

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *Eksperimental Design Laboratorium* karena proses penelitian ini dilakukan di Laboratorium.

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada 11 Mei 2018 sampai selesai.

3.2.2 Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Unwira Kupang, Laboratorium Mikrobiologi Unwira Kupang, Laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya, Laboratorium Kesehatan Provinsi Nusa Tenggara Timur (NTT) dan Kediaman Pasien.

3.3 Populasi dan Sampel

3.3.1 Populasi

Populasi adalah seluruh bagian tanaman Marungga hutan yang tumbuh di daerah Rote dan Temulawak yang tumbuh di daerah Atambua dan pasien yang menderita penyakit Hepatitis B.

3.3.2 Sampel

Sampel pada penelitian ini adalah:

1. Kulit batang marungga hutan yang tumbuh di daerah Rote Selatan, di daerah Talae.
2. Rimpang temulawak yang tumbuh di daerah Atambua, di daerah Halilulik.

3. Pasien positif penyakit Hepatitis tipe B.

Pasien hepatitis dengan identitas sebagai berikut:

Nama : Tn RF
Umur : 22
Jenis kelamin : Laki-laki
Alamat : Noelbaki

3.4 Variabel Penelitian

- Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini yakni pelarut metanol dan dosis ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan Temulawak.

- Variabel Kontrol

Makanan dan aktivitas pasien.

- Variabel Terikat

Sifat Fisiko-Kimia, kandungan metabolit sekunder, dan aktivitas ekstrak kombinasi daun marungga hutan dan Temulawak terhadap Hepatitis B.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

3.5.1.1 Persiapan Sampel

Alat mol dan Pisau serta wadah.

3.5.1.2 Ekstraksi Sampel Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Labu Erlenmeyer 3000 mL, gelas kimia 500 mL, Neraca analitik N.J. 0793, batang pengaduk, baskom, kertas saring Whatman No.41 DIA 90 MM, corong dan kapas wajah serta *rotary evaporator*.

3.5.1.3 Uji Pelarut Metanol Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Kaca arloji, pipet tetes, spatula, dan neraca analitik N.J 0793.

3.5.1.4 Analisis Sifat Fisiko-Kimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.5.1.4.1 Uji Kelarutan Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Pipet tetes, plat tetes, gelas ukur dan neraca analitik N.J 0793

3.5.1.4.2 Penentuan Titik Didih Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Gelas Kimia 250 mL, tabung reaksi, pembakar spiritus, kaki tiga, kawat kasa, plat tetes, penyumbat gabus, dan termometer.

3.5.1.4.3 Penetapan Massa Jenis Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Gelas kimia 50 mL, Neraca analitik N.J. 0793, Oven INB 500 *Germany*, pipet volume 10 mL, desikator, stopwatch dan silinder ukur.

3.5.1.4.4 Penentuan Putar Optik Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Labu erlenmeyer 150 mL, gelas Kimia 250 mL, gelas ukur 50 mL, Polarimeter Lampu merkuri, dan corong gelas.

3.5.1.5 Analisis Fitokimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.5.1.5.1 Uji Alkaloid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Pipet tetes, batang pengaduk, gelas Kimia 100 mL, gelas Kimia 50 mL, rak tabung reaksi, tabung reaksi, botol reagen, aquades, kertas label.

3.5.1.5.2 Uji Flavonoid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Pipet tetes, batang pengaduk, gelas Kimia 100 mL, gelas Kimia 50 mL, rak tabung reaksi, tabung reaksi, botol reagen, aquades, kertas label.

3.5.1.5.3 Uji Tanin Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Pipet tetes, batang pengaduk, gelas Kimia 100 mL, gelas Kimia 50 mL, rak tabung reaksi, tabung reaksi, botol reagen, aquades, kertas label.

3.5.1.5.4 Uji Saponin Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Tabung reaksi, kaki tiga, kawat kasa, lampu spiritus dan kertas label.

3.5.1.5.5 Uji Triterpenoid/Steroid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Pipet tetes, batang pengaduk, rak tabung reaksi, tabung reaksi, botol reagen, aquades, kertas label.

