

LAMPIRAN**Lampiran 1 Determinasi Tanaman**

 <p>LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA (INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES) PUSAT PENELITIAN BIOLOGI (RESEARCH CENTER FOR BIOLOGY)</p> <p>Cibinong Science Center, Jl. Raya Jakarta - Bogor KM. 46 Cibinong 16911 Telp. (+62 21) 87907636 - 87907604, Fax. 87907612 Website : www.biologi.lipi.go.id</p>	 <p>Cibinong, 13 April 2021</p>								
<p>No surat : 1.B-494/IV/DLO1/4/2021 Lampiran : 1 Perihal : <u>Bantuan identifikasi/determinasi Tumbuhan</u></p> <p>Kepada Yth. Bpk./Ibu/Sdrj. Ari Suko Pratiwi NIM : 201703111024 Universitas Esa Unggul Jl. Arjuna Utara No. 9 Duri Kepa, Kebun Jeruk Jakarta, 11519</p> <p>Dengan hormat,</p> <p>Bersama ini kami sampaikan hasil identifikasi/determinasi tumbuhan yang Secara Strimkan ke "Herbarium Bogoriense", Bidang Botani Pusat Penelitian Biologi-LIPI Bogor, adalah sebagai berikut :</p> <table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <thead> <tr> <th>No.</th> <th>No. Kol.</th> <th>Jenis</th> <th>Suku</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>1.</td> <td>Pegagan</td> <td>Centella asiatica (L.) Urb.</td> <td>Apiaceae</td> </tr> </tbody> </table> <p>Demikian, semoga berguna bagi Saudara.</p> <p>Koordinator Program Penelitian Botani <u>M. Hizkia</u> Dr. Hizkia Rusliami, S.P., M.Sc. NIP. 197106052000032005</p> <p style="text-align: right;">  LIPI Dr. M. Ramli, S.Si, M.Sc NIP.195811021994032003 </p> <p style="text-align: center;">Diketahui Mahasiswa 2021/2022 Saka Pratiwi dkk/Walyn-Ridha</p>		No.	No. Kol.	Jenis	Suku	1.	Pegagan	Centella asiatica (L.) Urb.	Apiaceae
No.	No. Kol.	Jenis	Suku						
1.	Pegagan	Centella asiatica (L.) Urb.	Apiaceae						

Lampiran 2 Perhitungan Hasil Rendemen Ekstrak Pegagan

$$5 \text{ menit (\% Rendemen)} : \frac{\text{Jumlah Berat Ekstrak (g)}}{\text{Jumlah Berat Serbuk Simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$: \frac{1.2175(g)}{4.0006(g)} \times 100\%$$

: 30.43 %

$$10 \text{ menit (\% Rendemen)} : \frac{\text{Jumlah Berat Ekstrak (g)}}{\text{Jumlah Berat Serbuk Simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$: \frac{1.0909(g)}{4.0004(g)} \times 100\%$$

: 27.27 %

$$15 \text{ menit (\% Rendemen)} : \frac{\text{Jumlah Berat Ekstrak (g)}}{\text{Jumlah Berat Serbuk Simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$: \frac{1.1252(g)}{4.0004(g)} \times 100\%$$

: 28.13 %

$$20 \text{ menit (\% Rendemen)} : \frac{\text{Jumlah Berat Ekstrak (g)}}{\text{Jumlah Berat Serbuk Simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$: \frac{1.1387(g)}{4.0006(g)} \times 100\%$$

: 28.46 %

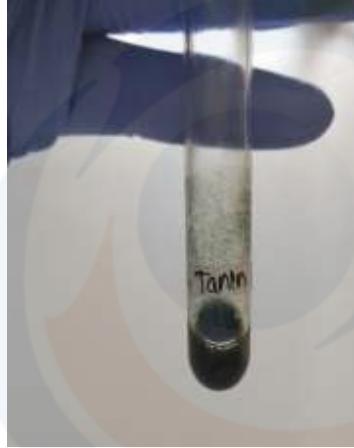
$$25 \text{ menit (\% Rendemen)} : \frac{\text{Jumlah Berat Ekstrak (g)}}{\text{Jumlah Berat Serbuk Simplisia (g)}} \times 100\%$$

$$: \frac{1.0471(g)}{4.0004(g)} \times 100\%$$

: 26.17 %

Lampiran 3 Hasil Uji Fitokimia

No.	Gambar	Keterangan
1.		Uji alkaloid mayer dengan hasil negatif
2.		Uji alkaloid wagner dengan hasil positif
3.		Uji steroid dengan hasil positif

