

BAB III METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Lokasi Penelitian

Penelitian dilakukan dari bulan Januari sampai Juli 2018 di Laboratorium Kimia Instrumen dan Laboratorium Riset Kimia Hayati dan Material Departemen Pendidikan Kimia Fakultas Pendidikan Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Pendidikan Indonesia, dan juga Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu Universitas Gadjah Mada.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi:

- a) Tahap ekstraksi dan sintesis: *rotary vacum evaporator*, pH meter, corong *Buchner*, pompa vakum, alat-alat gelas, spatula, pipet tetes, corong kaca, neraca analitik, *freeze dryer*, *magnetic stirrer*, *hot plate*, *sentrifuge*, kaca arloji, mortar dan desikator.
- b) Tahap karakterisasi: spektrometer *Fourier Transform Infrared* (FTIR) Thermo Scientific Nicolet iS10 dan *Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersive X-Ray* (SEM-EDX).
- c) Tahap uji katelepsi: sonde, suntikan 1 mL, mortar, labu ukur 10 mL; 25 mL; 100 mL, gelas kimia, *hot plate*, besi berdiameter 0,5 cm sebagai alat uji.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan adalah biji karabenguk (*Mucuna pruriens L.*) yang diperoleh dari Bantul, Yogyakarta. Selain itu digunakan akuades, aqua demineralisasi, etanol 96%, asam sitrat, gelatin, tween 20, dan kertas saring. Hewan uji yang digunakan adalah mencit jantan berusia tiga bulan dengan berat badan 20-30 gram sebanyak 27 ekor, pakan mencit CP 511, Haloperidol 5 mg, PGA (*Poly Glutamic Acid*) dan L-DOPA standar.

Cintani Dewi Wahyuni, 2018

**AKTIVITAS ANTIPARKINSON BOKOMPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI
KARABENGUK (*Mucuna pruriens L.*) PADA MENCIT**

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

3.3 Tahapan Penelitian

3.3.1 Persiapan Biji Karabenguk (*Mucuna pruriens* L.)

Biji karabenguk yang sudah dipanen direndam dalam air sekitar 1-2 hari lalu dipisahkan antara kulit dan dagingnya. Setelah dipisahkan, daging biji karabenguk dikeringkan dengan cara diangin-anginkan kemudian digiling hingga menjadi serbuk.

3.3.2 Pembuatan Ekstrak Biji Karabenguk (*Mucuna pruriens* L.)

Serbuk daging biji karabenguk diekstraksi dengan metode maserasi selama tiga hari menggunakan pelarut etanol-air dengan perbandingan volume 1:1 dan ditambahkan asam sitrat hingga pH mencapai 3. Pelarut diganti setiap hari selama masa maserasi. Filtrat yang dihasilkan dipisahkan dari pelarutnya menggunakan *rotary vacuum evaporator* dalam suhu 60°C. Ekstrak daging biji karabenguk kemudian dikeringkan menggunakan alat *freeze dryer* sampai didapatkan ekstrak karabenguk kering. Ekstrak kering disimpan di dalam desikator.

3.3.3 Sintesis Biokomposit Gelatin-Ekstrak Biji Karabenguk (*Mucuna pruriens* L.) (GMP)

Ekstrak biji karabenguk kering dilarutkan (0,1 gram) dilarutkan 5 ml aqua demineralisasi. Gelatin sebanyak 0,025 gram dilarutkan dalam 5 ml aqua demineralisasi pada suhu 50°C. Kemudian kedua larutan dicampurkan pada suhu 37°C dan ditambah Tween 20 sebanyak 2 ml. Campuran diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 30 menit. Setelah 30 menit terbentuk emulsi berwarna hitam yang menandakan pembentukan GMP. Lalu campuran tersebut di sentrifugasi dengan kecepatan 4000 rpm selama 60 menit. Residu yang terbentuk dipisahkan dari larutan, dihaluskan menggunakan mortar dan disimpan dalam desikator.

3.3.4 Karakterisasi Biokomposit Gelatin-Ekstrak Biji Karabenguk (*Mucuna pruriens* L.) (GMP)

Biokomposit GMP yang telah disintesis dianalisis keberadaan gugus fungsi yang terkandung di dalamnya menggunakan metode *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR) dan *Scanning Electron Microscope* (SEM).

Cintani Dewi Wahyuni, 2018

AKTIVITAS ANTIPARKINSON BOKOMPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI KARABENGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT

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

3.3.4.1. Spektroskopi Fourier Transform Infrared (FTIR)

Instrumen yang digunakan adalah FTIR Thermo Scientific Nicolet iS10.

Langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- 1) Timbang masing-masing KBr 100mg, ekstrak biji karabenguk (3,7mg), gelatin (20mg), dan GMP (4mg)
- 2) Gerus hingga halus
- 3) Masukkan ke sampel holder, buat pelet dengan press (tekanan sama dengan 2 ton)
- 4) Tunggu 1 menit, sampel siap dibaca

3.3.4.2. Scanning Electron Microscopy-Energy Dispersion X-Ray (SEM-EDX)

Karakterisasi menggunakan SEM-EDX digunakan untuk menganalisis permukaan dari objek (padatan) secara langsung guna mengetahui informasi topografi, morfologi, dan komposisi dari suatu sampel. Biokomposit GMP merupakan sampel yang tidak mengandung logam sehingga perlu dilakukan *sputter coating* untuk membungkus sampel dengan material yang dapat menghantarkan listrik seperti emas (Au). Untuk proses pengambilan gambar (*image*) dan data komposisi sampel teroksidasi, sampel diletakkan dan ditempelkan diatas SEM *specimen holder* dengan menggunakan *carbon double tape* dengan bagian penampang lintang (*cross section*) mengarah vertical ke atas atau ke lensa obyektif agar susunan lapisan matriks bahan dengan lapisan oksida terlihat jelas. *Double tape* terbuat dari bahan karbon yang konduktif di dua sisi yang berfungsi menghantarkan semua electron masuk kedalam sampel keluar melalui *grounding*. Ruang sampel divakum hingga 10^{-6} torr untuk menjamin bahwa kolom SEM bebas dari molekul udara. Detektor yang digunakan adalah *Energy Dispersive X-Ray* (EDX) sehingga dapat mengetahui unsur yang terdapat pada sampel.

Cintani Dewi Wahyuni, 2018

AKTIVITAS ANTIPARKINSON BOKOMPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI
KARABENGGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT

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

3.3.5 Uji Katalepsi

3.3.5.1 Preparasi Hewan Uji

Mencit yang digunakan adalah mencit jantan yang memiliki berat antara 20-40 gram. Mencit disimpan dalam kondisi standar dan diberi pakan CP 511 dan air. Mencit dibagi ke dalam beberapa kelompok, seperti kelompok kontrol positif, kontrol negatif dan kontrol eksperimen.

3.3.5.2 Preparasi Pembuatan Dosis

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

1. Pembuatan sediaan PGA 1%
PGA ditimbang sebanyak 1 gram dan ditambahkan akuades hangat sedikit demi sedikit dalam mortir sambil digerus. Setelah PGA sudah larut semua, larutan dimasukkan ke dalam labu ukur 100 mL kemudian ditambahkan akuades sampai tanda batas dan dihomogenkan.
2. Pembuatan sediaan haloperidol dosis 5 mg/kg berat badan
Haloperidol ditimbang sebanyak 6,5 mg, dicampur menggunakan mortir sambil ditambahkan larutan PGA 1% sedikit demi sedikit lalu dimasukkan ke labu ukur 25 ml. Setelah itu 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 lalu dimasukkan 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 menggunakan mortir sambil

Cintani Dewi Wahyuni, 2018

AKTIVITAS ANTIPARKINSON BOKOMPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI KARABENGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT

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

ditambahkan 10 ml larutan PGA 1% sedikit demi sedikit dan dihomogenkan.

Cintani Dewi Wahyuni, 2018

**AKTIVITAS ANTIPARKINSON BIOKOMPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI
KARABENGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT**

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

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

Cintani Dewi Wahyuni, 2018

**AKTIVITAS ANTIPARKINSON BLOKOMPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI
KARABENGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT**

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

3.3.5.3 Tahap Pengujian

Mencit dibagi menjadi sembilan kelompok utama, yaitu:

1. Kelompok uji 1 : kontrol normal
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 karabenguk
5. Kelompok uji 5 : mencit yang diberi GMP dosis 1
6. Kelompok uji 6 : mencit yang diberi GMP dosis 2
7. Kelompok uji 7 : mencit yang diberi GMP dosis 3
8. Kelompok uji 8 : mencit yang diberi GMP dosis 4
9. Kelompok uji 9 : mencit yang diberi GMP dosis 5

Intensitas katalepsi diukur menggunakan modifikasi metode Costall dan Olley (Subarnas dkk., 1993) yaitu berapa lama waktu mencit menggantung dengan kedua kaki depan memegang kawat 0,5 cm dengan tinggi 15 cm tanpa melakukan pergerakan. Pengamatan katalepsi dilakukan 30 menit setelah pemberian haloperidol. Haloperidol diberikan pada mencit 30 menit setelah pemberian suspensi pembawa (PGA atau GMP dosis 5, 10, 15, 20, 25, ekstrak biji karabenguk, L-DOPA). Volume dosis yang diberikan disesuaikan dengan berat badan mencit.

