscroscopy-Energy Dispersive X-ray* (SEM-EDX), dan *X-Ray Diffraction* (XRD).

##### **3.2.2 Bahan**

Bahan yang digunakan antara lain biji karabenguk (*Mucuna pruriens* L.) yang diperoleh dari Bantul, Yogyakarta. Untuk ekstraksi biji

karabenguk dan sintesis nanopartikel seng-ekstrak karabenguk (Zn-MPn) digunakan aquades, etanol 96% teknis, asam sitrat p.a,  $Zn(CH_3COOH)_2$  p.a, aqua DM, dan kertas saring Whatmann No.42. Untuk uji katalepsi, hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan dan betina usia tiga bulan dengan berat badan sebesar 20-30 gram sebanyak 25 ekor, pakan mencit CP 511, haloperidol, PGA (*Poly Glutamic Acid*), dan L-dopa standar.

### 3.3 Bagan Alir Penelitian



**Gambar 3.1** Bagan Alir Penelitian

### 3.4 Prosedur Penelitian

#### 3.4.1 Preparasi dan Pembuatan Ekstrak Biji *Mucuna pruriens L.*

Biji *Mucuna pruriens L* direndam didalam air selama 1-2 hari, dipisahkan kulit dan dagingnya, dikeringkan kemudian digiling. Serbuk biji karabenguk diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol-air (perbandingan 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 kering dan dingin.

### 3.4.2 Optimasi Sintesis Nanopartikel Zn-MPn

Larutan ekstrak biji karabenguk konsentrasi 10.000, 30.000, dan 50.000 ppm. Dipreparasi dengan melarutkan 0,1, 0,3, dan 0,5 gram serbuk ekstrak biji karabenguk dalam 10 mL aqua DM dan diaduk hingga homogen. Larutan ekstrak biji karabenguk disonikasi selama 15 menit kemudian diaduk menggunakan pengaduk magnet selama 10 menit. Larutan  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$  dibuat dengan dipreparasi dengan variasi konsentrasi 10.000, 20.000, dan 30.000 ppm dipreparasi dengan melarutkan 0,1, 0,2 dan 0,3 gram serbuk  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$  dalam 10 mL aqua DM dan diaduk hingga homogen. Larutan  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$  disonikasi selama 15 menit. Larutan ekstrak biji karabenguk ditambahkan pada larutan  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$  tetes-per-tetes dengan perbandingan konsentrasi untuk  $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$  dan ekstrak biji karabenguk adalah 1:1, 1:3, 1:5, 3:1, dan 2:1. Sambil mencampur Zn-MPn, dilakukan sonikasi 100 menit. Waktu reaksi dilakukan pada hasil sintesis Zn-MPn variasi 80, 60, 20, dan 10 menit dengan pengadukan stirrer 3500 rpm. Kemudian didiamkan pada suhu ruangan selama 24 jam. Waktu sentrifugasi 90 menit dengan kecepatan 3500 rpm kemudian dikeringkan dalam oven dengan suhu 40 °C untuk menghasilkan serbuk Zn-MPn. Kemudian ditimbang massanya dengan neraca analitik dan disimpan pada vial kaca.

### 3.4.3 Karakterisasi Nanopartikel Zn-MPn

Nanopartikel yang telah disintesis beserta ukurannya dianalisis menggunakan metode *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)*, *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive Spectroscopy (SEM-EDX)*, dan *X-Ray Diffraction (XRD)*.

Ainu Sa'adah, 2019

OPTIMASI SINTESIS, KARAKTERISASI, DAN UJI KATALEPSI NANOPARTIKEL Zinc-EKSTRAK BIJI KARABENGGUK (*Mucuna Pruriens* L.)

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

### 3.4.4 Uji Katalepsi

#### 3.4.4.1 Preparasi Hewan Uji

Mencit yang digunakan adalah mencit strain wistar yang memiliki berat antara 20-30 gram. Mencit disimpan dalam kondisi standar di kandang polipropilen selama satu minggu. Mencit diberi pakan CP 511 dan air. Mencit dibagi kedalam beberapa kelompok, yaitu kelompok kontrol positif, negatif, normal, ekstrak *Mucuna pruriens* dan eksperimen.

