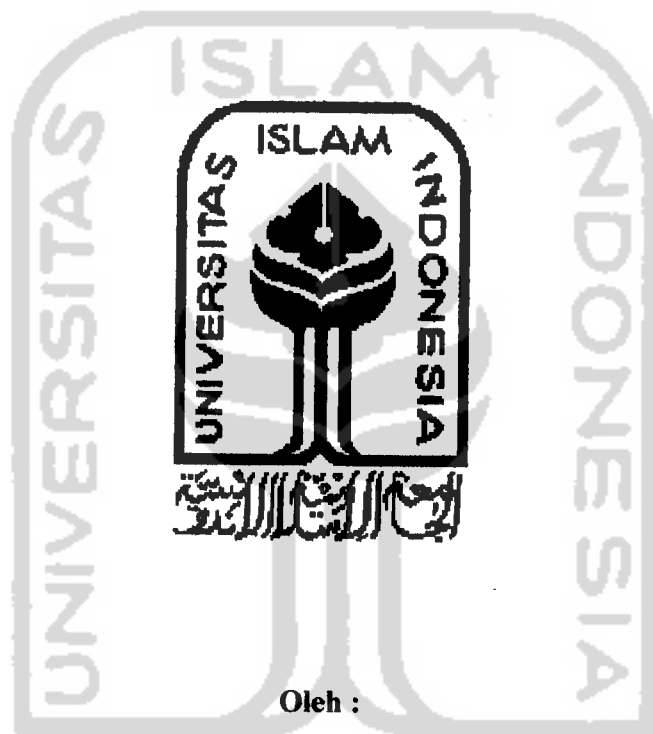


**UJI MUKOLITIK EKSTRAK n-HEKSAN DAN ETANOL  
DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* Benth) DAN  
IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**



Oleh :

**SHEILA SARI MURTI**

**01 613 140**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
FEBRUARI 2006**

**UJI MUKOLITIK EKSTRAK n-HEKSAN DAN ETANOL  
DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* Benth) DAN  
IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIFNYA**

**SKRIPSI**

Diajukan sebagai salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi (S. Farm)  
Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh :

**SHEILA SARI MURTI**

**01 613 140**

**JURUSAN FARMASI  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA  
YOGYAKARTA  
FEBRUARI 2006**

**SKRIPSI**

**UJI MUKOLITIK EKSTRAK n-HEKSAN DAN ETANOL  
DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* Beñth) DAN  
IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIFNYA**



**Pembimbing Utama,**

**Pembimbing pendamping,**

**(Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt.)**

**(Endang Dharmawan, M.Si., Apt.)**

**SKRIPSI**

**UJI MUKOLITIK EKSTRAK *n*-HEKSAN DAN ETANOL  
DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* Benth) DAN  
IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIFNYA**

**Oleh**

**SHEILA SARI MURTI  
01 613 140**

**Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia**

**Tanggal : 24 Februari 2006**

**Ketua Penguji,**



**Dr. Gemini Alam, M.Si, Apt**

**Anggota Penguji**



**Endang Dharmawan, M.Si, Apt**

**Anggota Penguji,**



**Dra. Hj. Mimiek Murruckmihadi, SU, Apt**

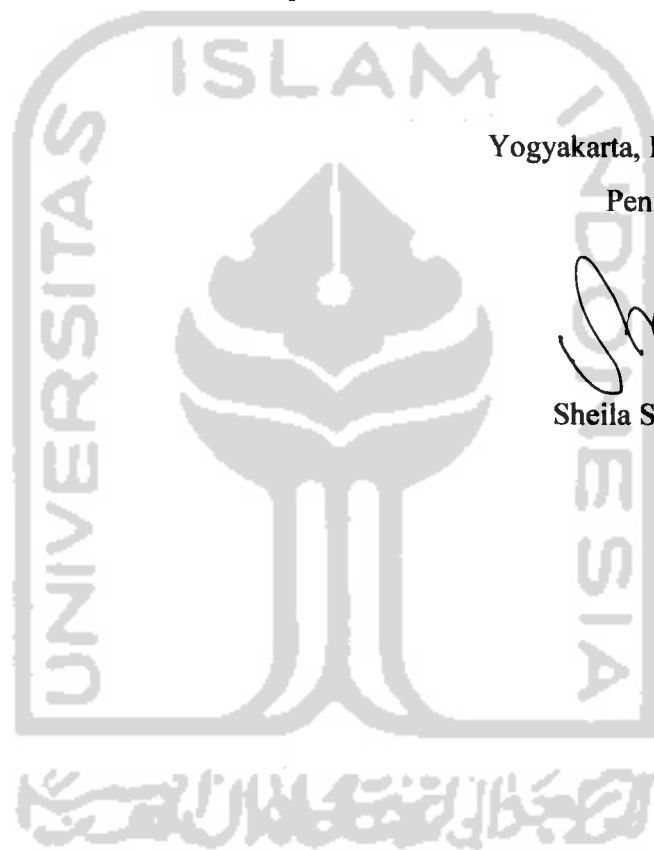
**Mengetahui,  
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Islam Indonesia**



**Jaka Nugraha, M.Si**

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.



Yogyakarta, Februari 2006

Penulis,

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Sheila', written over the printed name.

Sheila Sari Murti

Dengan keRendahAn dan ketulusAn hAti, sKripsi ini kupeRsembahkan uNtuk:

..... Dia yang sLalu didepaN dgn sgaLa pUji & syUkur

Allah SWT,,, Yang telah bAnyak meMberikan keMudahan dan keSempAtan dgn membUka dan merAtakan jalanKu

..... Harta yang paling berharga dalam hidupku

KeduA OraNg tUa Ku,,, H. SjAiful BaChri, S. SH, MM & Hj. MuRniaty

Yang bagai Matahari dan Keteduhan dalam hidupKu memberikan cinta sayang dan kekuatan yang terus mengalir hingga saat ini.

KeduA adik Ku,,, Fachru "Eroe" MunaWir & Ade "nDut" MasteliA

Yang selalu tau kapan bersikap sebagai adik, temen bahkan musuh, yang membuat Ku selalu ingin pulang.

..... Makhluk-makhluk naRsis yaNg sLalu mengelilingiku

WadAn (kAmu lagi... kAmu lagi), sAntie, rAni, niNiet n nAna (yang tidak heran2nya memermalukan diri sendiri), ecHa n iNdie (2 sodara yang sKa ga jeLak LakuanNya), dhiNie n fafA (thx utk baNtuan peNelitiannya), faNdy amR, ipAn n iJa' (pAra pria yaNg terpaksa hArus dituLis)

teRjadiNg kebaHagiAn itU mUncul daRi hAL2 BodOh yaNg seRing kitA lakUkan hiNggA teRkesaN "aBnormAl" bagi orAng lain

..... Ntuk oRang2 Yg peRnah singgAh di hidupKu

yaNg telaH mengAjariKu baHwa kehidupaN teRlalu iNdah untuK seBuah keputusaSaAn

..... Dan ALMAMATER-ku

## KATA PENGANTAR

*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

*Alhamdulillah rabbil'alamin*, puji dan syukur kehadiran Allah SWT, yang telah melimpahkan rahmat, hidayah dan karunia-Nya, sehingga skripsi yang berjudul **“UJI MUKOLITIK EKSTRAK n-HEKSAN DAN ETANOL DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* Benth) DAN IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIFNYA”** ini dapat diselesaikan.

Skripsi ini diajukan untuk memenuhi salah satu syarat guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.

Proses penyusunan hingga selesainya skripsi ini tidak lepas dari dorongan dan bantuan dari berbagai pihak, pada kesempatan ini penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Bapak Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, masukan, kritik, bantuan dan kesabarannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini .
2. Bapak Endang Dharmawan, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, masukan, kritik, bantuan dan terutama kesabarannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
3. Ibu Dra. Hj. Mimiék Murrukmihadi, SU, Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan banyak masukan dan bantuan sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
4. Ketua Jurusan dan segenap dosen Universitas Islam Indonesia Fakultas MIPA Jurusan Farmasi yang telah memberikan bekal ilmu sampai menyelesaikan studi.
5. Staf dan karyawan Universitas Islam Indonesia Fakultas MIPA Jurusan Farmasi atas kerjasama yang baik dan bantuannya selama penelitian berlangsung.

6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu terimakasih atas bantuan yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu kritik dan saran dari pembaca sangat diharapkan. Akhirnya penulis berharap skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan dan kemajuan ilmu kefarmasian. Amin.

*Wassalamu 'alaikum Wr. Wb.*



Yogyakarta, Februari 2006

Penulis

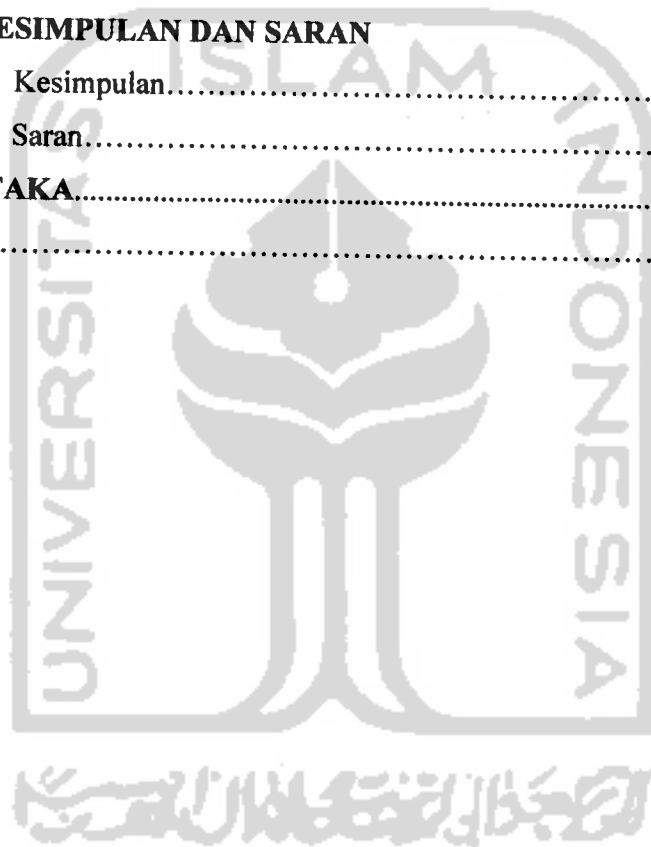
Sheila Sari Murti



## DAFTAR ISI

Isi	Halaman
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	vi
<b>DAFTAR ISI</b> .....	viii
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	x
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	xi
<b>INTISARI</b> .....	xii
<b>ABSTRACT</b> .....	xiii
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Manfaat Penelitian.....	3
D. Tujuan Penelitian.....	3
<b>BAB II. STUDI PUSTAKA</b>	
A. Tinjauan Pustaka	
1. Kumis kucing ( <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth).....	4
2. Asma.....	5
3. Batuk.....	6
4. Ekspektoran.....	7
5. Mukolitik.....	8
6. Uraian tentang mukus.....	8
7. Viskositas.....	9
8. Kromatografi Lapis Tipis.....	13
9. Kromatografi Cair Vakum.....	14
B. Landasan Teori.....	15
C. Hipotesis.....	16

<b>BAB III.</b>	<b>METODE PENELITIAN</b>	
	A. Alat dan Bahan.....	17
	B. Jalannya Penelitian.....	17
	C. Analisis Hasil.....	21
<b>BAB IV.</b>	<b>HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
	A. Uji Aktivitas Mukolitik Secara In Vitro.....	24
	B. Deteksi Golongan Kimia Fraksi Aktif.....	35
<b>BAB V.</b>	<b>KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
	A. Kesimpulan.....	38
	B. Saran.....	38
	<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	39
	<b>LAMPIRAN</b> .....	42



## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur asetilsistein.....	8
Gambar 2. Aliran Newton.....	10
Gambar 3. Aliran Plastis.....	11
Gambar 4. Aliran Pseudoplastis.....	11
Gambar 5. Aliran Dilatan.....	12
Gambar 6. Viscotester VT-04F.....	12
Gambar 7. Kromatografi Cair Vakum.....	15
Gambar 8. Bagan Skema Uji Aktivitas Mukolitik.....	22
Gambar 9. Bagan Skema Alur Penelitian.....	23
Gambar 10. Histogram kadar Tween dengan viskositas mukus.....	26
Gambar 11. Histogram kadar ekstrak n-heksan dan etanol dengan viskositas mukus.....	27
Gambar 12. Histogram kadar ekstrak n-heksan dan etanol dengan daya mukolitik mukus.....	27
Gambar 13. Histogram kadar partisi ekstrak n-heksan lapisan atas dan lapisan bawah dengan viskositas mukus.....	29
Gambar 14. Histogram kadar partisi ekstrak n-heksan lapisan atas dan lapisan bawah dengan daya mukolitik mukus.....	29
Gambar 15. Profil kromatogram hasil VLC.....	32
Gambar 16. Histogram hasil fraksinasi VLC dengan viskositas mukus.....	33
Gambar 17. Histogram hasil fraksinasi VLC dengan daya mukolitik mukus.....	34
Gambar 18. Kromatogram FII.....	35

## DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel I. Viskositas mukus ( $x \pm SE$ ) dengan berbagai konsentrasi penambahan Tween.....	25
Tabel II. Viskositas mukus ( $x \pm SE$ ) dengan pemberian ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol daun <i>O. stamineus</i> .....	26
Tabel III. Viskositas mukus hasil partisi ekstrak n-heksan daun <i>O.stamineus</i> .....	28
Tabel IV. Hasil fraksinasi menggunakan VLC beserta eluen yang dipakai.....	31
Tabel V. Viskositas mukus hasil fraksinasi dengan VLC .....	33
Tabel VI. Kromatogram fraksi aktif setelah disemprot beberapa pereaksi penampak bercak.....	36

**UJI MUKOLITIK EKSTRAK n-HEKSAN DAN ETANOL  
DAUN KUMIS KUCING (*Orthosiphon stamineus* Benth) DAN  
IDENTIFIKASI GOLONGAN SENYAWA AKTIFNYA**

**INTISARI**

Daun *O. stamineus* memiliki berbagai khasiat obat penyembuh aneka jenis penyakit, salah satunya digunakan sebagai obat penyakit saluran pernafasan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya aktivitas mukolitik dari ekstrak *O. stamineus* beserta hasil partisi dan fraksinasinya dalam mengencerkan mukus usus sapi. Penelitian dilakukan dengan cara menguji : (a) Ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol *O. stamineus* dalam 3 seri kadar yaitu 1,0 ; 2,5 dan 5,0 %. (b) Hasil partisi ekstrak n-heksan (larut dan tidak larut metanol) dengan 2 seri kadar yaitu 0,50 dan 0,25 %. (c) Hasil fraksi kolom ekstrak n-heksan dengan 2 seri kadar yaitu 0,25 dan 0,10 % dalam mengencerkan mukosa usus sapi secara in-vitro terhadap kontrol positif (asetilsistein) dan kontrol negatif (mukus ditambah larutan dapar dan tween 1,0 %). Data yang didapat dianalisis menggunakan uji statistik *Univariate Analysis of Variance* dengan taraf kepercayaan 95 %. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak n-heksan dan etanol dengan kadar 1,0 ; 2,5 dan 5,0 % memiliki aktivitas mukolitik, dimana ekstrak n-heksan 1,0 % memiliki aktivitas yang hampir setara dengan asetilsistein 5,0% dalam menurunkan viskositas mukus ( $p < 0,05$ ). Hasil partisi ekstrak n-heksan larut metanol lebih efektif sebagai mukolitik. Pada hasil fraksinasi kolom (VLC), fraksi II 0,25 % memiliki aktivitas mukolitik yang lebih baik daripada kontrol positifnya (asetilsistein 0,10 %). Fraksi II mengandung senyawa golongan terpenoid.