3.3.6 Analisis Data

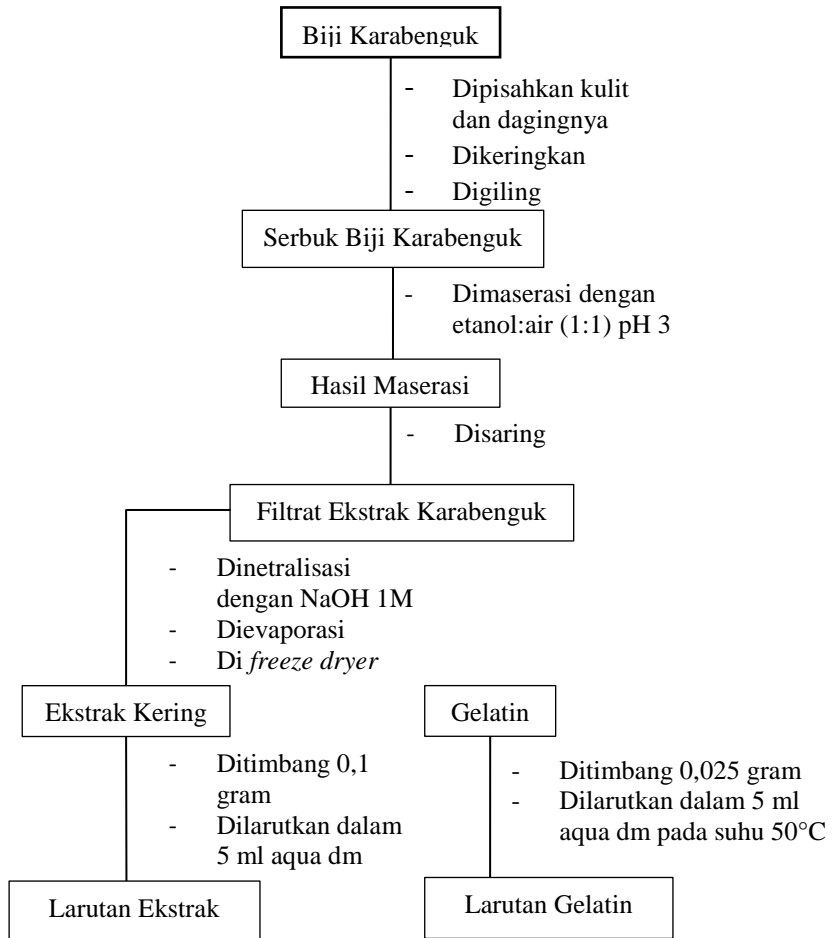
Data hasil uji katalepsi pada mencit diolah secara statistik menggunakan *One-Way* ANOVA dilanjutkan dengan uji Dunnett menggunakan *software* SPSS 22. Tujuan dari pengujian ini adalah untuk melihat signifikansi dari data hasil pengujian katalepsi.

Cintani Dewi Wahyuni, 2018

AKTIVITAS ANTIPARKINSON BLOKOMPPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI
KARABENGGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT

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

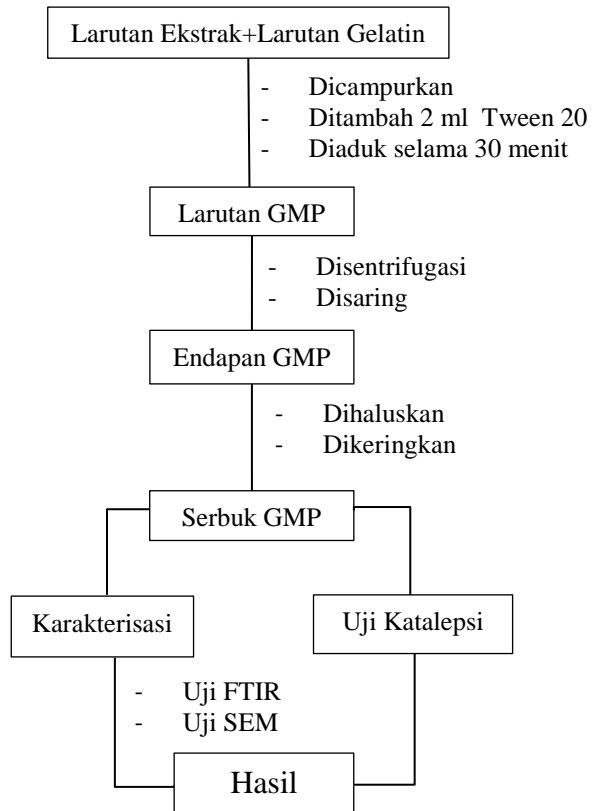
3.4 Bagan Alir Penelitian



Cintani Dewi Wahyuni, 2018

AKTIVITAS ANTIPARKINSON BOKOMPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI
KARABENGGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT

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



Cintani Dewi Wahyuni, 2018

AKTIVITAS ANTIPARKINSON BIODIOPOLIMER GELATIN-EKSTRAK BIJI
KARABENGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT

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

Cintani Dewi Wahyuni, 2018
AKTIVITAS ANTIPARKINSON BLOKOMPOSIT GELATIN-EKSTRAK BIJI
KARABENGUK (*Mucuna pruriens* L.) PADA MENCIT
Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu |
perpustakaan.upi.edu