

BAB IV

PROSEDUR KERJA

4.1. Pengumpulan Bahan dan Determinasi Tanaman

Tanaman mawar merah (*Rosa hybrida* Hort.) diperoleh dari daerah Manoko, Lembang. Bagian tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah bagian bunga. Kemudian determinasi tanaman dilakukan di Herbarium Bandungense Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung.

4.2. Penapisan Fitokimia

4.2.1. Alkaloid

Simplisia ditambahkan dengan larutan amoniak 25% dan kloroform di dalam tabung reaksi, dikocok, disaring. Filtrat ditetes pada kertas saring dan diberi pereaksi Dragendorff. Reaksi positif jika menunjukkan warna merah. Sisa filtrat lainnya direaksikan dengan asam klorida 10% sebanyak dua kali. Kedalam 5 mL ekstrak ditambahkan pereaksi Dragendorff dan reaksi dinyatakan positif jika terbentuk endapan merah bata dan 5 mL ekstrak asam klorida dalam tabung reaksi yang lain ditambah pereaksi Mayer terbentuk endapan putih, maka positif alkaloid (Farnsworth, 1966:245).

4.2.2. Flavonoid

Beberapa gram simplisia ditambahkan air lalu dipanaskan, kemudian disaring. Filtrat ditambahkan serbuk magnesium dengan asam klorida 2N. Setelah itu tambahkan amil alkohol, dikocok lalu diamkan sampai memisah. Hasil positifnya adalah tertariknya warna kuning-merah pada lapisan amil alkohol menjadi bagian teratas (Farnsworth, 1966:262-263).

4.2.3. Kuinon

Beberapa gram simplisia di masukkan dalam tabung reaksi dilarutkan dengan sedikit aquadest kemudian dipanaskan diatas penangas air ditambahkan dengan natrium hidroksida 5% apabila membentuk warna jingga menandakan positif kuinon (Farnsworth, 1966:265).

4.2.4. Saponin

Beberapa gram simplisia dilarutkan dengan aquadest, lalu dipanaskan diatas penangas air. Setelah dingin, larutan dalam tabung reaksi dikocok kuat-kuat selama ± 30 detik. Hasil positif ditandai dengan terbentuknya busa yang konsisten selama 10 menit, dan dengan penambahan 1 tetes asam klorida encer busa tersebut tidak hilang (Farnsworth, 1966:257).

4.2.5. Tanin dan Polifenol

Bahan digerus dengan air hingga lumat, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan dididihkan selama beberapa menit. Setelah disaring, filtrat dibagi dua bagian.

Filtrat 1: ke dalam filtrat satu ditetaskan larutan pereaksi besi (III) klorida. Adanya warna biru hingga hitam menunjukkan adanya senyawa golongan polifenol.

Filtrat 2: ke dalam filtrat dua diteteskan larutan gelatin, lalu diamati terjadinya pengendapan atau penggumpalan. Adanya pengendapan atau penggumpalan menunjukkan bahwa dalam filtrat terkandung senyawa golongan tanin. Endapan gelatin disaring. Filtrat ditetesi larutan pereaksi besi (III) klorida. Bila terbentuk warna hitam, berarti dalam bahan tersebut terkandung golongan tanin dan polifenol (Farnsworth, 1966:264-265).

4.2.6. Monoterpen dan Seskuitерpen

Sampel ditambahkan eter, lalu disaring. Filtrat ditempatkan dalam cawan penguap kemudian dibiarkan menguap sampai kering. Kedalam hasil filtrat di tambahkan larutan vanilin 10% dalam asam sulfat pekat. Terjadi warna-warna menunjukkan senyawa mono dan seskuitерpen (Depkes RI, 1977:132).

4.2.7. Triterpenoid dan Steroid

Sejumlah satu gram serbuk dan ekstrak masing-masing dimaserasi dengan 20 mL eter selama 2 jam kemudian disaring. Filtrat sebanyak 5 mL diuapkan dalam cawan penguap. Ke dalam residu ditambahkan dua tetes asam asetat anhidrat dan satu tetes asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann Burchard). Terbentuknya warna biru sampai hijau menunjukkan steroid positif. Warna merah sampai ungu menunjukkan triterpenoid positif (Farnsworth, 1966:257).

4.3. Air Rebusan Bunga Mawar Merah (*Rosa hybrida* Hort.)

Pembuatan air rebusan bunga mawar merah (*Rosa hybrida* Hort.) 10% didapat dengan cara mencuci bersih 10 gram bunga mawar merah, lalu direbus dengan 100 mL akuades dengan suhu 90°C selama 15 menit. Setelah direbus,

saring rebusan tersebut kemudian ditambahkan air panas sampai melalui ampas hingga diperoleh 100 mL air rebusan, tunggu hingga dingin. Setelah dingin, air rebusan bunga mawar merah (*Rosa hybrida* Hort.) disimpan dalam gelas kimia.

4.4. Pembuatan Dahak Buatan dari Putih Telur

Dahak buatan dibuat dari putih telur bebek yang telah dipisahkan dari kuning telur. Setelah itu putih telur ditempatkan terlebih dahulu kedalam satu wadah sebelum dimasukkan kedalam sistem uji.

4.5. Pengamatan Aktivitas Mukolitik

Penentuan viskositas dilakukan pada enam sistem yang terdiri dari kontrol 1, kontrol 2, uji 1, uji 2, uji 3 dan pembanding. Sistem kontrol 1 terdiri dari putih telur bebek saja. Sistem kontrol 2 terdiri dari campuran putih telur bebek dan akuades. Sistem uji 1 terdiri dari campuran putih telur bebek dan air rebusan bunga mawar merah dengan konsentrasi 10%. Sistem uji 2 terdiri dari campuran putih telur bebek dan air rebusan bunga mawar merah dengan konsentrasi 5%. Sistem uji 3 terdiri dari campuran putih telur bebek dan air rebusan bunga mawar merah dengan konsentrasi 2,5%. Sistem pembanding terdiri dari campuran putih telur bebek dan asetilsistein dengan konsentrasi 200 mg/100 mL. Masing-masing sistem uji ditempatkan pada gelas kimia 250 mL, lalu diukur kekentalannya dengan menggunakan viskometer Brookfield LV digital. Pengukuran viskositas setiap sistem dilakukan sebanyak dua kali dengan waktu yang berbeda yaitu 0 dan 15 menit. Nilai viskositas dapat diterima jika nilai % torquency ada direntang

10%-100% untuk semua penggunaan spindel/kecepatan putar (rpm) (Laboratories:6-8).

4.6. Pengolahan Data

Data yang diperoleh dari hasil pengukuran viskositas untuk setiap sistem uji dianalisis dengan menggunakan uji statistika analisis variansi (ANOVA). Kemudian dilakukan uji statistik lanjutan menggunakan metode *Tukey HSD* untuk melihat perbedaan nilai yang bermakna dan melihat apakah sediaan uji memberikan efek atau tidak. Nilai viskositas dikatakan berbeda bermakna secara statistik jika $p < 0,05$ dengan tingkat kepercayaan 95%.