Kata kunci : *Orthosiphon stamineus* Benth, ekstrak n-heksan, ekstrak etanol, mukolitik.

**THE MUCOLITIC ACTIVITY OF n-HEXANE AND ETHANOLIC  
EXTRACT OF *Orthosiphon stamineus* Benth AND IDENTIFICATION  
OF THEIR ACTIVE GROUP COMPOUNDS**

**ABSTRACT**

The *O. stamineus* leaf has a lot of medical benefit for various disease, one of them used for respiratory diseases medicine. The purpose of this research is for knowing the mucolitic activity from the extract, partition and fractionation result of *O. stamineus* in decrease the viscosity of intestine mucosa of cow. The research was done by : (a) testing the n-hexane and ethanolic extract of *O. stamineus* on three series concentrations 1.0, 2.5 and 5.0 % (b/v); (b) soluble and insoluble in methanol of n-hexane extract on two series 0.25 and 0.50 % (b/v); (c) the column fraction of n-hexane with two series 0.25 and 0.10 % (v/v) in decrease the viscosity of intestine mucosa of cow with in vitro compare to positive control (asetilsistein). And then compare to negative control (mucus added with buffer phospat pH 7 and tween 1.0%). The obtained data was analyzed by using *Univariate Analysis of Variance* ( $p < 0.05$ ). The research's result showed n-hexane and ethanolic extract each on 1.0 % (v/v), 2.5 % (v/v) and 5.0 % (b/v) has mucolitic activity, where 1.0 % (v/v) n-hexane extract almost has similar activity with asetilsistein 5 % in reducing mucus viscosity. The result of n-hexane extract methanol soluble partition has more effective as mucolitic than methanol insoluble ( $p < 0.05$ ). Vacuum Liquid Chromatography (VLC) fractionation result (fraction II, 0.25 % (v/v)) has activity better than to positive control (asetilsistein 0.10%). Based on the Thin Layer Chromatography (TLC) profile, fraction II was contain terpenoid class compounds.

Keywords : *Orthosiphon stamineus* Benth, n-hexane extract, ethanol extract, mucolitic.

## BAB I

### PENDAHULUAN

#### A. Latar Belakang Masalah

Pengobatan tradisional telah banyak digunakan sebagai pengobatan alternatif. Didorong oleh adanya kampanye *back to nature* dan *consume less chemicals*, masyarakat dunia telah kembali menggali potensi kemampuan pengobatan tradisional dengan dukungan penelitian terhadap komponen aktifnya. Indonesia merupakan salah satu negara penghasil komoditas obat-obatan yang potensial. Hal ini mendukung masyarakat Indonesia dalam upaya menjaga dan meningkatkan kesehatan dengan memanfaatkan sumber daya alam tersebut, terutama sumber daya tumbuh-tumbuhan, yang dikenal sebagai upaya pengobatan secara tradisional. Salah satu jenis tanaman obat potensial yang sejak lama telah diekspor adalah kumis kucing (Rukmana, 2004).

Penyakit saluran pernafasan merupakan salah satu penyakit yang menempati posisi teratas dalam urutan atau pola penyakit-penyakit di Indonesia. Pasien CARA (*Chronic Aspecific Respiratory Affection*) mencakup semua penyakit saluran pernafasan yang bercirikan penyumbatan *bronchi* (obstruksi) dengan disertai pengembangan mukosa (udema) dan sekresi riak yang berlebihan (sputum) dimana kekentalannya meningkat sehingga sukar dikeluarkan. Terapi yang dianjurkan diantaranya adalah penggunaan mukolitik yaitu obat yang dapat mengencerkan secret saluran pernafasan sehingga lebih mudah dikeluarkan (Tjay & Rahardja, 2002).

Daun kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) memiliki berbagai khasiat obat penyembuh aneka jenis penyakit. Lazimnya, daun kumis kucing dipergunakan dalam bentuk simplisia (daun kering) sesuai dengan khasiat fitoterapi obat yang tercantum dalam Materia Medika Indonesia (1989) dan Farmakope Indonesia (1979), yakni sebagai obat untuk memperlancar pengeluaran air kemih (diuretikum) (Rukmana, 2004).

Daun kumis kucing mengandung zat yang berkhasiat obat yaitu garam kalium 0,7% - 2,36% dan orthosiphonin. Zat ini dikenal sebagai obat peluruh batu ginjal dan aneka jenis penyakit, misalnya mengobati masuk angin, batuk, sakit

pinggang, tekanan darah tinggi, encok, kencing manis, dan demam (Rukmana, 2004; Sudarsono, 1996). Selain itu oleh masyarakat digunakan sebagai obat penyakit saluran pernafasan. Namun informasi khasiat tersebut masih berdasarkan pengalaman, maka perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan bahwa tumbuhan tersebut memiliki khasiat sebagai ekspektoran berdasarkan atas daya mukolitiknya.

Berdasarkan hasil penelitian Damayanti (2003), kandungan minyak atsiri golongan senyawa aldehid dan monoterpen alkohol dari *Orthosiphon thymiflorus* (sinonim dengan *Orthosiphon stamineus* Benth) mampu menghambat pertumbuhan fungi. Selain itu, ekstrak metanol *O. stamineus* mengandung senyawa-senyawa diterpene tipe staminane dan isopimarane, yang memperlihatkan aktivitas terhadap carcinoma usus besar pada manusia (Awale *et al.*, 2001). Senyawa diterpene tersebut juga dilaporkan menghambat produksi nitrat oksida melalui lipopolisakarida (LPS) teraktivasi makrofaga (Awale *et al.*, 2003). *Orthosiphon stamineus* Benth juga telah digunakan dalam pengobatan gangguan saluran pernafasan. Menurut Ikawati *et al.*(2001), ekstrak etanol daun *O. stamineus* mempunyai efek yang berlawanan yaitu mampu menghambat pelepasan histamin dari sel *rat basophilic leukemia* (RBL-2H3) yang merupakan faktor alergi penyebab asma dan juga mampu mempercepat pelepasan histamin secara spontan. Sedangkan untuk ekstrak n-heksan *O. stamineus* hanya mampu mempercepat pelepasan histamin secara spontan.

Penelitian ini merupakan penelitian pendahuluan, yaitu berupa uji efek mukolitik dari ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol daun *O. stamineus*. Selama ini belum pernah dilaporkan aktivitas mukolitik daun *O. stamineus* menggunakan mukosa usus sapi.

### **B. Perumusan Masalah**

1. Apakah ekstrak *O. stamineus* dapat mengencerkan mukus usus sapi secara *in vitro* ?
2. Apakah hasil partisi dan fraksinasi ekstrak *O. stamineus* menunjukkan efek mukolitik ?
3. Fraksi apakah yang sebanding aktivitasnya dengan asetilsistein ?



**BAB II**  
**STUDI PUSTAKA**  
**A. Tinjauan Pustaka**

**1. Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth)**

a. Morfologi

Terna, tahunan, tumbuh tegak, tinggi 50-150 cm namun cenderung menyemak atau rimbun. Batang berkayu, berwarna coklat keunguan atau kemerahan, berbentuk segi empat agak beralur, beruas, bercabang, berambut pendek atau gundul, berakar kuat. Daun tunggal, berbentuk belah ketupat, bulat telur, elips atau memanjang, berambut halus, tepi bergerigi, ujung dan pangkal runcing, tipis, panjang 2-10 cm, lebar 1-5 cm, kedua permukaan daun berbintik-bintik, warnanya hijau. Bunga majemuk dalam tandan yang keluar di ujung percabangan, umumnya berwarna putih, meskipun ada juga yang berwarna kebiruan atau ungu pucat, benang sari lebih panjang dari pada tabung bunga. Buah berupa buah kotak, bulat telur, masih muda berwarna hijau, setelah tua berwarna coklat. Biji kecil, masih muda berwarna hijau, setelah tua berwarna hitam. Kumis kucing tumbuh liar di sepanjang anak sungai dan selokan, atau ditanam dipekarangan sebagai tumbuhan obat dan dapat ditemukan di daerah dataran rendah sampai ketinggian 700 m dpl. Kumis kucing dapat diperbanyak dengan biji atau setek batang (Dalimartha, 2000; Muhlisah, 2001).

1) Sistematika

- |               |   |
|---------------|---|
| i. Divisi     | : Spermathopyta   |
| ii. Subdivisi | : Angiospermae  |
| iii. Kelas    | : Dicotyledonae   |
| iv. Bangsa    | : Labiatae (Lamiaceae)  |
| v. Marga      | : <i>Orthosiphon</i>  |
| vi. Jenis     | : <i>Orthosiphon stamineus</i> Benth  |
| vii. Sinonim  | : <i>Orthosiphon aristatus</i> , <i>Orthosiphon spicatus</i> B.B.S, <i>Orthosiphon grandiflorus</i> Bold, <i>Orthosiphon spiralis</i> Lour Merrill. |



## 2) Nama daerah

- i. Sumatera : Kumis kucing.
- ii. Jawa : Remujung, sesalaseyan, soengot koceng.

(Dalimartha, 2000; Rukmana, 2004)

## b. Kandungan kimia

Daun kumis kucing mengandung orthosiphon glikosida, orthosifonin, minyak atsiri, zat samak, saponin, sapofonin, garam kalium, myoinositol, diterpene tipe staminane (staminane C dan D, staminolactones A dan B, norstaminol A), diterpene tipe isopimarane (orthosiphonone A, C dan D, orthosiphols A, B, D, H, K, L, M, N, O, X, dan Y, siphonols A-E, norstaminone A, neoorthosiphols A, staminols A dan B), eupatorin, sinensetin, salvigenin, ladanein, vomifoliol, asam oleanolik, asam caffeic, asam rosmarinik, asam ursolik dan beta-sitosterol (Awale *et al.*, 2001 & 2003; Muhlisah, 2001; Tezuka *et al.*, 2000; Nguyen *et al.*, 2004).

## c. Aktivitas farmakologi

Tanaman kumis kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) juga sudah banyak diteliti kemungkinannya berkhasiat sebagai antiradang, peluruh kencing (diuretik), infeksi saluran kencing atau sering kencing (anyang-anyangan), menghilangkan panas dan lembap, tekanan darah tinggi, encok, menambah nafsu makan, kencing manis, serta menghancurkan batu saluran kencing (Sudarsono, 1996; Dalimartha, 2000; Muhlisah, 2001).

## 2. Asma

Asma merupakan jenis penyakit penyempitan paru-paru yang sifatnya reversible (kadang-kadang menyerang dan kadang-kadang sehat). Asma juga merupakan jenis penyakit saluran pernafasan hiperaktif menahun disertai dengan episode bronkhokonstriksi (penyempitan saluran pernafasan). Penyakit ini ditandai dengan adanya kepekaan yang luar biasa dari bronkhos (saluran nafas) terhadap banyak jenis rangsangan (Mulyani, 2001).

Sesak napas adalah suatu gejala akibat gangguan bronkhos (buluh napas) yang mendadak menyempit (bronkhokonstriksi) sehingga menghambat penyediaan udara ke dalam paru-paru, disamping itu dinding dalam bronkhos membengkak

dan mengeluarkan lendir yang kental dan lekat, disertai juga batuk dan hipersekresi dahak, sehingga mengakibatkan kekurangan udara dan penderita susah bernapas dan merasa lelah. Faktor yang dapat menyebabkan sesak napas adalah karena alergi, tekanan emosi (stress) dan infeksi. Sesak napas sering terjadi dalam kurun waktu tertentu dan diantara masa itu penderita kelihatan tampak normal (Hargono *et al.*, 1993; Tjay & Rahardja, 2002).

### 3. Batuk

Batuk merupakan gejala penyakit paru dan infeksi saluran nafas atas yang paling sering dijumpai. Batuk dapat merupakan tindakan yang disengaja atau merupakan refleks terhadap iritasi saluran pernafasan melalui pusat pernafasan dimedula. Batuk dimulai dengan inspirasi dalam, diikuti dengan penutupan glotis, relaksasi diafragma dan kontraksi otot terhadap glotis yang tertutup, menghasilkan tekanan intra bronkhus dan tekanan intra toraks positif yang maksimal. Tekanan intra toraks yang positif menyebabkan penyempitan trakea. Waktu glotis terbuka, kombinasi perbedaan tekanan yang besar antara saluran pernafasan dan atmosfer bersamaan dengan penyempitan trakea, menghasilkan aliran udara yang amat kuat untuk mengeluarkan sputum atau benda asing. Jadi refleksi batuk sebenarnya merupakan mekanisme pertahanan saluran nafas terhadap benda asing, gas yang mengiritasi, allergen seperti bakteri dan virus (Soeparman & Waspadji, 1993). Batuk akan membersihkan sekresi yang berlebihan dari jalan nafas, dan rangsangan yang paling sering menimbulkan batuk adalah adanya sputum pada jalan nafas. Sputum terutama terdiri dari air dengan ion-ion, protein, dan protein plasma (Walsh, 1997).

Sputum adalah bahan yang disekresi dalam traktus trakheobronkhial yang dikeluarkan dengan cara membatukkan. Walaupun kelenjar submukosa dan sel sekretorik lapisan mukosa dalam keadaan normal dapat mensekresi cairan viskoelastis sampai 100 ml per hari, orang sehat biasanya tidak memproduksi sputum. Sekresi mukus merupakan usaha normal untuk membersihkan traktus bronkopulmonal (Widmann, 1995).

Pada keadaan sakit seperti pada pasien asma dan bronchitis, produksi dahak bertambah dan begitu pula kekentalannya meningkat sehingga sulit

dikeluarkan (Tjay & Rahardja, 2002). Transport mukus tergantung dari viskositasnya. Mukus yang terlalu cair atau terlalu kental tidak akan ditransport dengan optimal (Turner & Hebborn, 1971; Di Piro *et al.*, 1998). Hal ini seringkali dipersulit lagi oleh kurang efektifnya bulu-bulu getar bronkhi (cilia). Pengeluaran dahak atau sputum dapat dibantu dengan dua cara, yakni menstimulasi sekresi dahak yang lebih cair atau dengan jalan mencairkan dahak yang sudah ada (Tjay & Rahardja, 2002).

#### **4. Ekspektoran**

Obat-obat ekspektoran digunakan untuk meningkatkan atau merangsang sekresi mukus dari bronkus dan trakea pada batuk yang tidak produktif (Mutschler, 1991). Mekanisme kerjanya diduga berdasarkan stimulasi mukosa lambung dan selanjutnya secara refleks merangsang sekresi kelenjar saluran napas lewat nervus vagus, sehingga menurunkan viskositas dan mempermudah pengeluaran dahak (Anonim, 1999).

Ekspektoran bukan termasuk obat antiasma namun sering dipakai bersama-sama obat antiasma yang tujuannya agar penderita dapat dengan mudah mengeluarkan dahak, karena pada penderita asma selain memproduksi dahak berlebihan juga kualitas dahak tersebut liat dan kental, sehingga sangat sukar dikeluarkan (Sundaru, 2000). Dengan pemberian ekspektoran ini diskriti dan hiperkrini dapat diperbaiki dengan mengencerkan dahak yang kental dan liat menjadi lebih mudah dikeluarkan, maka penyebab obstruksi bronkus dapat dihilangkan. Atas dasar inilah ekspektoran digunakan pada penderita penyakit asma (Mutschler, 1991). Ekspektoran akan menambah volume sputum, sedangkan mukolitik mengubah sifat fisik dan kimiawi sputum sehingga akan lebih mudah untuk dibatukkan (Walsh, 1997).