4.		Uji flavonoid dengan hasil positif
5.		Uji tannin dengan hasil positif
6.		Uji saponin dengan hasil positif

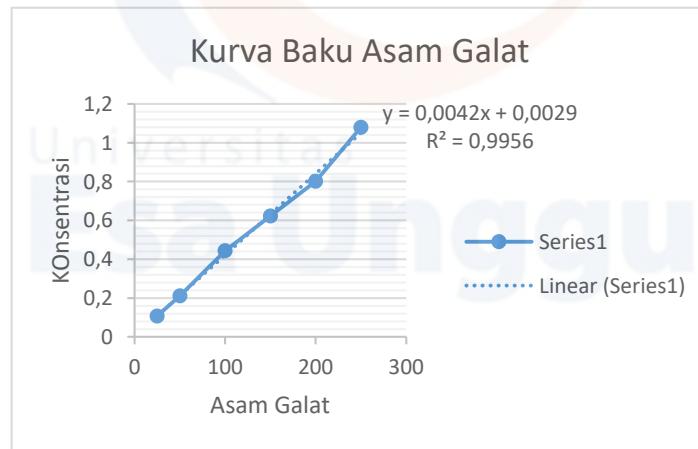
Lampiran 4 Lampiran Data Kurva Baku Fenol

- Menggunakan serbuk Asam galat sebanyak 5mg dilarutkan menggunakan metanol
- Menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan pengenceran 1:4 (Folin-Ciocalteu: Aquadest) 1mL Folin dan 4mL aquadest
- Menggunakan serbuk natrium karbonat sebanyak 10mg

Hasil absorbansi menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 760nm

X	Y	BLANKO	Y-BLANKO
25	0.1075	0.0548	0.0526
50	0.2113	0.0548	0.1565
100	0.4435	0.0548	0.3887
150	0.6224	0.0548	0.5676
200	0.8013	0.0548	0.7465
250	1.0799	0.0548	1.0251

Hasil kurva baku asam galat dibuat grafik



Lampiran 5 Sampel Uji Total Fenol

- Menggunakan ekstrak pegagan sebanyak 10mg dilarutkan menggunakan metanol
- Menggunakan reagen Folin-Ciocalteu dengan pengenceran 1:4 (Folin-Ciocalteu: Aquadest) 1mL Folin dan 4mL aquadest
- Menggunakan serbuk natrium karbonat sebanyak 10mg dilarutkan menggunakan metanol

No	Sampel	Pengulangan			X Sampel	Rata		A Sampel	KTFe (MgAE)	Rata-rata (a sampel)	rata-rata KTFe (MgAE)	SD	CV
		I	II	III		Y sampel	Y Blanko						
1	5 menit (1)	0.2175	0.3548	0.2528	100	0.2750	0.0958	0.1792	55.0317	0.1746	53.9206	1.571348	900.1422
2	5 menit(2)	0.2731	0.25	0.274		0.2657	0.0958	0.1699	52.8095				
3	10 menit (1)	0.4362	0.4649	0.7697		0.5569	0.0958	0.4611	122.1508				
4	10 menit (2)	0.4469	0.4344	0.8033		0.5615	0.0958	0.4657	123.2460	0.4634	122.6984	0.774453	167.1121
5	15 menit (1)	0.2201	0.3628	0.2689		0.2839	0.0958	0.1881	57.1508				
6	15 menit (2)	0.2641	0.3399	0.3787		0.3276	0.0958	0.2318	67.5397	0.2099	62.3452	7.346051	3498.953
7	20 menit (1)	0.4169	0.3776	0.5107		0.4351	0.0958	0.3393	93.1349				
8	20 menit (2)	0.3221	0.6354	0.3698		0.4424	0.0958	0.3466	94.8889	0.3430	94.0119	1.240243	361.6396
9	25 menit(1)	0.3623	0.4192	0.443		0.4082	0.0958	0.3124	86.7302				
10	25 menit (2)	0.3267	0.437	0.5165		0.4267	0.0958	0.3309	91.1508	0.3217	88.9405	3.125861	971.8207
11	maserasi	0.2935	0.7733	0.806		0.6243	0.0958	0.5285	138.1825	0.5285	138.1825	11.75511	2224.239
12	Blanko	0.0976	0.0958	0.094		0.0958	0.0958	0.0000					