3.5.1.6 Analisis Komponen Kimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.5.1.6.1 Kromatograafi Lapis Tipis Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Plat KLT, Pipa Kapiler, Pipet tetes, gelas Kimia 350 mL, Penggaris 30 cm, pensil, gunting, lampu UV 254 nm, silinder ukur, botol chamber, kaca arloji.

3.5.1.6.2 Spektroskopi Infra Red (IR) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Spektroskopi IR Jasco FT-IR-5300 pada bilangan gelombang 400-4000 cm^{-1} .

3.5.1.6.3 Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa (GC-MS) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

GC-MS merk Shimadzu tipe QP2010S, suhu injektor 280°C , Suhu kolom $40-270^{\circ}\text{C}$, Jenis Kolom Rtx-5 MS, Panjang kolom 30.00 m, ketebalan 0,25 μm , diameter 0,25 mm, dan jenis pengion EI (*Electron Impact*) 70 eV.

1.5.1.7 Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Gelas ukur, pipet tetes, gelas, sendok.

3.5.2 Bahan

3.5.2.1 Persiapan Sampel

Kulit batang Marungga hutan, rimpang temulawak dan pasien.

3.5.2.2 Ekstraksi Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Metanol p.a, kulit batang marungga hutan, temulawak, air bersih dan Alumunium Foil.

3.5.2.3 Uji Pelarut Metanol Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutang dan temulawak, Minyak Goreng dan H_2SO_4 Pekat.

3.5.2.4 Analisis Sifat Fisiko-Kimia Uji Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.5.2.4.1 Uji Kelarutan Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak, aquades, dietil eter, Kloroform, metanol p.a dan n-heksan.

3.5.2.4.2 Penentuan Titik didih Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak, aquades.

3.5.2.4.3 Penetapan Massa Jenis Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak.

3.5.2.4.4 Penentuan Putar Optik Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak.

3.5.2.5 Analisis Fitokimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.5.2.5.1 Uji Alkaloid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak, reagen Mayer dan Wagner.

3.5.2.5.2 Uji Flavonoid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak, HCl pekat dan Pita Mg.

3.5.2.5.3 Uji Tanin Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak, HCl pekat dan FeCl_3 .

3.5.2.5.4 Uji Saponin Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak, HCl pekat dan FeCl_3 dan aquades.

3.5.2.5.5 Uji Terpenoid/Steroid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak, Asam Asetat anhidrat dan H_2SO_4 pekat.

3.5.2.6 Analisis Komponen Kimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.5.2.6.1 Kromatograafi Lapis Tipis Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak.

3.5.2.6.2 Spektroskopi Infra Red (IR) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak.

3.5.2.6.3 Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa (GC-MS) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kulit batang marungga hutan dan temulawak.

3.5.2.7 Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan, temulawak, dan pasien.

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Persiapan Sampel Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Ambil kulit batang marungga hutan dan temulawak.
2. Cuci sampel tersebut sampai bersih.
3. Iris kulit batang marungga hutan dan temulawak sampai ukuran kecil.

4. Keringkan dengan cara diangin-anginkan.
5. Haluskan kulit batang marungga dan temulawak tersebut dengan alat gilingan.
6. Simpan sampel dalam erlenmeyer untuk proses ekstraksi.

3.6.2 Ekstraksi Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Timbang 200 gram serbuk kulit batang marungga hutan dan 200 gram temulawak.
2. Campurkan kulit batang marungga hutan dan temulawak yang telah halus ke dalam labu Erlenmeyer 3000 mL.
3. Tambahkan 800 mL metanol p.a dan campur hingga merata.
4. Tutup labu erlenmeyer dengan menggunakan aluminium foil.
5. Diamkan selama 3 x 24 jam untuk proses maserasi.
6. Saring ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak hasil maserasi dengan menggunakan kapas wajah.
7. Saring ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dengan kertas saring wogmen 41 untuk mendapatkan filtrat yang jernih dan residunya.
8. Uapkan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak hasil maserasi menggunakan rotavapor pada suhu 50⁰ C.
9. Tuangkan ekstrak pada wadah lalu diangin-anginkan pada suhu kamar sampai metanol benar-benar habis menguap.
10. Simpan ekstrak murni untuk uji fisiko-kimia, uji fitokimia, IR, GC-MS, dan uji aktivitas.