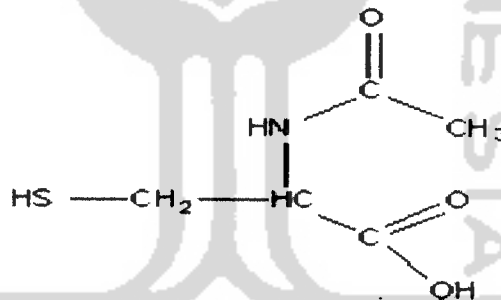
Gurah mampu mengeluarkan lendir (mukus) dari hidung dan atau tenggorokan dalam waktu yang relatif singkat dengan jumlah lendir yang relatif banyak. Upaya ini diyakini dapat “membeningkan” suara dan diyakini pula dapat menyembuhkan penyakit yang berkaitan dengan saluran pernafasan dan penyakit-penyakit yang ada hubungannya dengan lendir, seperti batuk, asma bronkhitis,

influenza dan penyakit lain yang berhubungan dengan lendir yang berlebihan (Walsh, 1997).

## 5. Mukolitik

Mukolitik adalah obat yang dapat mengencerkan sekret saluran nafas dengan jalan mengurangi atau menghilangkan benang-benang mukoprotein dan mukopolisakarida dari sputum serta menurunkan tegangan permukaan sehingga adhesi lendir pada epitel bronkhus akan berkurang. Obat ini dapat meringankan perasaan sesak nafas dan terutama berguna pada serangan asma hebat yang dapat mematikan jika sumbatan lendir sedemikian kentalnya sehingga tidak dapat dikeluarkan (Tjay & Rahardja, 2002; Mutschler, 1991).

Aktivitas mukolitik ada yang secara langsung bekerja pada mukus seperti asetilsistein yaitu dengan cara membuka ikatan disulfidanya dari komponen mukoproteinnnya, ataupun yang menginduksi enzim yang dapat mengencerkan mukus seperti bromheksin, dan menurunkan tegangan permukaan lendir dan epitel bronkhus seperti ambroksol (Camroe, 1972; Gan *et al.*, 1987; Anonim, 1993).



Gambar 1. Struktur Asetilsistein (Anonim, 2004).

## 6. Uraian tentang mukus

Mukus saluran pernafasan dihasilkan oleh kelenjar mukus dan sel goblet pada saluran pernafasan. Mukus yang disekresikan kemudian dideposit pada permukaan epitel bronkhial dan selanjutnya disapu kearah atas menuju laring oleh cilia yang terletak pada epitel silindris yang melapisi dinding bronkhus. Kelenjar mukus diatur langsung oleh sistem syaraf parasimpatis, sementara sel goblet memberi respon terhadap iritasi langsung. Pada manusia, kelenjar mukus merupakan penghasil mukus utama, jika saluran pernafasan seseorang terpapar

secara akut dengan suatu iritan, maka dihasilkan mukus yang berlebihan (Cherniack, 1998).

Mukus merupakan produksi saluran pernafasan yang merupakan cairan kompleks yang berupa serabut gel dari mukoprotein dan mukopolisakarida (Comroe, 1972 *cit* Henry, 2004). Komposisi mukus adalah 95% air dan 5% glikoprotein (Di piro *et al.*, 1998).

Mukus disekresikan oleh sel-sel epitel permukaan disepanjang saluran cerna, yang disekresikan sebenarnya adalah musin, yang merupakan glikoprotein kompleks, dengan berat molekul besar, musin yang dieksresikan mengalami hidrasi dan membentuk gel menjadi suatu selimut mukus yang menutup dan melindungi epitel usus. Selimut mukus juga melumas, mengikat beberapa bakteri dan menahan lagi ditempatnya sehingga bisa berkaitan dengan patogen, sekresi musin dipercepat oleh rangsangan kolinergik (Ganong, 1995).

Mukosa usus sapi merupakan bagian abdominal dari saluran pencernaan hewan ternak terdiri dari (dari luar kedalam) : serosa (peritonium visceral), otot terutama otot halus, submukosa (jaringan ikat), selaput epitel dari saluran (membran mukosa). Keseluruhan dari membran mukosa terdiri dari sel-sel kolumnar, beberapa diantaranya mengalami modifikasi menjadi sel-sel goblet untuk sel mangkok yang menghasilkan lendir (mucinogen) yang dilepas kepermukaan epitel dan bekerja sebagai pelicin dan pelindung (Dukes, 1995).

## 7. Viskositas

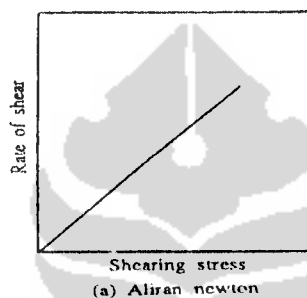
Viskositas adalah suatu ungkapan yang menyatakan tahanan yang mencegah zat cair untuk mengalir. Makin tinggi viskositasnya, makin besar tahanannya. Viskositas merupakan besaran yang tergantung dari perbandingan tegangan geser kecepatan deformasi (Voigt, 1984).

Cairan mempunyai gaya gesek yang lebih besar untuk mengalir daripada gas, sehingga cairan mempunyai koefisien viskositas yang lebih besar daripada gas (Sukardjo, 1997). Viskositas gas bertambah dengan naiknya temperatur, sedangkan viskositas cairan berkurang dengan naiknya temperatur (Martin *et al.*, 1993; Sukardjo, 1997).

Penggolongan bahan menurut tipe aliran dan deformasi adalah sistem Newton dan sistem non-Newton. Pemilihan bergantung pada sifat-sifat alirannya apakah sesuai dengan hukum aliran dari Newton atau tidak (Martin *et al.*, 1993).

#### a. Sistem Newton

Suatu zat dikatakan termasuk sistem Newton apabila tunduk pada hukum Newton tentang aliran yang menyebutkan bahwa kenaikan gaya gesek akan menyebabkan kenaikan kecepatan geser yang proporsional (sebanding) berbanding lurus. Makin besar viskositas cairan, akan makin besar pula gaya persatuan luas (*shearing stress*) yang diperlukan untuk menghasilkan suatu kecepatan geser (*rate of shear*) tertentu. Oleh karena itu, *rate of shear* harus berbanding langsung dengan *shearing stress*.



Gambar 2. Aliran Newton (Martin *et al.*, 1993).

#### b. Sistem Non-Newton

Non-Newtonian bodies adalah zat-zat yang tidak mengikuti persamaan aliran Newton, seperti dispersi heterogen cairan dan padatan seperti larutan koloid, emulsi, suspensi cair, salep dan produk-produk serupa (Martin *et al.*, 1993).

##### 1). Aliran plastis

Aliran plastis berhubungan dengan adanya partikel-partikel yang terflokulasi dalam suspensi pekat (Martin *et al.*, 1993). Menurut Voigt, 1984 menyatakan bahwa bodi plastik dinyatakan melalui eksistensi suatu batas aliran. Untuk membangkitkan proses mengalir, harus diberikan sejumlah tegangan geser minimal kedalam sistem, yang memaksanya mulai mengalir. Yang termasuk dalam tipe ini antara lain : gel, salep, krim, pasta dll.

## 8. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi adalah suatu nama yang diberikan untuk teknik pemisahan tertentu (Sastrohamidjojo, 2001). Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase atau lebih, salah satunya bergerak secara berkesinambungan dalam arah tertentu dan di dalamnya zat-zat itu menunjukkan perbedaan dalam adsorpsi, partisi, kelarutan, tekanan uap, ukuran molekul atau kecepatan muatan ion. Dengan demikian masing-masing zat dapat diidentifikasi atau ditetapkan dengan metode analitik (Anonim, 1995).

Teknik kromatogram umumnya membutuhkan zat terlarut yang terdistribusi antara dua fase, antara lain fase diam dan fase bergerak. Fase gerak membawa zat terlarut melalui media. Fase diam dapat bertindak sebagai penyerap. Pada kromatografi lapis tipis, zat penyerap merupakan lapisan tipis serbuk halus yang dilapiskan pada lempeng kaca, plastik atau logam. Lempeng yang dilapisi dapat dianggap sebagai kolom kromatografi yang terbuka dan pemisahan yang tercapai dapat didasarkan pada adsorpsi, partisi, atau kombinasi kedua efek, tergantung dari jenis penyangga, cara pembuatan, dan jenis pelarut yang digunakan (Anonim, 1995).

Kromatografi lapis tipis (KLT) ialah metode pemisahan fisikokimia lapisan yang memisahkan yang terdiri atas bahan berbutir-butir (fase diam), ditempatkan pada penyangga berupa pelat gelas, logam atau lapisan yang cocok. Campuran yang dipisahkan berupa larutan, ditotolkan berupa bercak atau pita. Setelah pelat atau lapisan ditaruh dalam bejana tertutup rapat yang berisi fase gerak yang cocok, pemisahan terjadi selama perambatan kapiler. Untuk senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan atau dideteksi (Stahl, 1985).

Penyerap untuk kromatografi lapis tipis (KLT) adalah silika gel, alumina, keselghur dan selulosa. Lapisan silika gel atau alumina yang akan dipakai untuk kromatografi adsorpsi harus sedikit mungkin mengandung air, karena jika tidak air akan menempati semua titik penyerapan sehingga tidak akan ada linorat yang melekat. Lapisan yang mengandung air yang sedikit itu dikatakan diaktifkan dan dibuat dengan pemanasan pada suhu 100°C lebih, 1-3 jam. Jika suhu pengaktifan



jauh diatas 110°C, mungkin terjadi dehidrasi yang tidak bolak balik pada penyerap dan menyebabkan pemisahan yang kurang efektif (Gritter *et al.*, 1991).

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan bercak dalam kromatografi lapis tipis dan juga mempengaruhi harga Rf, yaitu:

- a) struktur kimia dari senyawa yang dipisahkan
- b) sifat penyerap dan derajat aktivitasnya
- c) tebal dan kerataan dari lapisan penyerap
- d) pelarut yang digunakan sebagai fase gerak dan derajat kemurniaannya
- e) derajat kejenuhan uap dalam bejana pengembangan yang digunakan
- f) teknik percobaan atau pemilihan metode penaikkan pelarut bergerak diatas plat
- g) jumlah cuplikan yang digunakan
- h) suhu, dan
- i) kesetimbangan

Untuk identifikasi senyawa-senyawa yang terpisah pada lapisan tipis dapat menggunakan harga Rf, dimana harga-harga untuk senyawa-senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga-harga standar. Harga Rf didefinisikan sebagai berikut:

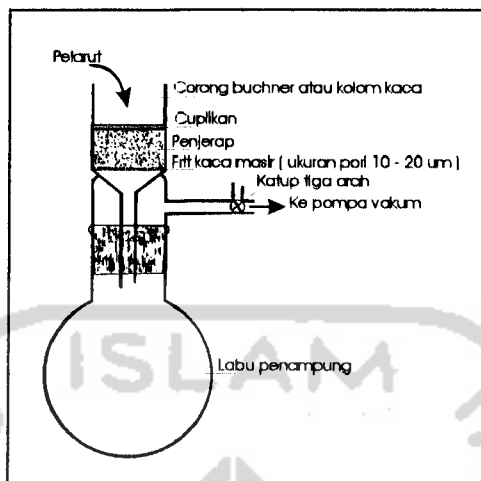
$$\text{Harga Rf} = \frac{\text{Jarak yang digerakkan oleh senyawa dari titik asal}}{\text{Jarak yang digerakkan oleh pelarut dari titik asal}}$$

(Sastrohamidjojo, 2001).

### 9. Kromatografi Cair Vakum / *Vacuum Liquid Chromatography* (VLC)

Kromatografi cair vakum menggunakan silika gel 60 (63-200 µm, Merck). Kolom kromatografi dikemas kering dalam keadaan vakum agar diperoleh kerapatan kemasan maksimum. Vakum dihentikan, pelarut yang kepolarannya rendah dituangkan ke permukaan penyerap lalu divakumkan lagi. Kolom dihisap sampai kering dan sekarang siap dipakai. Cuplikan, dilarutkan dalam pelarut yang cocok, dimasukkan langsung pada bagian atas kolom atau pada lapisan penyerap dan dihisap perlahan-lahan kedalam kemasan pada kondisi vakum. Kolom, dielusi dengan campuran pelarut yang cocok, mulai pelarut yang kepolarannya rendah

lalu ditingkatkan perlahan-lahan, kolom dihisap sampai kering pada setiap pengumpulan fraksi (Hostettmann, 1995).



Gambar 7. Kromatografi cair vakum (Hostettmann, 1995).

### B. Landasan Teori

Minyak atsiri dan senyawa golongan terpenoid yang terdapat pada tanaman Johar (*Cassia simea*, Lamk), Lidah buaya (*Aloe vera*), Sembung (*Blumea balsamifera*), Timi (*Thymus vulgaris* L), yang berkhasiat antara lain menyembuhkan bronchitis, pilek, asmatis, sinusitis, sebagai peluruh air seni (diuretik), peluruh kentut (karminatif), peluruh keringat (diaforetik), antipiretik, antibakteri. Salah satu khasiatnya yang dominan adalah sebagai mukolitik. Daun kumis kucing mengandung minyak atsiri juga diterpenes tipe isopimarane dan staminane yang kemungkinan mempunyai aktivitas mukolitik. Untuk mengetahui aktivitas mukoliktiknya, dilakukan uji mukolitik dengan menghitung perubahan viskositasnya menggunakan mukus usus sapi. Makin kental suatu cairan maka makin besar gaya yang dibutuhkan untuk mengalir pada kecepatan tertentu. Mukolitik merupakan obat yang dapat mengencerkan sekret saluran nafas dengan jalan mengurangi atau menghilangkan benang mukoprotein dan mukopolisakarida dari sputum.

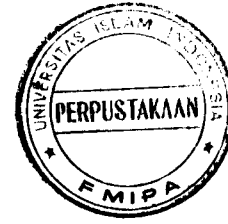
### C. Hipotesis

Ekstrak n-heksan dan etanol *O. stamineus* beserta hasil partisi dan fraksinasinya mengandung komponen kimia yang memiliki aktivitas menurunkan viskositas mukus. Bahan yang dapat menurunkan viskositas mukus potensial dikembangkan sebagai obat mukolitik.



### BAB III METODOLOGI PENELITIAN

#### A. Alat dan Bahan



##### 1. Alat

Alat-alat yang digunakan meliputi Viscotester VT-04F (Rion. Co. LTD, Japan), termometer, *waterbath* (Mammert), alat-alat gelas, stopwatch, lampu UV, alat penyemprot, chamber KLT, lempeng silika gel GF<sub>254</sub> (Merck Germany).

##### 2. Bahan

Bahan utama adalah ekstrak n-heksan dan etanol daun *Orthosiphon stamineus Benth* (yang diperoleh dari Bapak Dr. Gemini Alam M.Si, Apt. bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi UGM), mukosa usus sapi (rumah pejalagan Kota yogyakarta), larutan dapar phospat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>) bahan untuk membuat pH 7, asetilsistein (kapsul fluimucil 200 mg) dari PT. Zambon, n-heksan derajat teknis, kloroform derajat pro analisis (Emerck) dan aquadest.