Lampiran 6 Optimasi Enzim α -Glukosidase

Bahan yang digunakan untuk optimasi enzim α -glukosidase

- Larutan dapar fosfat dengan pH 6.8
- Larutan PNPG
- Larutan enzim α -glukosidase
- Larutan natrium karbonat 267mM

Perhitungan variasi konsentrasi enzim (0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01 Unit/mL)

Dibuat terlebih dahulu larutan induk

$$9.19 \text{ mg} \times 10.88 \text{ Unit/mg} = 99.98 \text{ unit}$$

$$99.98 \text{ unit} / 25 \text{ mL} = 3.99 \text{ U/mL}$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 3.99 = 2 \times 0.16$$

$$V_1 = 0.08 \text{ mL}$$

$$= 80 \mu\text{L}$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0.04 = 1 \times 0.02$$

$$V_1 = 0.02$$

$$= 20 \mu\text{L}$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0.16 = 1 \times 0.08$$

$$V_1 = 0.5 \text{ mL}$$

$$= 500 \mu\text{L}$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0.02 = 1 \times 0.01$$

$$V_1 = 0.5 \mu\text{L}$$

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

$$V_1 \times 0.08 = 1 \times 0.04$$

$$V_1 = 0.5 \text{ mL}$$

$$= 500 \mu\text{L}$$

Hasil data optimasi enzim menggunakan spektrofotometri UV-Vis λ 400nm

No	Konsentrasi (Unit/mL)	Pengulangan			A sampel	K sampel	A1	A0	SD
		S (1)	S(2)	S (3)					
1	0,16	1.2187	1.3053	1.3243	1.2828	0.1704	1.112	0.983	0.056
2	0,08	0.6488	0.5981	0.6623	0.6364	0.0862	0.550	0.983	0.034
3	0,04	0.3529	0.3502	0.3368	0.3466	0.0754	0.271	0.983	0.009
4	0,02	0.1974	0.1927	0.1925	0.1942	0.0699	0.124	0.983	0.003
5	0,01	0.1151	0.1155	0.1261	0.1189	0.0656	0.053	0.983	0.006

Lampiran 7 Optimasi Substrat

Bahan yang digunakan untuk optimasi substrat:

- Larutan dapar fosfat dengan pH 6.8
- Larutan PNPG dengan berbagai konsentrasi
- Larutan enzim α -glukosidase 0.08 Unit/mL
- Larutan natrium karbonat 267mM

Perhitungan variasi konsentrasi substrat (6, 5, 4, 3, 2, 1, 0.5, dan 0.25 mL)

Dibuat terlebih dahulu larutan induk

60,25 mg serbuk PNPG dalam 10,0 mL aqua bebas karbodioksida (20mM)

$$\begin{array}{ll} V_1 \times M_1 & = V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 20 & = 2 \times 6 \\ V_1 & = 0.6 \text{ mL} \\ & = 600 \mu\text{L} \end{array}$$

$$\begin{array}{ll} V_1 \times M_1 & = V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 4 & = 1 \times 2 \\ V_1 & = 0.5 \text{ mL} \\ & = 500 \mu\text{L} \end{array}$$

$$\begin{array}{ll} V_1 \times M_1 & = V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 20 & = 2 \times 5 \\ V_1 & = 0.5 \text{ mL} \\ & = 500 \mu\text{L} \end{array}$$

$$\begin{array}{ll} V_1 \times M_1 & = V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 6 & = 2 \times 1 \\ V_1 & = 0.3 \text{ mL} \\ & = 300 \mu\text{L} \end{array}$$

$$\begin{array}{ll} V_1 \times M_1 & = V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 5 & = 1 \times 4 \\ V_1 & = 0.8 \text{ mL} \\ & = 800 \mu\text{L} \end{array}$$

$$\begin{array}{ll} V_1 \times M_1 & = V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 2 & = 1 \times 0.5 \\ V_1 & = 0.25 \text{ mL} \\ & = 250 \mu\text{L} \end{array}$$

$$\begin{array}{ll} V_1 \times M_1 & = V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 6 & = 1 \times 3 \\ V_1 & = 0.5 \text{ mL} \\ & = 500 \mu\text{L} \end{array}$$

$$\begin{array}{ll} V_1 \times M_1 & = V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 5 & = 1 \times 0.25 \\ V_1 & = 0.05 \text{ mL} \\ & = 50 \mu\text{L} \end{array}$$

Hasil data optimasi substrat menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 400nm