3.6.3 Uji Pelarut Metanol Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Siapkan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
2. Masukkan 1 mL minyak goreng pada kaca arloji.
3. Tambahkan 0,5 gram ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
4. Teteskan beberapa tetes H_2SO_4 pekat 96% p.a.
5. Amati hasil yang diperoleh. Ada tidaknya kandungan metanol ditandai pada gejala aroma yang ditimbulkan. Jika aromanya harum maka ekstrak masih mengandung metanol. Jika tidak ada aroma harum maka ekstrak tidak mengandung metanol.

3.6.4 Analisis Fisiko-Kimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.6.4.1 Uji Kelarutan Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Masukkan 1 mL aquades ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 0,5 gram ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak ke dalam tabung reaksi.
3. Aduk campuran dalam tabung reaksi hingga tercampur secara merata.
4. Amati hasil yang diperoleh.
5. Ulangi langkah 1-4 aquades diganti dengan metanol 96% p.a, dietil- eter 95% p.a, n-heksana dan kloroform 95% p.a.

3.6.4.2 Penentuan Titik didih Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Siapkan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
2. Masukkan 0,5 gram ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak ke dalam tabung reaksi.
3. Tutup tabung reaksi menggunakan penyumbat gabus, yang sudah dirangkai dengan termometer.
4. Masukkan tabung reaksi ke dalam penangas air hingga mencapai suhu tertinggi yang dicapai ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
5. Catat hasil suhu pada saat ekstrak mendidih.

3.6.4.3 Penetapan Massa jenis Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Siapkan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
2. Timbang gelas kimia 25 mL dengan menggunakan neraca analitik.
3. Panaskan gelas kimia pada suhu 110°C selama 15 menit.
4. Timbang gelas kimia.
5. Ulangi lagi langkah 2-4, untuk memperoleh berat konstan gelas kimia.
6. Ukur 2 mL aquades, lalu menimbang masa aquades.
7. Masukan beberapa mg ekstrak ke dalam aquades 2 mL yang sudah ditimbang massanya.

8. Hitung massa ekstrak dengan cara menghitung selisih massa aquades 2 mL yang sudah ditambahkan dengan beberapa mg ekstrak dengan massa aquades 2 mL sendiri.
9. Hitung nilai massa jenis.

3.6.4.4 Penentuan Putar Optik Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Siapkan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
2. Larutkan 0,5 gram ekstrak dengan methanol.
3. Masukkan 25 mL metanol ke dalam gelas kimia 250 mL.
4. Tambahkan 1 mL ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak, campur hingga merata.
5. Masukkan campuran ekstrak kombinasi daun marungga hutan dan daun temulawak dengan metanol 96% p.a ke dalam tabung polarimeter.
6. Masukkan tabung polarimeter ke dalam analisator.
7. Putar analiser sambil memperhatikan melalui teleskop sampai intensitas sinar sama dengan penerangnya.
8. Baca nilai derajat menit dan mencatat hasilnya.
9. Kembalikan analiser ke angka nol.
10. Ulangi langkah 1–8 dengan perbandingan konsentrasi ekstrak, sebagai berikut :
11. 30 mL metanol dan 1 mL ekstrak kombinasi daun marungga hutan dan daun temulawak.

12. 35 mL metanol dan 1 mL ekstrak kombinasi daun marungga hutan dan daun temulawak.

3.6.5 Analisis Fitokimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.6.5.1 Pembuatan Reagen

Reagen Meyer

1. Timbang KI sebanyak 6 gram.
2. Larutkan KI dengan aquades sebanyak 10 mL.
3. Timbang HgCl_2 sebanyak 1,358 gram.
4. Larutkan HgCl_2 dalam 60 mL aquades.
5. Campurkan larutan KI dan HgCl_2 .
6. Tambahkan air sampai volume 100 mL, campur hingga homogen.

Reagen Wagner

1. Timbang KI sebanyak 2 gram.
2. Timbang serbuk I_2 sebanyak 4 gram.
3. Campur KI dan I_2 .
4. Tambahkan sedikit air dan larutkan KI dan I_2 .
5. Masukkan larutan ke dalam labu Volumetrik.
6. Tambahkan aquades hingga mencapai 100 mL.
7. Campur hingga homogen, simpan dalam botol reagen dan diberi label.