#### B. Jalannya Penelitian

##### 1. Pembuatan Seri Kadar ekstrak n-heksan dan Kontrol

- a. Ekstrak n-heksan yang diperoleh diasumsikan berkadar 100%. Untuk pengujian aktivitas mukolitik, ekstrak yang diperoleh dibuat dalam 3 seri kadar, yakni:
  - 1) Ekstrak n-heksan kadar 5,0% (b/v) dibuat dengan cara mengemulsikan 0,5 gram ekstrak dengan tween 1,0% dan ditambah aquadest sampai 10 ml.
  - 2) Ekstrak n-heksan kadar 2,5% (v/v) dibuat dengan cara mengencerkan 5,0 ml ekstrak 5,0% sampai 10 ml.
  - 3) Ekstrak n-heksan kadar 1,0% (v/v) dibuat dengan cara mengencerkan 2,0 ml ekstrak 5,0% sampai 10 ml.
- b. Ekstrak etanol yang diperoleh diasumsikan berkadar 100% untuk pengujian aktivitas mukolitik, ekstrak yang diperoleh dibuat dalam 3 seri kadar, yakni :

- 1) Ekstrak etanol kadar 5,0% (b/v) dibuat dengan cara mengemulsikan 0,5 gram ekstrak dengan tween 1,0% dan ditambah aquadest sampai 10 ml.
  - 2) Ekstrak etanol kadar 2,5% (v/v) dibuat dengan cara mengencerkan 5,0 ml ekstrak 5,0% sampai 10 ml.
  - 3) Ekstrak etanol kadar 1,0% (v/v) dibuat dengan cara mengencerkan 2,0 ml ekstrak 5,0% sampai 10 ml.
- c. Kontrol positif asetilsistein 5,0% dibuat dengan cara melarutkan 0,5 gram asetilsistein (diperoleh dari kapsul fluimucil yang mengandung 200 mg asetilsistein) dengan air dan diencerkan sampai tanda 10 ml.
- d. Kontrol negatif dipakai larutan dapar ditambah dengan mukus dan tween 1,0%.
- e. Seri kadar hasil partisi ekstrak aktif.
- 1) Kadar 0,50% (b/v) (ekstrak hasil partisi n-heksan bagian atas) dibuat dengan cara mengemulsikan 0,5 gram ekstrak dengan tween 1,0% dan ditambah aquadest sampai 10 ml.
  - 2) Kadar 0,25% (v/v) (ekstrak hasil partisi n-heksan bagian atas) dibuat dengan cara mengencerkan 0,5 ml ekstrak 0,50% sampai 10 ml.
  - 3) Kadar 0,50% (b/v) (ekstrak hasil partisi n-heksan bagian bawah) dibuat dengan cara mengemulsikan 0,5 gram ekstrak dengan tween 1,0% dan ditambah aquadest sampai 10 ml.
  - 4) Kadar 0,25% (v/v) (ekstrak hasil partisi n-heksan bagian bawah) dibuat dengan cara mengencerkan 0,5 ml ekstrak 0,50% sampai 10 ml.
- f. Seri kadar hasil fraksinasi ekstrak aktif dengan menggunakan VLC (FI, FII, FIII dan FIV).
- 1) Larutan stok 10% (b/v) dibuat dengan cara mengemulsikan 40 mg ekstrak dalam tween 1,0% dan diencerkan sampai 400  $\mu$ l.
  - 2) Kadar 0,25% (v/v) diambil 10  $\mu$ l dari larutan stok 10%.
  - 3) Kadar 0,10% (v/v) diambil 4  $\mu$ l dari larutan stok 10%.

## 2. Uji aktivitas Mukolitik

### a. Larutan mukus

Mukus didapatkan dari mukosa usus sapi (3-5 kg) yang dicuci dengan air mengalir sampai bersih kemudian diurut, mukus ditampung pada gelas beker. Mukus didapatkan berwarna kuning keputihan sampai kecoklatan, kemudian diencerkan dalam larutan dapar fosfat dengan pH 7 hingga diperoleh mukus sebanyak 80% kemudian diambil 88 ml untuk tiap ujinya (Hendry, 2004).

### b. Larutan dapar fosfat pH 7

Larutan dapar pH 7 dibuat dengan mencampurkan 50,0 ml kalium dihidrogen fosfat 0,2 M dengan 29,1 ml natrium hidroksida 0,2 N dan diencerkan dengan air bebas karbondioksida P secukupnya hingga 200,0 ml (Anonim, 1995) diambil 22 ml untuk tiap ujinya.

### c. Uji aktivitas mukolitik

Larutan mukus 80% dalam dapar fosfat pH 7 (110 ml) dan larutan uji diinkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Sediaan larutan uji dalam berbagai konsentrasi, 1,0; 2,5; dan 5,0 % diuji daya mukolitiknya terhadap larutan mukus. Pengukuran Viskositas dilakukan dengan menggunakan alat Viscotester Rion. Pada saat pengukuran, cup Viscotester Rion ditempatkan pada penangas air pada suhu konstan (37±0,5°C). Pengukuran dilakukan sebanyak 5 kali untuk masing-masing larutan, dan setiap kali dengan cuplikan baru.

## 3. Partisi Ekstrak Aktif

Ekstrak n-heksan daun *O. stamineus* dipisahkan dengan partisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan : metanol : air (5:2:0,5) di dalam corong pisah. Hasil partisi kemudian diuapkan diatas penangas air sampai kering lalu dilarutkan dengan larutan metanol : kloroform (1:1). Dari hasil partisi, kemudian dilakukan kromatografi lapis tipis menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dengan fase gerak n-heksan : etil asetat (5:1), yang kemudian dideteksi dibawah sinar UV<sub>254</sub> nm dan UV<sub>366</sub> nm dan juga dengan menggunakan pereaksi serium(IV)sulfat untuk memperjelas bercak yang timbul.

Berdasarkan hasil KLT, fraksi-fraksi dengan profil KLT yang hampir sama digabung, sehingga diperoleh 4 fraksi yaitu F I (fraksi 1 dan 2), F II (fraksi 3, 4 dan 5), F III (fraksi 6 dan 7) dan F IV (fraksi 8 dan 9).

## 5. Deteksi Kandungan Kimia

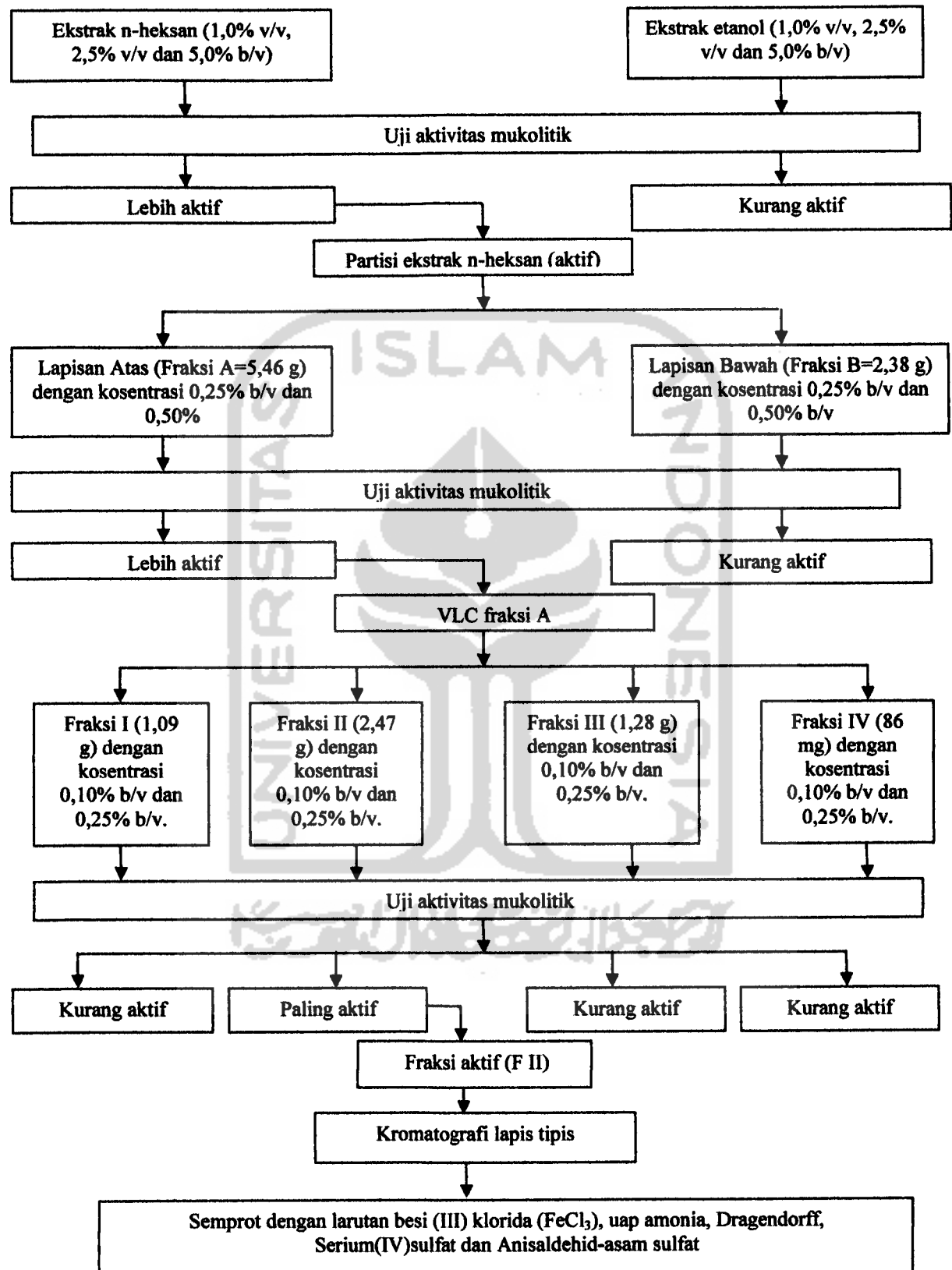
Fraksi aktif (F II) dari hasil fraksinasi dilarutkan dalam campuran pelarut kloroform : metanol = 1:1 (v/v) kemudian dianalisis dengan cara KLT menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksan : etil asetat (6:1). Kemudian deteksi kandungan senyawa kimia dengan menggunakan sinar UV<sub>254</sub> nm dan UV<sub>366</sub> nm, juga disemprot menggunakan pereaksi besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>), uap amonia, Dragendorff, serium(IV)sulfat dan Anisaldehyd-asam sulfat.

### C. Analisis Hasil

1. Data viskositas yang diperoleh dari pengukuran viskositas mukus terhadap konsentrasi ekstrak yang diberikan dalam uji aktivitas mukolitik dihitung sebagai potensi larutan uji berupa data viskositas untuk tiap konsentrasi dibandingkan secara statistik dengan menggunakan *Univariate Analysis of Variance* dengan taraf kepercayaan 95% antara larutan mukus yang sudah diberi larutan uji dalam berbagai konsentrasi terhadap kontrol.

2. Identifikasi kandungan senyawa aktif dengan melihat kromatogram di bawah lampu UV atau sinar tampak dengan pereaksi semprot, kemudian dibandingkan dengan pustaka yang ada.

### E. Bagan Skema Alur Penelitian



Gambar 9. Bagan skema alur penelitian



## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

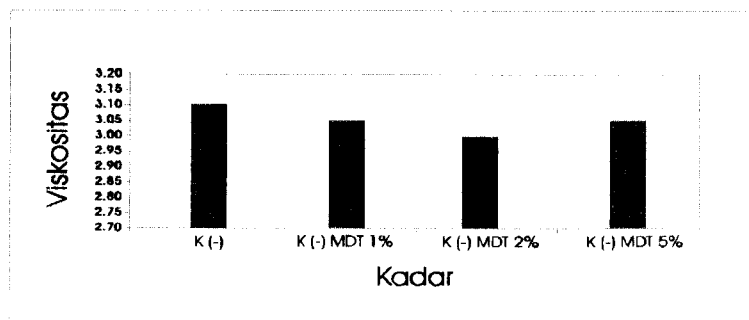
### A. Uji Aktivitas Mukolitik Secara In Vitro

Uji aktivitas mukolitik ini dilakukan berdasarkan kemampuan mukolitik dari ekstrak tanaman *O. Stamineus* untuk mengencerkan mukus sehingga viskositasnya (kekentalannya) menurun. Pengujian ini dilakukan secara in vitro dengan menggunakan mukus dari usus sapi. Usus dicuci bersih terlebih dahulu dengan air yang mengalir agar kotoran dan sisa-sisa makanan hilang, sehingga pada saat usus diurut didapatkan mukus berwarna kuning kecoklatan dan kental. Setelah itu usus dibelah membujur dan dikerok isinya untuk mendapatkan mukus yang lebih banyak. Satu kilogram usus sapi dapat menghasilkan mukus sekitar 0,5-1 liter. Pada uji aktivitas mukolitik ini, sebaiknya menggunakan mukus yang masih segar yaitu yang baru diambil pada pagi harinya, dengan selang waktu sekitar 1-3 jam dari waktu pengumpulan mukus sampai pada saat pengujiannya, agar hasil pengukuran yang didapat lebih baik. Kemudian mukus yang telah terkumpul diaduk secara perlahan-lahan sehingga didapatkan mukus yang homogen. Jika memungkinkan, sebaiknya menggunakan mukus yang berasal dari satu individu saja, agar viskositasnya tidak berbeda.

Mukus terdiri dari glikoprotein kompleks yang mempunyai berat molekul yang besar (Ganong, 1995), oleh karena itu setelah mukus terkumpul sebaiknya langsung dimasukkan kedalam *freezer* yang bertujuan untuk menurunkan suhu dan menghentikan aktivitas enzim yang dapat memecah makromolekul dalam mukus tersebut. Mukus termasuk bahan dengan sistem non-Newton dan alirannya bersifat pseudoplastis, sehingga alat yang tepat untuk mengukur viskositas dari mukus tersebut adalah viskometer tipe *Cup and Bob*, yaitu khususnya viskometer merk Rion VT -04F dengan menggunakan rotor no.3.

Pengujian aktivitas mukolitik secara in vitro ini, dimulai dengan mengkondisikan larutan mukus pada pH 7, tujuannya agar memiliki kesesuaian dengan kondisi fisiologis dan tidak terjadi perubahan pada mukus karena adanya enzim dan juga perubahan suhu. Selain itu, karena pada pH yang lebih asam dapat meningkatkan viskositas mukus sehingga mengurangi sifat alirnya (Widmann,

Dari tabel diatas kemudian dapat dibuat grafik berdasarkan data viskositas yang diperoleh.



Gambar 10. Histogram kadar Tween dengan viskositas mukus.

Data viskositas mukus diatas dapat dibandingkan secara statistik dengan menggunakan uji statistik *Univariate Analysis of Variance* dengan taraf kepercayaan 95%. Maka hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna ( $p=1,000$ ) antara K(-)MDT 1%, 2% maupun 5% terhadap kontrol negatif tanpa tween. Sehingga adanya penambahan tween tidak akan berpengaruh pada pengenceran mukus, maka jika terjadi pengenceran pada mukus, itu benar-benar disebabkan ekstrak yang diuji yaitu *O. stamineus*.