No	Konsentrasi (mM)	Pengulangan			A sampel	K sampel	A1	A0	% Inhibisi	SD
		S (1)	S(2)	S(3)						
1	6	0.6401	0.6397	0.6355	0.6384	0.0837	0.555	0.983	43.57	0.003
2	5	0.6483	0.7012	0.7726	0.7074	0.0878	0.620	0.983	36.98	0.062
3	4	0.6078	0.6169	0.6453	0.6233	0.1035	0.520	0.983	47.12	0.020
4	3	0.6365	0.6316	0.6596	0.6426	0.0799	0.563	0.983	42.77	0.015
5	2	0.5403	0.5556	0.5497	0.5485	0.0702	0.478	0.983	51.34	0.008
6	1	0.3693	0.3673	0.329	0.3552	0.0812	0.274	0.983	72.13	0.023
7	0.5	0.2583	0.2706	0.2772	0.2687	0.0594	0.209	0.983	78.71	0.010
8	0,25	0.1575	0.1587	0.1598	0.1587	0.0566	0.102	0.983	89.62	0.001

Lampiran 8 Data Optimasi Akarbosa

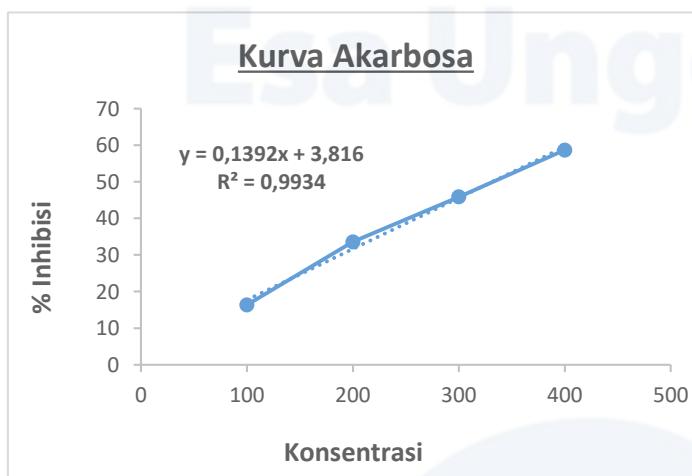
Bahan yang digunakan untuk optimasi akarbosa sebagai kontrol positif:

- Larutan akarbosa dengan berbagai konsentrasi
- Larutan dapar fosfat dengan pH 6.8
- Larutan PNPG 3mM
- Larutan enzim α -glukosidase 0.08 Unit/mL
- Larutan natrium karbonat 267mM

Hasil uji optimasi akarbosa menggunakan spektrofotometri UV-Vis dengan panjang gelombang 400nm

Kons ($\mu\text{g/mL}$)	I	II	III	A Sampel	Kontrol	A1	A0	% inhibisi	SD
400	0.3015	0.3124	0.3072	0.3070	0.0841	0.2229	0.5394	58.67	0.01
300	0.3773	0.3758	0.3649	0.3727	0.0807	0.2920	0.5394	45.87	0.01
200	0.4424	0.4390	0.4397	0.4404	0.0822	0.3582	0.5394	33.60	0.00
100	0.5083	0.5419	0.5491	0.5331	0.0819	0.4512	0.5394	16.35	0.02
Blanko	0.6123	0.6102	0.6416	0.6214	0.0820				

Hasil optimasi akarbosa dibuat grafik



Keterangan :

Nilai persaman : $y = 0,1392 x + 3,816$

$$Y = 50$$

$$Y = 0,1392 x + 3,816$$

$$50 = 0,1392 x + 3,816$$

$$X = (50 - 3,816)/0,1392$$

$$X = 331,78 \mu\text{g/mL}$$

Lampiran 9 Uji Aktivitas Penghambat α -Glukosida Terhadap Ekstrak Pegagan Dengan Varian Waktu dan Maserasi

Bahan yang digunakan untuk uji aktivitas penghambat α -glukosidase pada ekstrak pegagan dengan varian waktu

- Larutan esktrak pegagan
- Larutan dapar fosfat dengan pH 6.8
- Larutan PNPG 3mM
- Larutan enzim α -glukosidase 0.08 Unit/mL
- Larutan natrium karbonat 267mM

Hasil uji aktivitas penghambat α -glukosidase menggunakan *Spektrofotometri UV-Vis* dengan panjang gelombang 400nm

Hasil data uji daya presentase inhibisi pada ekstrak pegagan dengan konsentrasi 100 ppm