3.6.5.2 Uji Alkaloid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Siapkan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak, reagen Meyer dan reagen Wagner.
2. Masukkan 0,5 gram ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak ke dalam tabung reaksi.
3. Tambahkan 0,5 mL larutan HCl 2%, campur hingga merata.
4. Bagi larutan tersebut menjadi dua bagian dengan jumlah yang sama.
5. Masukkan 2-3 tetes reagen Meyer dalam tabung pertama.
6. Amati perubahan yang terjadi.
7. Masukkan 2-3 tetes reagen Wagner dalam tabung kedua.
8. Amati perubahan yang terjadi.

3.6.5.3 Uji Flavonoid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Siapkan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
2. Buat larutan HCl 37%.
3. Potong pita magnesium menjadi beberapa bagian kecil.
4. Ukur 0,5 gram ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
5. Masukkan ke dalam tabung reaksi.
6. Teteskan 5 tetes larutan HCl 37% ke dalam tabung reaksi, kocok sampai homogen.
7. Tambahkan serbuk Mg dan mengamati perubahan yang terjadi.

3.6.5.4 Uji Tanin Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawa

1. Ukur 0,5 gram ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak kemudian memasukkannya ke dalam tabung reaksi.
2. Teteskan 5 tetes pereaksi besi (III) klorida.
3. Amati perubahan yang terjadi.

3.6.5.5 Uji Saponin Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Ukur 0,5 gram ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak kemudian masukan ke dalam tabung reaksi.
2. Tambahkan 2 mL air.
3. Panaskan dalam penangas air.
4. Kocok dan amati perubahan yang terjadi.

3.6.5.6 Uji Terpenoid/Steroid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Siapkan sebuah tabung reaksi.
2. Ukur 0,5 gram ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi.
3. Teteskan 2 tetes asam asetat anhidrat ke dalam tabung reaksi yang berisi ekstrak hingga semua ekstrak terendam.
4. Teteskan 5 tetes H_2SO_4 pekat dalam tabung reaksi.
5. Amati perubahan yang terjadi.

3.6.6 Analisis Komponen Kimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.6.6.1 Uji KLT Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

1. Potong plat KLT dengan panjang 5 cm dan lebar 2 cm.
2. Garis pembatas pada plat KLT dengan batas bawah 1 cm dan batas atas 0,5 cm.
3. Lakukan aktivasi plat KLT dengan cara memasukan potongan-potongan plat KLT kedalam oven dan dipanaskan pada suhu 105⁰ C selama 2 jam. Dan setelah diaktivasi, plat KLT Disimpan dalam desikator selama 24 jam, setelah itu plat KLT siap digunakan.
4. Siapkan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.
5. Lakukan uji kandungan fitokimia dengan menggunakan eluen seperti: uji kandungan Flavanoid dengan menggunakan eluen n-butanol : asam asetat glacial : air (4 : 1 : 5), uji kandungan alkaloid dengan eluen etil asetat : metanol : air (9 : 2 : 2), uji kandungan terpenoid atau steroid dengan eluen n-heksan : etil asetat (4 : 1), dan uji tanin dengan eluen kloroform : etil asetat (1 : 9).
6. Masukkan masing-masing eluen ke dalam botol chamber.
7. Tutup botol chamber, kocok hingga tercampur rata.
8. Diamkan selama 10-15 menit.
9. Campurkan 0,1 mL ekstrak dan 1 mL metanol 96% p.a pada kaca arloji hingga merata.

10. Totolkan ekstrak yang telah dicampur dengan metanol 96% p.a pada plat KLT pada batas bawah menggunakan pipa kapiler.
11. Diamkan beberapa menit.
12. Masukkan plat KLT yang telah ditotol dengan ekstrak ke dalam botol chamber yang telah berisi eluen.
13. Diamkan beberapa menit.
14. Amati fase gerak (air dan metanol) pada botol chamber mendekati batas atas plat KLT pada tanda batas.
15. Angkat plat KLT, mendiamkan beberapa menit hingga mengering.
16. Amati noda yang tampak pada plat KLT menggunakan lampu UV 254 nm.
17. Beri lingkaran pada noda yang tampak.
18. Hitung nilai Rf.