## 2. Pengaruh ekstrak n-Heksan dan Etanol terhadap viskositas mukus.

Pada uji ini yang pertama kali dilakukan adalah membandingkan antara ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol dalam berbagai konsentrasi terhadap kontrol negatif dan kontrol positif asetilsistein. Hasil dari uji viskositasnya tertera dalam tabel II dibawah ini :

Tabel II. Viskositas mukus ( $x \pm SE$ ) dengan pemberian ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol daun *O. stamineus*

No.	Jenis ekstrak	Viskositas (dPas) $\pm$ SE	Efek mukolitik (%)
1.	Kontrol negatif	3,10 $\pm$ 0,06	0
2.	KP asetilsistein 5,0%	0,84 $\pm$ 0,04	72,90
3.	Etanol 5,0%	2,36 $\pm$ 0,04 <sup>(a)(b)</sup>	23,87
4.	n-Heksan 5,0%	1,87 $\pm$ 0,05 <sup>(a)(b)</sup>	39,68
5.	Etanol 2,5%	1,24 $\pm$ 0,02 <sup>(a)(b)</sup>	60,00
6.	n-Heksan 2,5%	1,23 $\pm$ 0,01 <sup>(a)(b)</sup>	60,32
7.	Etanol 1,0%	1,04 $\pm$ 0,02 <sup>(a)(b)</sup>	66,45
8.	n-Heksan 1,0%	0,95 $\pm$ 0,01 <sup>(a)</sup>	69,35

Keterangan : dPas = desiPascal.second<sup>-1</sup> = Poise

(a) = Berbeda bermakna terhadap kontrol negatif ( $p < 0,05$ )

(b) = Berbeda bermakna terhadap kontrol positif ( $p < 0,05$ )

( $p=0,000$ ) maupun kontrol positif ( $p=0,000$ ). Tetapi untuk ekstrak n-heksan 1,0% tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna terhadap kontrol positif ( $p=1,000$ ). Maka dapat dikatakan ekstrak n-heksan tersebut memiliki kemampuan yang sama dengan kontrol positif dalam mengencerkan mukus. Ekstrak n-heksan tersebut dapat diteliti lebih lanjut, karena memiliki angka viskositas yang lebih kecil dan harga efek mukolitik yang lebih besar mendekati harga efek mukolitik kontrol positifnya.

### 3. Partisi ekstrak aktif n-heksan dan uji aktivitas mukolitik.

Partisi ekstrak n-heksan *O. stamineus* dilakukan dengan cara partisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksan, metanol dan air (5:2:0,5) yang dilakukan dalam corong pisah. Hasil dari partisi ekstrak aktif tersebut berupa lapisan atas dan lapisan bawah yang kemudian diuji aktivitas mukolitiknya.

Hasil pengujian lapisan atas dan lapisan bawah dari hasil partisi ekstrak n-heksan *O. stamineus* dapat dilihat dalam tabel III berikut ini :

Tabel III. Viskositas mukus hasil partisi ekstrak n-heksan daun *O. stamineus* ( $x \pm SE$ )

No.	Jenis partisi	Viskositas (dPas) $\pm$ SE	Efek mukolitik (%)
1.	Kontrol negatif	2,85 $\pm$ 0,06	0
2.	Kontrol positif asetil sistein 1,0%	0,88 $\pm$ 0,01	69,12
3.	Lapisan atas 0,50%	0,80 $\pm$ 0,02 <sup>(a)</sup>	71,93
4.	Lapisan bawah 0,50%	2,10 $\pm$ 0,06 <sup>(a)(b)</sup>	26,32
5.	Lapisan atas 0,25%	0,58 $\pm$ 0,02 <sup>(a)(b)</sup>	79,65
6.	Lapisan bawah 0,25%	1,56 $\pm$ 0,02 <sup>(a)(b)</sup>	45,26

Keterangan : dPas = desiPascal.second<sup>-1</sup> = Poise

(a) = Berbeda bermakna terhadap kontrol negatif ( $p<0,05$ )

(b) = Berbeda bermakna terhadap kontrol positif ( $p<0,05$ )

Dari tabel III diatas dapat dibuat grafik yang menunjukkan perbedaan antara lapisan atas dan lapisan bawah hasil partisi ekstrak n-heksan daun *O. stamineus*.

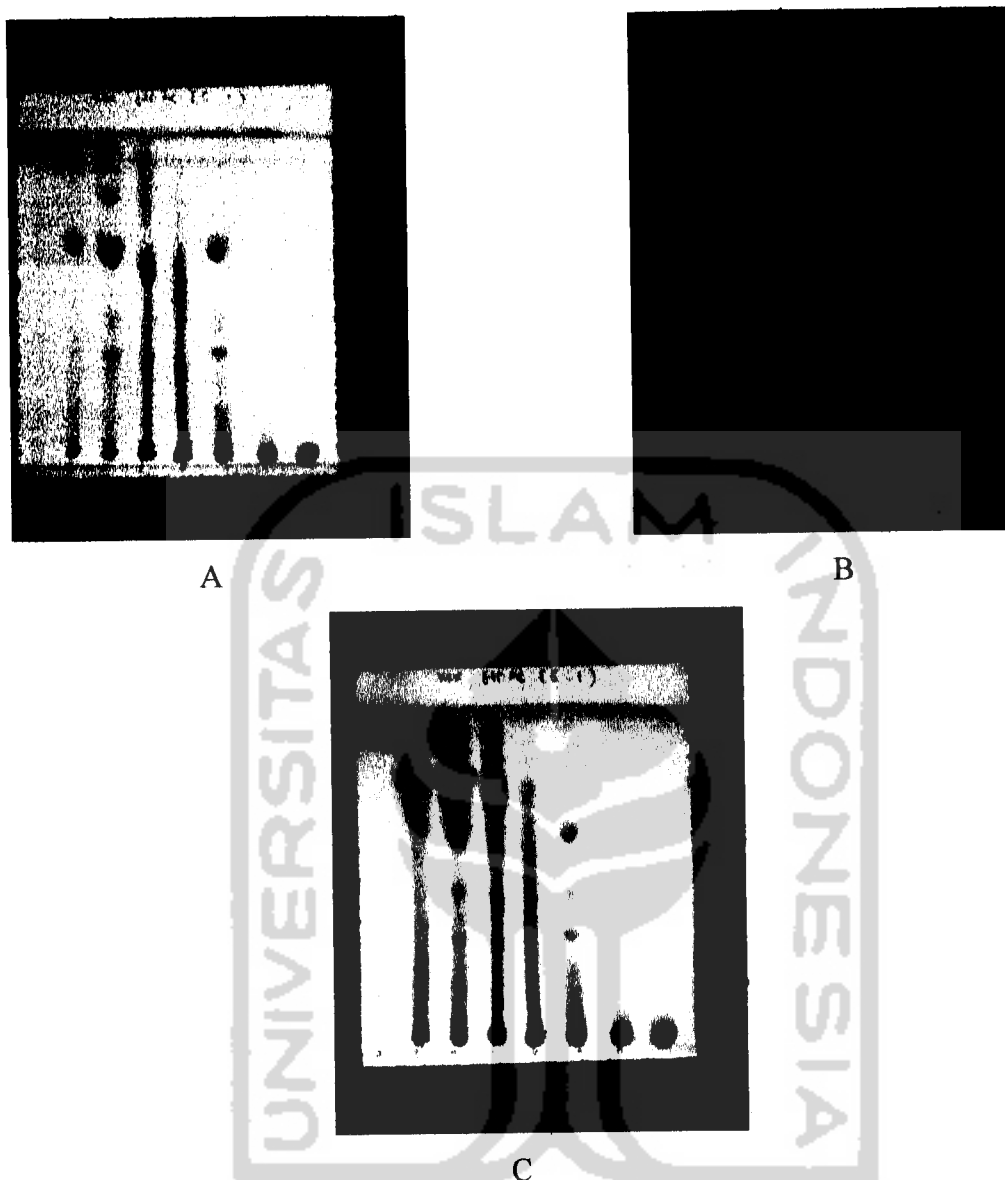
#### 4. Fraksinasi lapisan atas secara *Vacuum Liquid Chromatography* (VLC)

Tujuan dilakukannya fraksinasi pada penelitian ini adalah untuk mengelompokkan fraksi berdasarkan polaritas senyawa-senyawa dalam ekstrak, sehingga memudahkan dalam pencarian senyawa aktifnya. Metode yang digunakan untuk fraksinasi lapisan atas hasil partisi ekstrak n-heksan daun *O. stamineus* adalah VLC. Metode ini dipilih karena mempunyai beberapa keuntungan yaitu hanya memerlukan pelarut yang sedikit, pemisahan lebih cepat dan dianggap lebih baik dari pada kromatografi kolom kering (Hostettmann, 1995).

Untuk persiapan sampelnya dilakukan dengan penambahan silika gel 60 sampai semuanya terikat pada silika. Silika gel 60 adalah silika yang dibebaskan dari air dengan ukuran partikel 60 mesh. Sedangkan untuk fase diamnya juga menggunakan silika gel 60. Kolom kaca yang digunakan berdiameter 4 cm dengan tinggi 6 cm dan dilengkapi fritkaca masir (*sinterglass*) dengan ukuran pori 10 – 20  $\mu\text{m}$  sebagai lapisan penyerap. Dalam kondisi vakum dihidupkan, silika gel tersebut dimasukkan ke dalam kolom kaca sedikit demi sedikit sambil kolom diketuk-ketuk agar pengepakan lebih kompak dan padat. Selama pengisian, vakum harus terus hidup agar pengisiannya kompak. Apabila vakum mati, akan terjadi perubahan tekanan yang tiba-tiba sehingga silika akan terdorong keatas dan menyebabkan *cracking* dalam pemisahan kolom nantinya. Permukaan fase diam dibuat serata mungkin agar diperoleh pengisian kolom yang homogen. Pengisian kolom yang tidak homogen akan merusak batas-batas pita kromatografi sehingga pemisahan yang terjadi tidak sempurna (Sastrohamidjojo, 2002). Kemudian fase diam dielusi dengan pelarut organik yang kepolarannya paling rendah diantara pelarut-pelarut yang digunakan sebagai fase gerak. Tujuannya untuk memperbaiki kekompakan kolom sehingga tidak terlalu banyak udara didalam kolom.

Pelarut-pelarut yang digunakan sebagai fase gerak adalah n-heksan, etil asetat, kloroform dan metanol baik dalam bentuk tunggal maupun dalam bentuk campuran pelarut dengan perbandingan tertentu.

Sebelum ditambahkan eluen pada sampel, diatas sampel ditambahkan sedikit silika gel dan ditutup dengan kertas saring agar tidak terjadi kontak langsung. Karena jika fase gerak yang menggenang di permukaan langsung



Gambar 15. Profil kromatogram hasil VLC dengan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak n-heksan : etil asetat (5:1), A. dilihat dibawah sinar  $UV_{254}$  nm, B. dilihat dibawah sinar  $UV_{366}$  nm, C. deteksi bercak menggunakan pereaksi semprot Serium (IV) Sulfat.

Berdasarkan profil KLT yang didapat, maka fraksi-fraksi dengan profil KLT yang hampir sama dijadikan satu fraksi dengan pertimbangan fraksi-fraksi tersebut mempunyai kandungan senyawa yang hampir sama. Sehingga dari hasil KLT tersebut diperoleh 4 fraksi yaitu F I (fraksi 1 dan 2), F II (fraksi 3, 4 dan 5), F III (fraksi 6 dan 7) dan F IV (fraksi 8 dan 9).

Fraksi-fraksi yang didapat, kemudian diuji aktivitas mukolitiknya untuk mengetahui fraksi aktif yang berperan dalam mengencerkan mukus. Hasil pengujian dapat dilihat seperti dalam tabel dibawah ini :

Tabel V. Viskositas mukus hasil fraksinasi dengan VLC

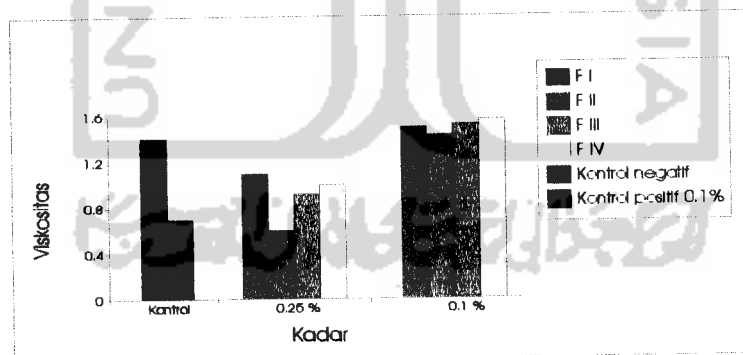
No.	Jenis ekstrak	Viskositas (dPas) $\pm$ SE	Efek mukolitik (%)
1.	Kontrol negatif	1,42 $\pm$ 0,04	0
2.	KP asetil 0,10%	0,77 $\pm$ 0,05	45,77
3.	F I 0,25%	1,16 $\pm$ 0,05 <sup>(a)(b)</sup>	18,31
4.	F II 0,25%	0,66 $\pm$ 0,04 <sup>(a)</sup>	53,52
5.	F III 0,25%	0,89 $\pm$ 0,04 <sup>(a)</sup>	37,32
6.	F IV 0,25%	1,06 $\pm$ 0,05 <sup>(a)(b)</sup>	25,35
7.	F I 0,10%	1,50 $\pm$ 0,05 <sup>(b)</sup>	- 5,63
8.	F II 0,10%	1,46 $\pm$ 0,05 <sup>(b)</sup>	- 2,82
9.	F III 0,10%	1,54 $\pm$ 0,02 <sup>(b)</sup>	- 8,45
10.	F IV 0,10%	1,58 $\pm$ 0,04 <sup>(b)</sup>	- 11,27

Keterangan : dPas = desiPascal.second<sup>-1</sup> = Poise

(a) = Berbeda bermakna terhadap kontrol negatif (p<0,05)

(b) =Berbeda bermakna terhadap kontrol positif 0,10% (p<0,05)

Dari tabel V diatas maka dapat dibuat grafik untuk menunjukkan perbedaan antara tiap fraksi dalam hal uji aktivitas mukolitiknya.



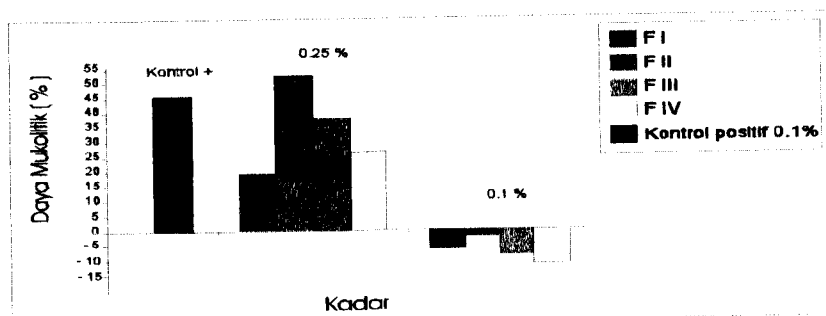
Gambar 16. Histogram hasil fraksinasi VLC dengan viskositas mukus.

Keterangan : F I = fraksi 1 dan 2

F II = fraksi 3, 4 dan 5

F III = fraksi 6 dan 7

F IV = fraksi 8 dan 9



Gambar 17. Histogram hasil fraksinasi VLC dengan daya mukolitik mukus.