Sampel (menit)	Konsentrasi (ppm)	I	II	III	Abs sampel	K sampel	A1	A0	% Inhibisi	Rata-rata (%) ± SD
5 menit (1)	100	1.1488	1.0512	1.0535	1.0845	0.0824	1.002	1.141	12.17	10.47 ± 0.05
5 menit (2)		1.0086	1.0730	1.203	1.0973	0.0962	1.001	1.141	12.26	
5 menit (3)		1.1733	1.1786	1.1523	1.1681	0.1067	1.061	1.141	6.98	
10 menit (1)		1.1715	1.1618	1.0826	1.1386	0.0793	1.059	1.141	7.20	11.33 ± 0.04
10 menit (2)		1.1785	1.1764	0.9942	1.1164	0.1077	1.009	1.141	11.60	
10 menit (3)		1.0321	1.0946	1.0500	1.0589	0.0913	0.968	1.141	15.20	
15 menit (1)		1.0797	1.0457	1.0266	1.0507	0.1310	0.920	1.141	19.40	22.65 ± 0.02
15 menit (2)		1.0197	1.0013	0.8894	0.9701	0.1247	0.845	1.141	25.90	
15 menit(3)		0.9591	0.9979	1.0298	0.9956	0.1130	0.883	1.141	22.65	
20 menit (1)		1.1028	1.0865	0.9506	1.0466	0.1356	0.911	1.141	20.15	24.14 ± 0.03
20 menit (2)		1.0148	1.0018	0.974	0.9969	0.0964	0.900	1.141	21.08	
20 menit (3)		0.8795	0.8539	0.9119	0.8818	0.0966	0.785	1.141	31.19	
25 menit (1)		1.0202	1.0414	1.0730	1.0449	0.0694	0.975	1.141	14.49	17.20 ± 0.05
25 menit (2)		1.0443	1.0299	1.023	1.0324	0.1335	0.899	1.141	21.22	
25 menit(3)		1.2578	1.1043	1.0399	1.1340	0.1492	0.985	1.141	13.69	
Blanko		1.1869	1.2065	1.2155	1.2030	0.622	1.141	1.141	1.141	0.00

Uji aktivitas penghambat α -glukosidase dengan perhitungan IC50

No	Sampel	Ppm	S (1)	S (2)	S (3)	Rata	Kontrol	A1	A0	% Inhibisi	SD
1	5 menit	1000	0.8708	0.8712	0.8789	0.8736	0.2897	0.5839	0.8843	33.97	0.00
		800	0.7812	0.8239	0.8274	0.8108	0.2087	0.6021	0.8843	31.91	0.03
		600	0.8956	0.8874	0.8823	0.8884	0.2356	0.6528	0.8843	26.18	0.01
		400	0.8478	0.8448	0.9072	0.8666	0.1722	0.6944	0.8843	21.47	0.04
		200	0.8100	0.8268	0.8396	0.8255	0.0867	0.7388	0.8843	16.46	0.01
		100	0.8095	0.9323	0.9572	0.8997	0.0973	0.8024	0.8843	9.27	0.08
2	10 menit	1000	0.6305	0.6275	0.6963	0.6514	0.2589	0.3925	0.8843	55.61	0.04
		800	0.7913	0.7601	0.7600	0.7705	0.2376	0.5329	0.8843	39.74	0.02
		600	0.7101	0.7461	0.7997	0.7520	0.1794	0.5726	0.8843	35.25	0.05
		400	0.8539	0.8688	0.8543	0.8590	0.2032	0.6558	0.8843	25.84	0.01
		200	0.9762	0.9653	0.9759	0.9725	0.2111	0.7614	0.8843	13.90	0.01
		100	0.8540	0.8605	0.9151	0.8765	0.1057	0.7708	0.8843	12.83	0.03
3	15 menit	1000	0.7785	0.7867	0.8085	0.7912	0.2186	0.5726	0.8843	35.24	0.02
		800	0.6636	0.6928	0.7089	0.6884	0.0963	0.5921	0.8843	33.04	0.02
		600	0.7874	0.7827	0.7973	0.7891	0.1568	0.6323	0.8843	28.49	0.01
		400	0.8205	0.8232	0.8368	0.8268	0.1583	0.6685	0.8843	24.40	0.01
		200	0.8205	0.8232	0.8368	0.8268	0.1078	0.7190	0.8843	18.69	0.01
		100	0.7502	0.8593	0.8974	0.8356	0.0808	0.7548	0.8843	14.64	0.08
4	20 menit	1000	0.8402	0.8179	0.8080	0.8220	0.2805	0.5415	0.8843	38.76	0.02
		800	0.7512	0.7594	0.7566	0.7557	0.1587	0.5970	0.8843	32.49	0.00
		600	0.7923	0.7945	0.7943	0.7937	0.1743	0.6194	0.8843	29.96	0.00
		400	0.8940	0.8008	0.8567	0.8505	0.1807	0.6698	0.8843	24.26	0.05
		200	0.9264	0.8544	0.9249	0.9019	0.2220	0.6799	0.8843	23.11	0.04
		100	0.8325	0.7610	0.7748	0.7894	0.0949	0.6945	0.8843	21.46	0.04
5	25 menit	1000	0.3364	0.3466	0.3429	0.3420	0.1009	0.2411	0.8843	72.74	0.01
		800	0.4327	0.4231	0.4346	0.4301	0.0817	0.3484	0.8843	60.60	0.01
		600	0.5641	0.5631	0.5641	0.5638	0.1578	0.4060	0.8843	54.09	0.00
		400	0.6589	0.6643	0.6621	0.6618	0.1758	0.4860	0.8843	45.05	0.00
		200	0.8132	0.7873	0.7583	0.7863	0.2484	0.5379	0.8843	39.18	0.03
		100	0.8553	0.9181	0.9505	0.9080	0.2104	0.6976	0.8843	21.12	0.05
	Blanko		0.9088	0.9977	0.9366	0.9477	0.0634	0.8843	0.8843	0.00	0.05