3.6.6.2 Spektroskopi Infra Red (IR) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis gugus fungsi dengan IR di Laboratorium Farmasi Airlangga Surabaya.

3.6.6.3 Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (GC-MS) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis fragmen ion molekul dengan GCMS di Laboratorium Farmasi Airlangga Surabaya.

3.6.6.4 Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Uji aktivitas dilakukan secara *in vivo* dengan cara:

1. Periksa kondisi pasien di laboratorium Kesehatan Nusa Tenggara Timur (NTT).
2. Pastikan pasien positif hepatitis B.
3. Pasien diberi minum ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak : air, (1 : 10) sebanyak 10 mL.
4. Dosis tiga kali sehari sebanyak 10 mL selama 1 minggu.
5. Periksa kembali kondisi pasien di laboratorium yang sama.

3.7 Teknik Pengumpulan Data

3.7.1 Parameter Lab

Parameter lab dalam penelitian untuk memperoleh data sifat fisika kimia antara lain: kelarutan, massa jenis, titik didih, putaran optik, alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, triterpenoid dan steroid; analisis komponen kimia antara lain: metode KLT, Spektro IR, GC-MS, serta aktivitas ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.

3.8 Teknik Analisis Data

3.8.1 Ekstraksi Sampel Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil ekstraksi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan rumus:

$$\% \text{ rendemen ekstrak} = \frac{\text{berat akhir ekstrak}}{\text{berat awal ekstrak}} \times 100\%$$

3.8.2 Uji Pelarut Metanol Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil uji metanol ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan data perbandingan aroma ester yang terbentuk.

3.8.3 Analisis Sifat Fisiko Kimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.8.3.1 Uji Kelarutan Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil uji kelarutan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan jumlah volume pelarut.

3.8.3.2 Penentuan Titik didih Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil penentuan titik didih ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis dengan titik didih tertinggi.

3.8.3.3 Penetapan Massa jenis Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil penetapan massa jenis, ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\rho = \frac{m}{V}$$

dimana :

ρ : massa jenis ekstrak (gram/mL)
M : massa ekstrak (gram)
V : volume ekstrak (mL)

3.8.3.4 Penentuan Putar Optik Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil penentuan putar optik, ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\text{Rotasi spesifik } [\alpha]_D^T = \frac{\alpha}{\ell \times M}$$

Dimana:

α : sudut putar berdasarkan pengamatan di polarimeter
 ℓ : panjang dari sel sampel dalam cm ($1 \text{ dm} = 0,01 \text{ m}$)
 M : konsentrasi larutan (g/mL)

3.8.4 Analisis Fitokimia Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

3.8.4.1 Uji Alkaloid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil uji alkaloid ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan perbandingan data teoritis reagen Wagner dan reagen Mayer.

3.8.4.2 Uji Flavonoid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil uji flavonoid ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan perbandingan data teoritis hasil positif reagen wilstaler sianidin (HCl + Mg).

3.8.4.3 Uji Tanin Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil uji tanin ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan perbandingan data teoritis pereaksi besi (III) klorida hasil positif warna hijau kehitaman.

3.8.4.4 Uji Saponin Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil uji saponin ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan perbandingan data teoritis hasil positif terbentuknya busa seperti sabun.

3.8.4.5 Uji Triterpenoid Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil uji triterpenoid ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan perbandingan data teoritis hasil positif terbentuknya warna hijau biru dengan pereaksi asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat.

3.8.4.6 Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil KLT ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis menggunakan rumus sebagai berikut:

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terlarut}}{\text{Jarak yang ditempuh pelarut}}$$

(Rohman, 2009: 5)

3.8.4.7 Spektroskopi Infra Merah (IR) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil spektroskopi IR ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis dengan membandingkan data teoritis gugus fungsi.

3.8.4.8 Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (GC-MS) Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil GC-MS ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak dianalisis dengan membandingkan data teoritis ion molekul.

3.8.5 Uji Aktivitas Ekstrak Kombinasi Kulit Batang Marungga Hutan dan Rimpang Temulawak

Data hasil uji aktivitas dianalisis berdasarkan perbedaan data lab sebelum dan sesudah diberikan ekstrak kombinasi kulit batang marungga hutan dan temulawak.