Keterangan : FI = fraksi 1 dan 2

FII = fraksi 3, 4 dan 5

FIII = fraksi 6 dan 7

FIV = fraksi 8 dan 9

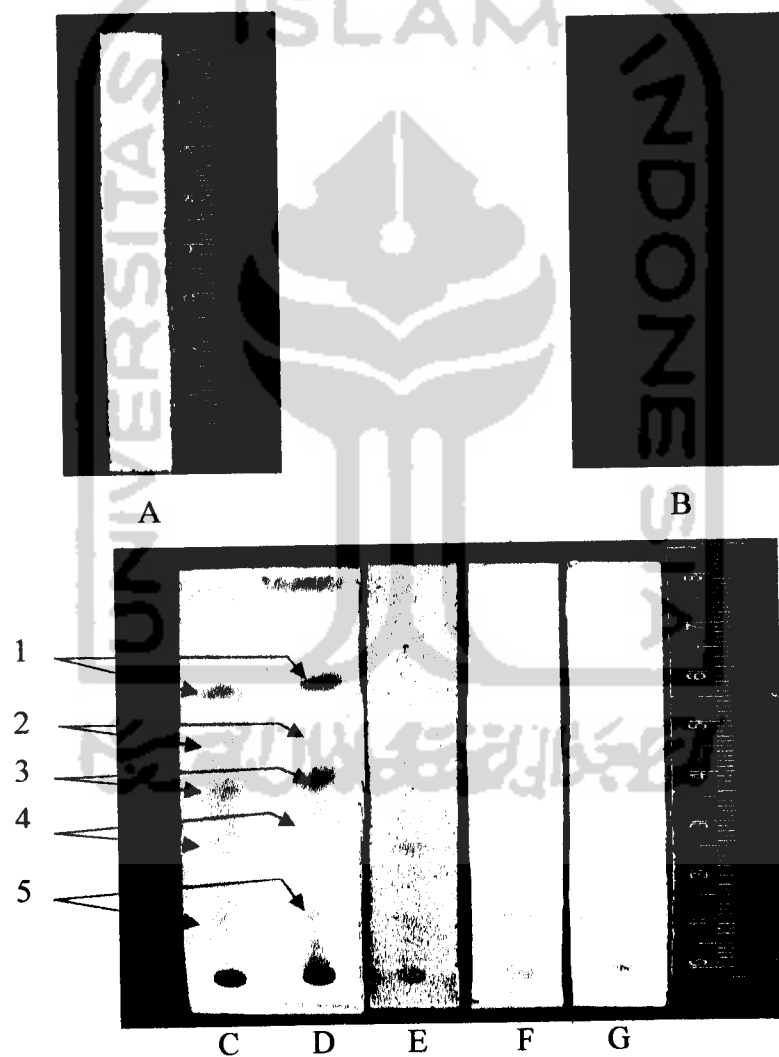
Kemudian bandingkan data viskositas mukus tersebut secara statistik dengan menggunakan uji statistik *Univariate Analysis of Variance* dengan taraf kepercayaan 95%. Dari hasil *Tests of Between Subject Effects* menunjukkan bahwa pada perbandingan antara kadar dan jenis tidak menunjukkan hasil yang signifikan, sehingga antara perbandingan kadar dan perbandingan jenis memiliki aktivitas mukolitik yang sama. Sehingga tidak perlu dilanjutkan dengan *Multiple Comparisons*. Namun karena penelitian ini mempunyai tujuan untuk meneliti senyawa yang terkandung dalam fraksi-fraksi ekstrak n-heksan daun *O. stamineus*, maka tetap dilakukan *Multiple Comparisons* dan hasil yang didapatkan menunjukkan bahwa hasil fraksinasi VLC F I dan F IV pada konsentrasi 0,25% mempunyai perbedaan yang bermakna ( $p < 0,05$ ) terhadap kontrol negatif ( $p = 0,000$ ) dan kontrol positif 0,10% ( $p = 0,000$ ). Tetapi ada juga fraksi yang menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) jika dibandingkan dengan kontrol positif 0,10% ( $p = 1,000$ ) yaitu hasil fraksinasi F I, F II, F III dan F IV pada konsentrasi 0,10%. Ada pula yang menunjukkan hasil yang tidak berbeda signifikan ( $p > 0,05$ ) terhadap kontrol negatif ( $p = 0,000$ ) yaitu hasil fraksinasi F II dan F III pada konsentrasi 0,25%.

Dari hasil fraksinasi tersebut yang menunjukkan harga viskositas terkecil dalam mengencerkan mukus adalah F II, hal ini dapat dilihat dari harga efek mukolitik F II yang paling besar dari pada fraksi yang lain. Sehingga untuk selanjutnya dilakukan deteksi kandungan kimia dalam F II tersebut untuk mengetahui golongan senyawa apa yang terkandung di dalamnya yang dapat mengencerkan mukus.

### B. Deteksi Golongan Kimia Fraksi Aktif

Untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung dalam fraksi aktif (FII) dilakukan analisis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis dengan beberapa pereaksi penampak bercak.

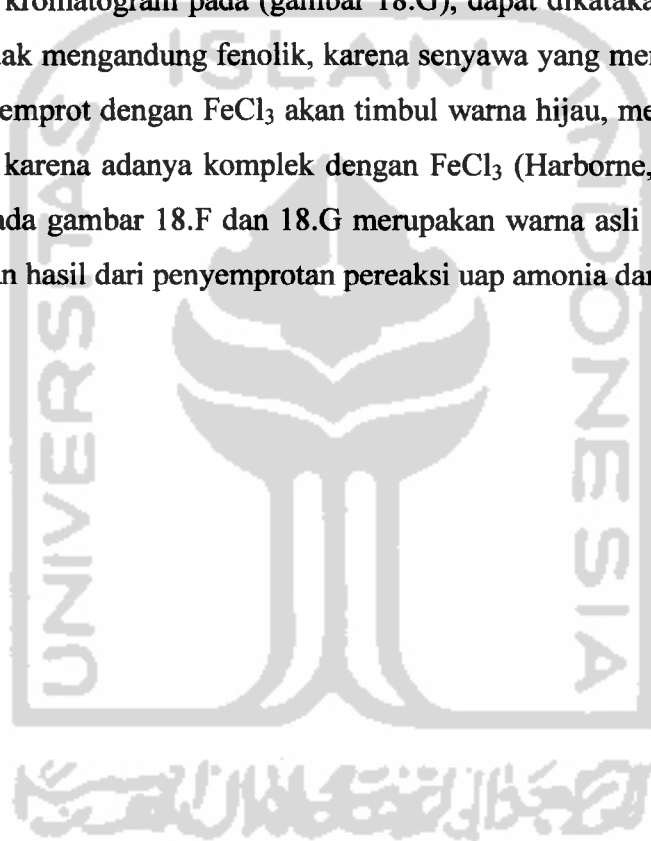
Sistem KLT yang dipakai menggunakan fase diam silika gel GF<sub>254</sub>, fase gerak n-Heksan : Etil asetat (6:1) dengan jarak elusi 8 cm. Deteksi menggunakan UV<sub>254</sub> nm, UV<sub>366</sub> nm dan beberapa pereaksi penampak bercak yaitu pereaksi Dragendorff, uap ammonia, Serium(IV) Sulfat, FeCl<sub>3</sub> dan Anisaldehyd Asam-sulfat.



Gambar 18. Kromatogram FII dengan fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak n-heksan:etil asetat (6:1), dengan berbagai penampak bercak, A. Sinar UV<sub>254</sub> nm, B. Sinar UV<sub>366</sub> nm, C. Serium(IV)Sulfat, D. Anisaldehyd-Asam sulfat, E. Dragendorff, F. Uap ammonia, G. FeCl<sub>3</sub>.



untuk mendeteksi alkaloid, yang positif apabila terbentuk warna jingga. Dalam kromatogram tidak terdapat bercak berwarna jingga kecoklatan sehingga pada fraksi aktif tersebut tidak mengandung senyawa golongan alkaloid. Penggunaan uap amonia dimaksudkan untuk mendeteksi adanya senyawa golongan flavonoid jika terdapat bercak berwarna kekuningan. Dari hasil kromatogram, terlihat bahwa pada fraksi aktif tidak terdapat bercak berwarna kekuningan sehingga fraksi aktif tersebut tidak mengandung senyawa flavonoid. Selanjutnya penggunaan pereaksi  $\text{FeCl}_3$  dimaksudkan untuk mendeteksi ada tidaknya senyawa fenolik dalam fraksi aktif. Dari hasil kromatogram pada (gambar 18.G), dapat dikatakan bahwa fraksi aktif tersebut tidak mengandung fenolik, karena senyawa yang mengandung fenol ketika sudah disemprot dengan  $\text{FeCl}_3$  akan timbul warna hijau, merah, ungu, biru atau hitam kuat karena adanya kompleks dengan  $\text{FeCl}_3$  (Harborne, 1987). Bercak yang terdapat pada gambar 18.F dan 18.G merupakan warna asli dari ekstraknya bukan merupakan hasil dari penyemprotan pereaksi uap amonia dan  $\text{FeCl}_3$ .



## **BAB V**

### **A. KESIMPULAN**

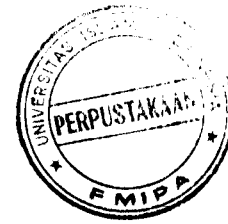
Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak n-heksan dan ekstrak etanol pada kadar 1,0%, 2,5% dan 5,0% mempunyai aktivitas mukolitik dengan menurunkan viskositas mukus. Ekstrak n-heksan 1,0% memiliki aktivitas yang sebanding dengan asetilsistein 5,0% sebagai mukolitik.
2. Hasil partisi n-heksan yang larut metanol (lapisan atas) memiliki aktivitas mukolitik yang lebih efektif dari pada yang tidak larut metanol (lapisan bawah).
3. Hasil fraksinasi kolom (VLC) yaitu fraksi II pada kadar 0,25% mempunyai aktivitas mukolitik yang lebih baik daripada asetilsistein 0,10%. Fraksi II mengandung senyawa golongan terpenoid.

### **B. SARAN**

Perlu dilakukan partisi lebih lanjut untuk mengetahui senyawa aktif dalam Fraksi II (fraksi 3, 4 dan 5 larut n-heksan : etil asetat (5 : 1)) hasil VLC yang memiliki aktivitas mukolitik.

## DAFTAR PUSTAKA



- Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 9,755.
- Anonim, 1989, *Materia Medika*, edisi V, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 85-91.
- Anonim, 1993, *Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik*, Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedica, Jakarta, 69-70.
- Anonim, 1995, *Farmakope Indonesia*, Edisi IV, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 7, 1002-1005, 1210.
- Anonim, 1999, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi IV cetak ulang, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, 516-517.
- Anonim, 2004, *Structur Of Acetylcysteine*, <http://www.medsafe.govt.nz/profs/Datasheet/p/Parvolexinj.htm> (diakses 27 September 2005).
- Awale S., Tezuka, Y., Banskota, A.H., Kadota, S., 2001, Five novel highly oxygenated diterpenes of *Orthosiphon stamineus* from Myanmar, *J. Nat. Prod.*, 64(5):592-6.
- Awale S, Tezuka, Y., Banskota, A.H., Kadota, S., 2003, Inhibition of NO production by highly-oxygenated diterpenes of *Orthosiphon stamineus* and their structure-activityrelationship, *Biol. Pharm. Bull.*, 26(4):468-73.
- Brain, J. D; Practor, D. F.; Reid, L. M., 1977, *Respiratory Defense Mechanism*, part II, Vol 5, Marcel Dekker Inc., New York and Basel, 293.
- Camroe, J.H., 1972, *Physiology of Respiratory*, Chicago, 328-331.
- Cherniak, 1998, *Terapi Mutakhir Penyakit Saluran Pernafasan*, Alih bahasa oleh: Widjaja Kusuma, Binarupa Aksara, Jakarta, 208-209.
- Dalimartha, S., 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, jilid 2 Cetakan I, Trubus Agriwidya, Jakarta, 126-127.
- Damayanti, M., 2003, Uji Aktivitas Anti Mikroba Minyak Atsiri *Orthosiphon thymiflorus* (Roth) Van der Sleesen Terhadap *Staphylococcus aureus.*, *Escherichia coli* Dan *Candida albicans* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya, *skripsi*, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Di Piro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G.K., Wells, B.G., Posey, L.M., 1998, *Pharmacotherapy A Pathophysiology Approach*, Third edition, book two, Appleton and Large, Stamford, 559.
- Dukes, H.H., 1995, of *The Physiology Domestic Animals*, Seventh edition, Comstock Publising Associated Advision of Cornelis University Press, New York, 340, 398.
- Ganong, W. F., 1995, *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran*, edisi 17, *Buku Kedokteran*, diterjemahkan oleh M. Djauhari Widjajakusumah, EGC, Jakarta, 493.

- Gan, S.; Setiabudy, R.; Sjamsudin, U.; Bustami, Z. S., 1987, *Farmakologi dan Terapi*, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, 466.
- Gritter, J. B.; Bobbie, J. M.; Scharwaring, A. E., 1991, *Pengantar Kromatografi*, edisi kedua, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 109-111.
- Harborne, J. B., 1987, *Metoda Fitokimia*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K., edisi II, sudiro I, Penerbit ITB, Bandung, 21-27.
- Hargono, J., Sjahrir, Pramono, S., 1993, *Pedoman Rasionalisasi Komposisi Obat Tradisional*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 23.
- Henry, R., 2004, Uji Aktivitas Mukolitik Ekstrak N-Heksan, Ekstrak Etanol dan Infusa Daun Johar (*Cassia Siamea*, Lamk), *skripsi*, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Hostettmann, 1995, *Cara Kromatografi Preparatif, Penggunaan Pada Isolasi Senyawa Alam*, diterjemahkan oleh Padmawinata, Penerbit ITB, Bandung, 33-34.
- Ikawati Z., Wahyono S., Maeyama K., 2001, Screening of several Indonesian medicinal plants for their inhibitory effect on histamine release from RBL-2H3 cells, *J. Ethnopharmacol.*, 75:249-256
- Martin, A. Swarbrick, J. Cammarata, A. 1993, *Farmasi fisik*, diterjemahkan oleh Yoshinta, edisi ketiga, UI Press, Jakarta, 1077-1087, 1096-1109.
- Muhlisah, F., 2001, *Taman Obat Keluarga*, Cet. 8, Penebar Swadaya, Jakarta, 37-39.
- Mulyani, S., Gunawan, D., 2001, *Ramuan Tradisional untuk Penyakit Asma*, Penebar Swadaya, Jakarta, 1-5.
- Mutschler, E., 1991, *Dinamika Obat*, Edisi V, diterjemahkan oleh Mathilda B. Widiyanto dan Setiadi Ranti, Penerbit ITB, Bandung, 514-520.
- Nguyen M.T., Awale S., Tezuka Y., Chien-Hsiung C., Kadota S, 2004, Staminane and isopimarane type diterpenes from *Orthosiphon stamineus* of Taiwan and their nitric oxide inhibitory activity, *J. Nat. Prod.*, 67(4):654-8.
- Rukmana, R., 2004, *Kumis Kucing*, Cet. ke-6, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, 9, 10, 15, 31 .
- Sastroamidjojo, H., 2001, *Kromatografi*, Penerbit Liberty, Yogyakarta, 26,35-36.
- Soeparman, Waspadji, S., 1993, *Ilmu Penyakit Dalam*, jilid 2, Balai Penerbit Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, 754-760.
- Stahl, E.J., 1985, *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Padmawinata, K. dan Soediro, I., Penerbit ITB, Bandung, 3.
- Sudarsono, 1996, *Tumbuhan Obat Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan*, Pusat Penelitian Obat tradisional UGM (PPOT-UGM), Yogyakarta, 90.
- Sukardjo, 1997, *Kimia Fisik*, ed. baru, Penerbit Bhineka, Jakarta, 99-100.
- Sundaru, H., 2000, *Asma : Apa dan Bagaimana Pengobatannya ?*, cetakan ke 2, 123-127, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Tezuka, Y., Stampoulis, P., Banskota, A.H., Awale, S., Tran, K.Q., Saiki, I., Kadota, S., 2000, Constituents of the Vietnamese medicinal plant *Orthosiphon stamineus*, *Chem. Pharm. Bull.*, 48(11):1711-9.