Perhitungan IC50

Setelah didapatkan hasil % inhibisi dengan berbagai konsentrasi kemudian dihitung nilai IC50

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC50	A	B	R
5 menit	1000	33.97	1531.3130	9.5683	0.0264	0.9569
	800	31.91				
	600	26.18				
	400	21.47				
	200	16.46				
	100	9.27				

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC50	A	B	R
10 menit	1000	55.61	935.0326	6.4815	0.0465	0.9776
	800	39.74				
	600	35.25				
	400	25.84				
	200	13.90				
	100	12.83				

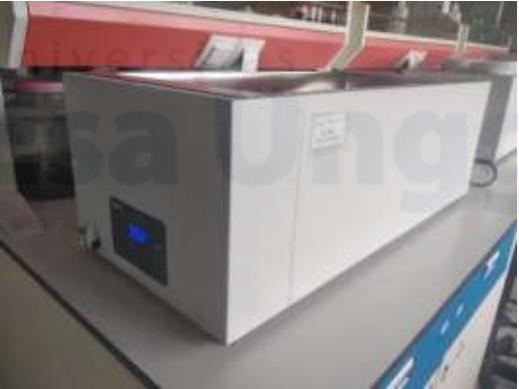
Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC50	A	B	R
15 menit	1000	35.24	1577.7386	13.9420	0.0229	0.9752
	800	33.04				
	600	28.49				
	400	24.40				
	200	18.69				
	100	14.64				

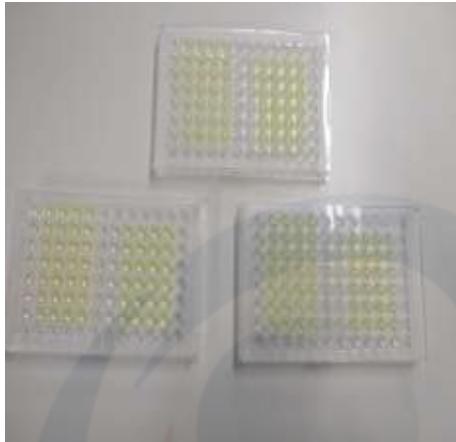
Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC50	A	B	R
20 menit	1000	38.76	1678.0011	18.7037	0.0187	0.9629
	800	32.49				
	600	29.96				
	400	24.26				
	200	23.11				
	100	21.46				

Sampel	Konsentrasi (ppm)	% Inhibisi	IC50	A	B	R
25 menit	1000	72.74	540.7685	23.0010	0.0499	0.9400
	800	60.60				
	600	54.09				
	400	45.05				
	200	39.18				
	100	21.12				

Lampiran 10 Dokumentasi bahan dan alat

No.	Gambar	Keterangan
1.		Timbangan Analitik
2.		Microwave (Proses Ekstraksi)
3		Ekstraksi

4.		Waterbath memperoleh kental) (Untuk ekstrak
5.		Hasil Ekstrak
6.		Spektrofotometri UV- Vis

7.		Alat pHmeter
8.		Pengerjaan uji α -glukosidase