

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Berdasarkan uraian diatas, maka jenis penelitian ini adalah ekperimental. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan adanya jenis senyawa fitosterol yang terdapat pada biji labu kuning(*curcubita moschata*).

Pada penelitian ini dilakukan dengan tiga tahapan adalah sebagai berikut.

3.1.1. Tahap persiapan

Tahap persiapan dalam penelitian ini meliputi penentuan populasi dan sampel penelitian, menentukan lokasi dan waktu penelitian, serta menghitung kebutuhan bahan sesuai dengan kebutuhan dalam penelitian, serta memperispkan alat yang dibutuhkan selama penelitian.

3.1.2. Tahap pelaksanaan

Tahap ini meliputi pembuatan simplisia biji labu kuning, melakukan ekstraksi biji labu kuning, melakukan partisi dengan menggunakan pelarut n-heksan, lalu identifikasi senyawa fitosterol.

3.1.3. Tahap akhir

Pada tahap ini dilakukan pengolahan data yang diperoleh serta menyimpulkan adanya senyawa fitosterol dalam ekstrak etanol dan partisi n-heksan dan etil asetat.

3.2. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah ekstrak biji labu kuning (*Curcubita moschata*). Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagian dari ekstrak biji labu kuning (*Curcubita moschata*).

3.3. Lokasi dan Waktu

Lokasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah Laboratorium Farmakognosi Putra Indonesia Malang dan laboratorium Instrumen Putra Indonesia Malang. Waktu penelitian dilakukan mulai pada bulan April 2018 hingga Karya Tulis Ilmiah selesai.

3.4. Definisi Operasional Variabel

Variabel	Definisi Operasional	Definisi Istilah	Alat Ukur	Hasil Ukur
Variabel bebas yakni Isolasi senyawa fitosterol pada Biji Labu kuning (<i>Curcubita moschata</i>)	- Rendemen	Ekstrak yang diperoleh dari proses sokletasi dengan pelarut etanol 70% sehingga diperoleh ekstrak kental.	Timbangan Untuk menghitung persen rendemen	Nominal
	- Partisi	Ekstrak yang diperoleh dari proses partisi dengan menggunakan pelarut n – heksan dan etil asetat.	Corong pisah	Visual

Variabel terikat adalah senyawa fitosterol hasil isolasi biji labu kuning (<i>Curcubita moschata</i>)	- Identifikasi senyawa fitosterol dengan uji fitokimia	Uji skrining fitokimia dilakukan dengan penambahan pereaksi Lieberman-Burchard	Hasil positif fitosterol yaitu timbul warna merah yang perlahan menjadi biru.	Visual
	- Identifikasi senyawa fitosterol dengan kromatografi lapis tipis	Uji kromatografi lapis tipis dilakukan dengan fase gerak n-heksan dan etil asetat (4:1) , fase diam plat silikagel GF ₂₅₄ , dan penampak noda Lieberman-Burchard	Nilai Rf	Visual

3.5. Pengumpulan Data

Instrumen dalam penelitian ini alat dan bahan yang akan digunakan untuk mengumpulkan data. Adapun alat dan bahan yang digunakan adalah sebagai berikut.

3.5.1. Alat

Adapun alat dalam penelitian ini yakni oven, seperangkat alat soxhlet, corong pisah, klem, statif, evaporator, botol semprot, tabung reaksi, rak tabung reaksi, plat tetes, penjepit tabung reaksi, beaker glass 100 mL, beaker glass 350 mL, gelas ukur 100 mL, gelas ukur 10 mL, corong gelas, tisu, sarung tangan, masker, labu ukur 50 mL, botol gelap, plat silikagel GF₂₅₄, chamber, pinset, penggaris, oven, dan botol semprot.

3.5.2. Bahan

Adapun bahan dalam penelitian ini adalah biji labu kuning (*Curcubita moschata*), aquadest, etanol 70%, n-heksan, etil asetat, dan pereaksi Lieberman-burchard.

3.6. Prosedur Percobaan

3.6.1. Persiapan Bahan Biji Labu Kuning

Pembuatan simplisia biji labu kuning sebanyak 1 Kg dilakukan dengan cara sebagai berikut. Biji labu kuning yang telah didapatkan dioven kembali dengan suhu 60°C selama 30 menit. Setelah biji labu kuning kering kemudian dihaluskan dan kemudian siap untuk diekstraksi dengan metode cara panas yakni metode soxhletasi.

3.6.2. Isolasi Senyawa Fitosterol

Untuk memperoleh isolat fitosterol pada biji labu kuning (*Curcubita moschata*) dilakukan dengan metode ekstraksi. Dimana ½ kg serbuk biji labu kuning diambil sebanyak 50 gram yang dilakukan secara bertahap hingga mencapai ½ kg serbuk biji labu kuning dengan metode soxhletasi dengan pelarut etanol 70%. Kemudian hasil filtrate yang diperoleh lalu disaring dan filtrate dikumpulkan. Setelah itu filtrate dipekatkan dengan rotary evaporator dengan suhu 78,9 ° C hingga diperoleh ekstrak yang masih mengandung pelarut dalam volume yang kecil. Penguapan pelarut ekstraksi dilanjutkan dengan menggunakan waterbath dengan suhu 78,9 ° C hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah itu dilakukan partisi dengan menggunakan pelarut organik n- heksan dan etil asetat (Jannah,*et al.*,2013).

3.6.3. Evaluasi Hasil Ekstrak

3.6.3.1. Uji Skrining Fitokimia

Pada penelitian ini tahapan identifikasi yang dilakukan yakni dengan uji fitokimia saja yakni dengan menambahkan pereaksi Lieberman- Burchard kedalam hasil ekstrak etanol dan hasil partisinya dengan pelarut n-heksan dan etil asetat. Pada uji fitokimia ini dikatakan positif terkandung senyawa steroida dengan terbentuknya endapan merah yang secara bertahap berubah menjadi biru.

3.6.3.2. Identifikasi senyawa fitosterol

Identifikasi dilakukan untuk mengetahui adanya senyawa fitosterol di dalam ekstrak etanol dan partisi n-heksan dan etil asetat yang dilakukan dengan Kromatografi Lapis Tipis. Kromatografi Lapis Tipis dilakukan dengan menggunakan lempeng silikagel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan – etil asetat (4:1).

3.7. Analisa Data

Analisa data yang digunakan pada penelitian ini dilakukan secara deskriptif yakni dengan memberikan pembuktian adanya senyawa fitosterol pada ekstrak etanol 70%, partisi n-heksan dan pada partisi etil asetat.