#### 3.4.4.2 Preparasi Pembuatan Dosis

Pada uji katalepsi, dosis ekstrak biji karabenguk yang digunakan adalah dosis 200 mg/kg berat badan, dan dosis Zn-MPn yang digunakan adalah dosis 5, 10, 15, 20, 25 mg/kg berat badan.

##### 1. Pembuatan PGA 1%

PGA ditimbang sebanyak 1 gram dan dicampur menggunakan mortir. Ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit. Setelah itu dimasukkan kedalam labu ukur 100 mL, kemudian ditambahkan larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

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

Haloperidol ditimbang sebanyak 6,5 mg, dicampur menggunakan mortir. Ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit. Setelah itu dimasukkan kedalam 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 ditimbang sebanyak 4 mg dan dicampur menggunakan mortir sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit. Setelah itu dimasukkan kedalam 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 menggunakan mortir sambil ditambahkan 10 mL larutan PGA 1% sedikit demi sedikit dan dihomogenkan.

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

Serbuk Zn-MPn sebanyak 2 mg ditimbang dan dicampur menggunakan mortir sambil ditambahkan 10mL larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

6. Pembuatan sediaan Zn-MPn dosis 10 mg/kg berat badan

Serbuk Zn-MPn sebanyak 4 mg ditimbang dan dicampur menggunakan mortir sambil ditambahkan 10 mL larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

7. Pembuatan sediaan Zn-MPn dosis 15 mg/kg berat badan

Serbuk Zn-MPn sebanyak 6 mg ditimbang dan dicampur menggunakan mortir sambil ditambahkan 10 mL larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

8. Pembuatan sediaan Zn-MPn dosis 20 mg/kg berat badan

Serbuk Zn-MPn sebanyak 8 mg ditimbang dan dicampur menggunakan mortir sambil ditambahkan 10 mL larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

9. Pembuatan sediaan Zn-MPn dosis 25 mg/kg berat badan

Serbuk Zn-MPn sebanyak 10 mg ditimbang dan dicampur menggunakan mortir sambil ditambahkan 10 mL larutan PGA 1% sampai tanda batas dan dihomogenkan.

#### 3.4.4.3 Tahap Pengujian

Mencit dibagi menjadi sembilan kelompok utama, yaitu:

Ainu Sa'adah, 2019

*OPTIMASI SINTESIS, KARAKTERISASI, DAN UJI KATALEPSI NANOPARTIKEL Zinc-EKSTRAK BIJI KARABENGGUK (Mucuna Pruriens L.)*

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

1. Kelompok uji 1 : kontrol normal (mencit yang diberi PGA 1%)
2. Kelompok uji 2 : kontrol negatif (mencit yang diberi haloperidol)
3. Kelompok uji 3 : kontrol positif (mencit yang diberi L-Dopa)
4. Kelompok uji 4 : mencit yang diberi ekstrak biji karabenguk
5. Kelompok uji 5 : mencit yang diberi Zn-MPn dosis 5 mg/kg BB
6. Kelompok uji 6 : mencit yang diberi Zn-MPn dosis 10 mg/kg BB
7. Kelompok uji 7 : mencit yang diberi Zn-MPn dosis 15 mg/kg BB
8. Kelompok uji 8 : mencit yang diberi Zn-MPn dosis 20 mg/kg BB
9. Kelompok uji 9 : mencit yang diberi Zn-MPn dosis 25 mg/kg BB

Suspensi pembawa (PGA 1%, Zn-MPn dosis 5, 10, 15, 20, 25 mg/kg BB, ekstrak biji karabenguk, dan L-Dopa) diinjeksi secara oral pada mencit. Setelah 30 menit pemberian suspensi pembawa, haloperidol diberikan pada mencit secara *intramuscular*. Volume suspensi pembawa dan haloperidol yang diberikan disesuaikan dengan berat badan mencit. Pengamatan katelepsi dilakukan 30 menit setelah pemberian haloperidol. Intensitas katelepsi diukur menggunakan modifikasi metode Costall dan Olley, yaitu perhitungan waktu mencit menggantung dengan kedua kaki depan memegang kawat berdiameter 0,5 cm yang ditempatkan pada ketinggian 15 cm tanpa melakukan pergerakan.

### 3.4.5 Analisis Data

Data hasil uji katelepsi pada mencit diolah secara statistik menggunakan SPSS dengan uji *one way* ANOVA dan uji Dunnet. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk melihat signifikansi dari data hasil pengujian katelepsi.