- Tjay, T.H., Rahardja, K., 2002, *Obat-obat Penting Khasiat, Penggunaan dan Efek-efek Sampingnya*, Edisi V, PT. Gramedia, Jakarta, 487-489.
- Turner, R.A., Harbborn, P., 1971, *Screening Methods in Pharmacology*, volume II, Academic Press, New York and London, 169.
- Voigt, R., 1984, *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Edisi V, diterjemahkan oleh Soendani Noerono dan Mathika B. Widiyanto, UGM Press, Jogjakarta, 83-87.
- Walsh, T., 1997, *Kapita Selekta Penyakit dan Terapi*, Alih bahasa, Caroline Wijaya, editor, Erlan, Jakarta; EGC, 79, 84, 86.
- Widmann, F.K., 1995, *Tinjauan Klinis Atas Hasil Pemeriksaan Laboratorium*, Edisi 9, penerjemah, R. Gandasoebrata, Siti Boebinakresno, J. Latu, Bag. Patologi Klinik FKUI/RSCM. Jakarta; EGC, 587.



## Lampiran 1

**Univariate Analysis of Variance**  
**Between-Subjects Factors**

		N
jenis ekstrak	Etanol1%	5
	Etanol2.5%	5
	Etanol5%	5
	Hexana1%	5
	Hexana2.5%	5
	Hexana5%	5
	k(-)MDT1%	5
	k(-)MDT2%	5
	k(-)MDT5%	5
	k(+)Asetil	5
	kontrol ngtf	5
dosis ekstrak	.00	20
	1.00	15
	2.50	10
	5.00	10

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: viskositas

jenis ekstrak	dosis ekstrak	Mean	Std. Deviation	N
Etanol1%	1.00	1.0400	.05477	5
	Total	1.0400	.05477	5
Etanol2.5%	2.50	1.2400	.04183	5
	Total	1.2400	.04183	5
Etanol5%	5.00	2.3600	.08944	5
	Total	2.3600	.08944	5
Hexana1%	1.00	.9520	.03271	5
	Total	.9520	.03271	5
Hexana2.5%	2.50	1.2300	.02739	5
	Total	1.2300	.02739	5
Hexana5%	5.00	1.8700	.12042	5
	Total	1.8700	.12042	5
k(-)MDT1%	.00	3.0500	.11180	5
	Total	3.0500	.11180	5
k(-)MDT2%	.00	3.0000	.00000	5
	Total	3.0000	.00000	5
k(-)MDT5%	.00	3.0500	.11180	5
	Total	3.0500	.11180	5
k(+)Asetil	1.00	.8440	.08264	5
	Total	.8440	.08264	5

## Lampiran 1 (lanjutan)

kontrol ngtf	.00	3.1000	.13693	5
Total		3.1000	.13693	5
Total	.00	3.0500	.10260	20
	1.00	.9453	.09999	15
	2.50	1.2350	.03375	10
	5.00	2.1150	.27694	10
Total		1.9760	.92023	55

## Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	45.410(a)	10	4.541	627.125	.000
Intercept	189.979	1	189.979	26236.876	.000
jenis * kadar	.000	0	.	.	.
jenis	.722	7	.103	14.242	.000
kadar	.000	0	.	.	.
Error	.319	44	.007		
Total	260.480	55			
Corrected Total	45.728	54			

a R Squared = .993 (Adjusted R Squared = .991)

## Post Hoc Tests

## jenis ekstrak

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: viskositas

Bonferroni

(I) jenis ekstrak	(J) jenis ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Etanol1%	Etanol2.5%	-.2000(*)	.05382	.031	-.3915	-.0085
	Etanol5%	-1.3200(*)	.05382	.000	-1.5115	-1.1285
	Hexana1%	.0880	.05382	1.000	-.1035	.2795
	Hexana2.5%	-.1900	.05382	.054	-.3815	.0015
	Hexana5%	-.8300(*)	.05382	.000	-1.0215	-.6385
k(-)MDT1%	k(-)MDT1%	-2.0100(*)	.05382	.000	-2.2015	-1.8185
	k(-)MDT2%	-1.9600(*)	.05382	.000	-2.1515	-1.7685
	k(-)MDT5%	-2.0100(*)	.05382	.000	-2.2015	-1.8185

## Lampiran 1 (lanjutan)

Hexana5%	Etanol1%	.8300(*)	.05382	.000	.6385	1.0215
	Etanol2.5%	.6300(*)	.05382	.000	.4385	.8215
	Etanol5%	-.4900(*)	.05382	.000	-.6815	-.2985
	Hexana1%	.9180(*)	.05382	.000	.7265	1.1095
	Hexana2.5%	.6400(*)	.05382	.000	.4485	.8315
	k(-)MDT1%	-1.1800(*)	.05382	.000	-1.3715	-.9885
	k(-)MDT2%	-1.1300(*)	.05382	.000	-1.3215	-.9385
	k(-)MDT5%	-1.1800(*)	.05382	.000	-1.3715	-.9885
	k(+)Asetil	1.0260(*)	.05382	.000	.8345	1.2175
	kontrol ngtf	-1.2300(*)	.05382	.000	-1.4215	-1.0385
k(-)MDT1%	Etanol1%	2.0100(*)	.05382	.000	1.8185	2.2015
	Etanol2.5%	1.8100(*)	.05382	.000	1.6185	2.0015
	Etanol5%	.6900(*)	.05382	.000	.4985	.8815
	Hexana1%	2.0980(*)	.05382	.000	1.9065	2.2895
	Hexana2.5%	1.8200(*)	.05382	.000	1.6285	2.0115
	Hexana5%	1.1800(*)	.05382	.000	.9885	1.3715
	k(-)MDT2%	.0500	.05382	1.000	-.1415	.2415
	k(-)MDT5%	.0000	.05382	1.000	-.1915	.1915
	k(+)Asetil	2.2060(*)	.05382	.000	2.0145	2.3975
	kontrol ngtf	-.0500	.05382	1.000	-.2415	.1415
k(-)MDT2%	Etanol1%	1.9600(*)	.05382	.000	1.7685	2.1515
	Etanol2.5%	1.7600(*)	.05382	.000	1.5685	1.9515
	Etanol5%	.6400(*)	.05382	.000	.4485	.8315
	Hexana1%	2.0480(*)	.05382	.000	1.8565	2.2395
	Hexana2.5%	1.7700(*)	.05382	.000	1.5785	1.9615
	Hexana5%	1.1300(*)	.05382	.000	.9385	1.3215
	k(-)MDT1%	-.0500	.05382	1.000	-.2415	.1415
	k(-)MDT5%	-.0500	.05382	1.000	-.2415	.1415
	k(+)Asetil	2.1560(*)	.05382	.000	1.9645	2.3475
	kontrol ngtf	-1.1000	.05382	1.000	-.2915	.0915
k(-)MDT5%	Etanol1%	2.0100(*)	.05382	.000	1.8185	2.2015
	Etanol2.5%	1.8100(*)	.05382	.000	1.6185	2.0015
	Etanol5%	.6900(*)	.05382	.000	.4985	.8815
	Hexana1%	2.0980(*)	.05382	.000	1.9065	2.2895
	Hexana2.5%	1.8200(*)	.05382	.000	1.6285	2.0115
	Hexana5%	1.1800(*)	.05382	.000	.9885	1.3715
	k(-)MDT1%	.0000	.05382	1.000	-.1915	.1915
	k(-)MDT2%	.0500	.05382	1.000	-.1415	.2415
	k(+)Asetil	2.2060(*)	.05382	.000	2.0145	2.3975
	kontrol ngtf	-.0500	.05382	1.000	-.2415	.1415
k(+)Asetil	Etanol1%	-.1960(*)	.05382	.039	-.3875	-.0045
	Etanol2.5%	-.3960(*)	.05382	.000	-.5875	-.2045



## Lampiran 1 (lanjutan)

	Etanol5%	-1.5160(*)	.05382	.000	-1.7075	-1.3245
	Hexana1%	-.1080	.05382	1.000	-.2995	.0835
	Hexana2.5%	-.3860(*)	.05382	.000	-.5775	-.1945
	Hexana5%	-1.0260(*)	.05382	.000	-1.2175	-.8345
	k(-)MDT1%	-2.2060(*)	.05382	.000	-2.3975	-2.0145
	k(-)MDT2%	-2.1560(*)	.05382	.000	-2.3475	-1.9645
	k(-)MDT5%	-2.2060(*)	.05382	.000	-2.3975	-2.0145
	kontrol ngtf	-2.2560(*)	.05382	.000	-2.4475	-2.0645
kontrol ngtf	Etanol1%	2.0600(*)	.05382	.000	1.8685	2.2515
	Etanol2.5%	1.8600(*)	.05382	.000	1.6685	2.0515
	Etanol5%	.7400(*)	.05382	.000	.5485	.9315
	Hexana1%	2.1480(*)	.05382	.000	1.9565	2.3395
	Hexana2.5%	1.8700(*)	.05382	.000	1.6785	2.0615
	Hexana5%	1.2300(*)	.05382	.000	1.0385	1.4215
	k(-)MDT1%	.0500	.05382	1.000	-.1415	.2415
	k(-)MDT2%	.1000	.05382	1.000	-.0915	.2915
	k(-)MDT5%	.0500	.05382	1.000	-.1415	.2415
	k(+)Asetil	2.2560(*)	.05382	.000	2.0645	2.4475

Based on observed means.

\* The mean difference is significant at the .05 level.

## Dosis ekstrak

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: viskositas  
Bonferroni

(I) dosis ekstrak	(J) dosis ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
.00	1.00	2.1047(*)	.02906	.000	2.0244	2.1850
	2.50	1.8150(*)	.03296	.000	1.7239	1.9061
	5.00	.9350(*)	.03296	.000	.8439	1.0261
1.00	.00	-2.1047(*)	.02906	.000	-2.1850	-2.0244
	2.50	-.2897(*)	.03474	.000	-.3856	-.1937
	5.00	-1.1697(*)	.03474	.000	-1.2656	-1.0737
2.50	.00	-1.8150(*)	.03296	.000	-1.9061	-1.7239
	1.00	.2897(*)	.03474	.000	.1937	.3856
	5.00	-.8800(*)	.03805	.000	-.9851	-.7749
5.00	.00	-.9350(*)	.03296	.000	-1.0261	-.8439
	1.00	1.1697(*)	.03474	.000	1.0737	1.2656
	2.50	.8800(*)	.03805	.000	.7749	.9851

Based on observed means.

- The mean difference is significant at the .05 level.

## Lampiran 2

**Univariate Analysis of Variance**  
**Between-Subjects Factors**

		N
jenis ekstrak	Hex.atas0.25%	5
	Hex.atas0.5%	5
	Hex.bawah0.25%	5
	Hex.bawah0.5%	5
	k(-)MDT1%	5
	k(-)MDT2%	5
	k(-)MDT5%	5
	k(+)Asetil	5
	kontrol ngtf	5
dosis ekstrak	.00	20
	.25	10
	.50	10
	1.00	5

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable: viskositas

jenis ekstrak	dosis ekstrak	Mean	Std. Deviation	N
Hex.atas0.25%	.25	.5820	.05404	5
	Total	.5820	.05404	5
Hex.atas0.5%	.50	.8000	.05000	5
	Total	.8000	.05000	5
Hex.bawah0.25%	.25	1.5600	.05477	5
	Total	1.5600	.05477	5
Hex.bawah0.5%	.50	2.1000	.14142	5
	Total	2.1000	.14142	5
k(-)MDT1%	.00	2.8600	.13416	5
	Total	2.8600	.13416	5
k(-)MDT2%	.00	2.9400	.08944	5
	Total	2.9400	.08944	5
k(-)MDT5%	.00	2.9400	.08944	5
	Total	2.9400	.08944	5
k(+)Asetil	1.00	.8780	.02280	5
	Total	.8780	.02280	5
kontrol ngtf	.00	2.8500	.14142	5
	Total	2.8500	.14142	5
Total	.00	2.8975	.11525	20
	.25	1.0710	.51800	10
	.50	1.4500	.69242	10
	1.00	.8780	.02280	5
	Total	1.9456	.96426	45

## Lampiran 2 (lanjutan)

Hex.bawah0.25%	Hex.atas0.25%	.9780(*)	.06071	.000	.7676	1.1884
	Hex.atas0.5%	.7600(*)	.06071	.000	.5496	.9704
	Hex.bawah0.5%	-.5400(*)	.06071	.000	-.7504	-.3296
	k(-)MDT1%	-1.3000(*)	.06071	.000	-1.5104	-1.0896
	k(-)MDT2%	-1.3800(*)	.06071	.000	-1.5904	-1.1696
	k(-)MDT5%	-1.3800(*)	.06071	.000	-1.5904	-1.1696
	k(+)Asetil	.6820(*)	.06071	.000	.4716	.8924
	kontrol ngtf	-1.2900(*)	.06071	.000	-1.5004	-1.0796
Hex.bawah0.5%	Hex.atas0.25%	1.5180(*)	.06071	.000	1.3076	1.7284
	Hex.atas0.5%	1.3000(*)	.06071	.000	1.0896	1.5104
	Hex.bawah0.25%	.5400(*)	.06071	.000	.3296	.7504
	k(-)MDT1%	-.7600(*)	.06071	.000	-.9704	-.5496
	k(-)MDT2%	-.8400(*)	.06071	.000	-1.0504	-.6296
	k(-)MDT5%	-.8400(*)	.06071	.000	-1.0504	-.6296
	k(+)Asetil	1.2220(*)	.06071	.000	1.0116	1.4324
	kontrol ngtf	-.7500(*)	.06071	.000	-.9604	-.5396
k(-)MDT1%	Hex.atas0.25%	2.2780(*)	.06071	.000	2.0676	2.4884
	Hex.atas0.5%	2.0600(*)	.06071	.000	1.8496	2.2704
	Hex.bawah0.25%	1.3000(*)	.06071	.000	1.0896	1.5104
	Hex.bawah0.5%	.7600(*)	.06071	.000	.5496	.9704
	k(-)MDT2%	-.0800	.06071	1.000	-.2904	.1304
	k(-)MDT5%	-.0800	.06071	1.000	-.2904	.1304
	k(+)Asetil	1.9820(*)	.06071	.000	1.7716	2.1924
	kontrol ngtf	.0100	.06071	1.000	-.2004	.2204
k(-)MDT2%	Hex.atas0.25%	2.3580(*)	.06071	.000	2.1476	2.5684
	Hex.atas0.5%	2.1400(*)	.06071	.000	1.9296	2.3504
	Hex.bawah0.25%	1.3800(*)	.06071	.000	1.1696	1.5904
	Hex.bawah0.5%	.8400(*)	.06071	.000	.6296	1.0504
	k(-)MDT1%	.0800	.06071	1.000	-.1304	.2904
	k(-)MDT5%	.0000	.06071	1.000	-.2104	.2104
	k(+)Asetil	2.0620(*)	.06071	.000	1.8516	2.2724
	kontrol ngtf	.0900	.06071	1.000	-.1204	.3004
k(-)MDT5%	Hex.atas0.25%	2.3580(*)	.06071	.000	2.1476	2.5684
	Hex.atas0.5%	2.1400(*)	.06071	.000	1.9296	2.3504
	Hex.bawah0.25%	1.3800(*)	.06071	.000	1.1696	1.5904
	Hex.bawah0.5%	.8400(*)	.06071	.000	.6296	1.0504
	k(-)MDT1%	.0800	.06071	1.000	-.1304	.2904
	k(-)MDT2%	.0000	.06071	1.000	-.2104	.2104
	k(+)Asetil	2.0620(*)	.06071	.000	1.8516	2.2724
	kontrol ngtf	.0900	.06071	1.000	-.1204	.3004
k(+)	Hex.atas0.25%	.2960(*)	.06071	.001	.0856	.5064
	Hex.atas0.5%	.0780	.06071	1.000	-.1324	.2884

## Lampiran 3 (lanjutan)

k(-)MDT2%	.00	1.4000	.07071	5
	Total	1.4000	.07071	5
k(-)MDT5%	.00	1.4000	.10000	5
	Total	1.4000	.10000	5
k(+)Asetil0.1%	.10	.7740	.11349	5
	Total	.7740	.11349	5
kontrol ngtf	.00	1.4200	.08367	5
	Total	1.4200	.08367	5
Total	.00	1.4050	.08256	20
	.10	1.3708	.32078	25
	.25	.9425	.21599	20
	Total	1.2495	.31180	65

## Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: viskositas

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	5.722(a)	12	.477	49.641	.000
Intercept	99.806	1	99.806	10389.772	.000
jenis	2.986	10	.299	31.084	.000
dosis	.000	0	.	.	.
jenis * dosis	.000	0	.	.	.
Error	.500	52	.010		
Total	107.709	65			
Corrected Total	6.222	64			

a R Squared = .920 (Adjusted R Squared = .901)

## Post Hoc Tests

Jenis ekstrak

## Multiple Comparisons

Dependent Variable: viskositas

Bonferroni

(I) jenis ekstrak	(J) jenis ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
fraksi(1)0.1%	fraksi(1)0.25%	.3400(*)	.06199	.000	.1148	.5652
	fraksi(2)0.1%	.0400	.06199	1.000	-.1852	.2652
	fraksi(2)0.25%	.8400(*)	.06199	.000	.6148	1.0652
	fraksi(3)0.1%	-.0400	.06199	1.000	-.2652	.1852

Lampiran 3  
(lanjutan)

	fraksi(3)0.25%	.6100(*)	.06199	.000	.3848	.8352
	fraksi(4)0.1%	-.0800	.06199	1.000	-.3052	.1452
	fraksi(4)0.25%	.4400(*)	.06199	.000	.2148	.6652
	k(-)MDT1%	.1000	.06199	1.000	-.1252	.3252
	k(-)MDT2%	.1000	.06199	1.000	-.1252	.3252
	k(-)MDT5%	.1000	.06199	1.000	-.1252	.3252
	k(+)Asetil0.1%	.7260(*)	.06199	.000	.5008	.9512
	kontrol ngtf	.0800	.06199	1.000	-.1452	.3052
fraksi(1)0.25%	fraksi(1)0.1%	-.3400(*)	.06199	.000	-.5652	-.1148
	fraksi(2)0.1%	-.3000(*)	.06199	.001	-.5252	-.0748
	fraksi(2)0.25%	.5000(*)	.06199	.000	.2748	.7252
	fraksi(3)0.1%	-.3800(*)	.06199	.000	-.6052	-.1548
	fraksi(3)0.25%	.2700(*)	.06199	.005	.0448	.4952
	fraksi(4)0.1%	-.4200(*)	.06199	.000	-.6452	-.1948
	fraksi(4)0.25%	.1000	.06199	1.000	-.1252	.3252
	k(-)MDT1%	-.2400(*)	.06199	.024	-.4652	-.0148
	k(-)MDT2%	-.2400(*)	.06199	.024	-.4652	-.0148
	k(-)MDT5%	-.2400(*)	.06199	.024	-.4652	-.0148
	k(+)Asetil0.1%	.3860(*)	.06199	.000	.1608	.6112
	kontrol ngtf	-.2600(*)	.06199	.008	-.4852	-.0348
fraksi(2)0.1%	fraksi(1)0.1%	-.0400	.06199	1.000	-.2652	.1852
	fraksi(1)0.25%	.3000(*)	.06199	.001	.0748	.5252
	fraksi(2)0.25%	.8000(*)	.06199	.000	.5748	1.0252
	fraksi(3)0.1%	-.0800	.06199	1.000	-.3052	.1452
	fraksi(3)0.25%	.5700(*)	.06199	.000	.3448	.7952
	fraksi(4)0.1%	-.1200	.06199	1.000	-.3452	.1052
	fraksi(4)0.25%	.4000(*)	.06199	.000	.1748	.6252
	k(-)MDT1%	.0600	.06199	1.000	-.1652	.2852
	k(-)MDT2%	.0600	.06199	1.000	-.1652	.2852
	k(-)MDT5%	.0600	.06199	1.000	-.1652	.2852
	k(+)Asetil0.1%	.6860(*)	.06199	.000	.4608	.9112
	kontrol ngtf	.0400	.06199	1.000	-.1852	.2652
fraksi(2)0.25%	fraksi(1)0.1%	-.8400(*)	.06199	.000	-1.0652	-.6148
	fraksi(1)0.25%	-.5000(*)	.06199	.000	-.7252	-.2748
	fraksi(2)0.1%	-.8000(*)	.06199	.000	-1.0252	-.5748
	fraksi(3)0.1%	-.8800(*)	.06199	.000	-1.1052	-.6548
	fraksi(3)0.25%	-.2300(*)	.06199	.039	-.4552	-.0048
	fraksi(4)0.1%	-.9200(*)	.06199	.000	-1.1452	-.6948
	fraksi(4)0.25%	-.4000(*)	.06199	.000	-.6252	-.1748
	k(-)MDT1%	-.7400(*)	.06199	.000	-.9652	-.5148
	k(-)MDT2%	-.7400(*)	.06199	.000	-.9652	-.5148
	k(-)MDT5%	-.7400(*)	.06199	.000	-.9652	-.5148

fraksi(3)0.1%	k(+)Asetil0.1%	-.1140	.06199	1.000	-.3392	.1112
	kontrol ngtf	-.7600(*)	.06199	.000	-.9852	-.5348
	fraksi(1)0.1%	.0400	.06199	1.000	-.1852	.2652
	fraksi(1)0.25%	.3800(*)	.06199	.000	.1548	.6052
	fraksi(2)0.1%	.0800	.06199	1.000	-.1452	.3052
	fraksi(2)0.25%	.8800(*)	.06199	.000	.6548	1.1052
	fraksi(3)0.25%	.6500(*)	.06199	.000	.4248	.8752
	fraksi(4)0.1%	-.0400	.06199	1.000	-.2652	.1852
	fraksi(4)0.25%	.4800(*)	.06199	.000	.2548	.7052
	k(-)MDT1%	.1400	.06199	1.000	-.0852	.3652
	k(-)MDT2%	.1400	.06199	1.000	-.0852	.3652
	k(-)MDT5%	.1400	.06199	1.000	-.0852	.3652
	fraksi(3)0.25%	k(+)Asetil0.1%	.7660(*)	.06199	.000	.5408
kontrol ngtf		.1200	.06199	1.000	-.1052	.3452
fraksi(1)0.1%		-.6100(*)	.06199	.000	-.8352	-.3848
fraksi(1)0.25%		-.2700(*)	.06199	.005	-.4952	-.0448
fraksi(2)0.1%		-.5700(*)	.06199	.000	-.7952	-.3448
fraksi(2)0.25%		.2300(*)	.06199	.039	.0048	.4552
fraksi(3)0.1%		-.6500(*)	.06199	.000	-.8752	-.4248
fraksi(4)0.1%		-.6900(*)	.06199	.000	-.9152	-.4648
fraksi(4)0.25%		-.1700	.06199	.651	-.3952	.0552
k(-)MDT1%		-.5100(*)	.06199	.000	-.7352	-.2848
k(-)MDT2%		-.5100(*)	.06199	.000	-.7352	-.2848
k(-)MDT5%		-.5100(*)	.06199	.000	-.7352	-.2848
fraksi(4)0.1%		k(+)Asetil0.1%	.1160	.06199	1.000	-.1092
	kontrol ngtf	-.5300(*)	.06199	.000	-.7552	-.3048
	fraksi(1)0.1%	.0800	.06199	1.000	-.1452	.3052
	fraksi(1)0.25%	.4200(*)	.06199	.000	.1948	.6452
	fraksi(2)0.1%	.1200	.06199	1.000	-.1052	.3452
	fraksi(2)0.25%	.9200(*)	.06199	.000	.6948	1.1452
	fraksi(3)0.1%	.0400	.06199	1.000	-.1852	.2652
	fraksi(3)0.25%	.6900(*)	.06199	.000	.4648	.9152
	fraksi(4)0.25%	.5200(*)	.06199	.000	.2948	.7452
	k(-)MDT1%	.1800	.06199	.421	-.0452	.4052
	k(-)MDT2%	.1800	.06199	.421	-.0452	.4052
	k(-)MDT5%	.1800	.06199	.421	-.0452	.4052
	fraksi(4)0.25%	k(+)Asetil0.1%	.8060(*)	.06199	.000	.5808
kontrol ngtf		.1600	.06199	.991	-.0652	.3852
fraksi(1)0.1%		-.4400(*)	.06199	.000	-.6652	-.2148
fraksi(1)0.25%		-.1000	.06199	1.000	-.3252	.1252
fraksi(2)0.1%		-.4000(*)	.06199	.000	-.6252	-.1748
fraksi(2)0.25%		.4000(*)	.06199	.000	.1748	.6252
fraksi(3)0.1%		-.4800(*)	.06199	.000	-.7052	-.2548
fraksi(3)0.25%		.1700	.06199	.651	-.0552	.3952

	fraksi(4)0.1%	-.5200(*)	.06199	.000	-.7452	-.2948
	k(-)MDT1%	-.3400(*)	.06199	.000	-.5652	-.1148
	k(-)MDT2%	-.3400(*)	.06199	.000	-.5652	-.1148
	k(-)MDT5%	-.3400(*)	.06199	.000	-.5652	-.1148
	k(+)Asetil0.1%	.2860(*)	.06199	.002	.0608	.5112
	kontrol ngtf	-.3600(*)	.06199	.000	-.5852	-.1348
k(-)MDT1%	fraksi(1)0.1%	-.1000	.06199	1.000	-.3252	.1252
	fraksi(1)0.25%	.2400(*)	.06199	.024	.0148	.4652
	fraksi(2)0.1%	-.0600	.06199	1.000	-.2852	.1652
	fraksi(2)0.25%	.7400(*)	.06199	.000	.5148	.9652
	fraksi(3)0.1%	-.1400	.06199	1.000	-.3652	.0852
	fraksi(3)0.25%	.5100(*)	.06199	.000	.2848	.7352
	fraksi(4)0.1%	-.1800	.06199	.421	-.4052	.0452
	fraksi(4)0.25%	.3400(*)	.06199	.000	.1148	.5652
	k(-)MDT2%	.0000	.06199	1.000	-.2252	.2252
	k(-)MDT5%	.0000	.06199	1.000	-.2252	.2252
	k(+)Asetil0.1%	.6260(*)	.06199	.000	.4008	.8512
	kontrol ngtf	-.0200	.06199	1.000	-.2452	.2052
k(-)MDT2%	fraksi(1)0.1%	-.1000	.06199	1.000	-.3252	.1252
	fraksi(1)0.25%	.2400(*)	.06199	.024	.0148	.4652
	fraksi(2)0.1%	-.0600	.06199	1.000	-.2852	.1652
	fraksi(2)0.25%	.7400(*)	.06199	.000	.5148	.9652
	fraksi(3)0.1%	-.1400	.06199	1.000	-.3652	.0852
	fraksi(3)0.25%	.5100(*)	.06199	.000	.2848	.7352
	fraksi(4)0.1%	-.1800	.06199	.421	-.4052	.0452
	fraksi(4)0.25%	.3400(*)	.06199	.000	.1148	.5652
	k(-)MDT1%	.0000	.06199	1.000	-.2252	.2252
	k(-)MDT5%	.0000	.06199	1.000	-.2252	.2252
	k(+)Asetil0.1%	.6260(*)	.06199	.000	.4008	.8512
	kontrol ngtf	-.0200	.06199	1.000	-.2452	.2052
k(-)MDT5%	fraksi(1)0.1%	-.1000	.06199	1.000	-.3252	.1252
	fraksi(1)0.25%	.2400(*)	.06199	.024	.0148	.4652
	fraksi(2)0.1%	-.0600	.06199	1.000	-.2852	.1652
	fraksi(2)0.25%	.7400(*)	.06199	.000	.5148	.9652
	fraksi(3)0.1%	-.1400	.06199	1.000	-.3652	.0852
	fraksi(3)0.25%	.5100(*)	.06199	.000	.2848	.7352
	fraksi(4)0.1%	-.1800	.06199	.421	-.4052	.0452
	fraksi(4)0.25%	.3400(*)	.06199	.000	.1148	.5652
	k(-)MDT1%	.0000	.06199	1.000	-.2252	.2252
	k(-)MDT2%	.0000	.06199	1.000	-.2252	.2252
	k(+)Asetil0.1%	.6260(*)	.06199	.000	.4008	.8512
	kontrol ngtf	-.0200	.06199	1.000	-.2452	.2052
k(+)-Asetil0.1%	fraksi(1)0.1%	-.7260(*)	.06199	.000	-.9512	-.5008
	fraksi(1)0.25%	-.3860(*)	.06199	.000	-.6112	-.1608
	fraksi(2)0.1%	-.6860(*)	.06199	.000	-.9112	-.4608

kontrol ngtf	fraksi(2)0.25%	.1140	.06199	1.000	-.1112	.3392
	fraksi(3)0.1%	-.7660(*)	.06199	.000	-.9912	-.5408
	fraksi(3)0.25%	-.1160	.06199	1.000	-.3412	.1092
	fraksi(4)0.1%	-.8060(*)	.06199	.000	-1.0312	-.5808
	fraksi(4)0.25%	-.2860(*)	.06199	.002	-.5112	-.0608
	k(-)MDT1%	-.6260(*)	.06199	.000	-.8512	-.4008
	k(-)MDT2%	-.6260(*)	.06199	.000	-.8512	-.4008
	k(-)MDT5%	-.6260(*)	.06199	.000	-.8512	-.4008
	kontrol ngtf	-.6460(*)	.06199	.000	-.8712	-.4208
	fraksi(1)0.1%	-.0800	.06199	1.000	-.3052	.1452
	fraksi(1)0.25%	.2600(*)	.06199	.008	.0348	.4852
	fraksi(2)0.1%	-.0400	.06199	1.000	-.2652	.1852
	fraksi(2)0.25%	.7600(*)	.06199	.000	.5348	.9852
	fraksi(3)0.1%	-.1200	.06199	1.000	-.3452	.1052
	fraksi(3)0.25%	.5300(*)	.06199	.000	.3048	.7552
	fraksi(4)0.1%	-.1600	.06199	.991	-.3852	.0652
	fraksi(4)0.25%	.3600(*)	.06199	.000	.1348	.5852
	k(-)MDT1%	.0200	.06199	1.000	-.2052	.2452
	k(-)MDT2%	.0200	.06199	1.000	-.2052	.2452
	k(-)MDT5%	.0200	.06199	1.000	-.2052	.2452
	k(+)Asetil0.1%	.6460(*)	.06199	.000	.4208	.8712

Based on observed means.

\* The mean difference is significant at the .05 level.

### Dosis ekstrak

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: viskositas  
Bonferroni

(I) dosis ekstrak	(J) dosis ekstrak	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
.00	.10	.0342	.02940	.750	-.0385	.1069
	.25	.4625(*)	.03099	.000	.3858	.5392
.10	.00	-.0342	.02940	.750	-.1069	.0385
	.25	.4283(*)	.02940	.000	.3556	.5010
.25	.00	-.4625(*)	.03099	.000	-.5392	-.3858
	.10	-.4283(*)	.02940	.000	-.5010	-.3556

Based on observed means.

\* The mean difference is significant at the .05 level.