

Lampiran 3. Surat Izin Penelitian dari Universitas



Jl. Soekarno Hatta No 75-4 Bandung
 ☎ 022 7830 760, 022 7830 768
 ✉ bku.ac.id contact@bku.ac.id

Bandung, 11 Maret 2022

Nomor : 0419/03.FF.03/UBK/III/2022.
 Lampiran : -
 Perihal : Permohonan Izin Penelitian

Kepada Yth.
 Kepala UPT Laboratorium Universitas Bhakti Kencana
 Di Tempat

Dengan Hormat,
 Sehubungan dengan akan diselenggarakannya Penelitian bagi mahasiswa Fakultas Farmasi (Prodi S1) Universitas Bhakti Kencana, T.A 2021/2022, dengan ini kami mengajukan Permohonan Izin Penelitian di tempat yang Bapak/Ibu pimpin.

Adapun nama mahasiswa tersebut adalah :

Nama : Farah Zakiyah
 NPM : 11181156
 No. Telp/Hp : 081382324714
 Judul Penelitian : Aktivitas Inhibisi Enzim dari Ekstrak Makroalga *Eucheuma cottonii*
 Secara In Vitro
 Pembimbing Utama : Dewi Kurnia M.Si
 Pembimbing Serta : apt. Wempi Budiana M.Si

Besar harapan kami, kiranya Bapak/Ibu berkenan mengijinkan permohonan ini. Atas perhatian dan kerjasamanya kami ucapkan terima kasih.

Mengetahui,
 Dekan Fakultas Farmasi

Dr. ant. Patonah, M.Si
 NIK. 02012010051

Ketua Prodi Strata 1 (S1) Farmasi


ant. Aris Subardiman, M.Si
 NIK. 0216010091

Lampiran 4. Surat Determinasi Makroalga *Eucheuma cottonii*
INSTITUT TEKNOLOGI BANDUNG
SEKOLAH ILMU DAN TEKNOLOGI HAYATI

Jalan Ganesa 10 Bandung 40132, Telp.: (022) 251 1575, 250 0258, Fax.: (022) 253 4107
e-mail: sith@itb.ac.id http://www.sith.itb.ac.id

Nomor : 6616/IT1.C11.2/TA.00/2021
Hal : Determinasi tumbuhan

17 Desember 2021

Kepada Yth.
Dekan
Fakultas Farmasi
Universitas Bhakti Kencana
Jalan Soekarno Hatta No. 754
Bandung

Memperhatikan surat permintaan Saudara dalam surat No. 1473/03.FF.03/UBK/XII/2021 tanggal 15 Desember 2021 mengenai determinasi tumbuhan, dengan ini kami sampaikan bahwa setelah dilakukan determinasi oleh staf kami, sampel tumbuhan yang dikirim oleh Sdr. Hafidan Asykar Akbar (NPM: 11181157), adalah :

No	Nama sampel	Hasil determinasi	Famili
1	<i>Eucheuma cottonii</i>	<i>Kappaphycus alvarezii</i> (Doty) L.M.Liao	Solieriaceae

Referensi:

1. Liao, L.M. (1996). Validation of names transferred to *Kappaphycus* Doty from *Eucheuma* J. Agardh (Rhodophyta: Solieriaceae). *The Philippine Journal of Science* 125(2), 158–160.
2. Parenrengi, A., & Sulaeman. (2007). Mengenal Rumput Laut, *Kappaphycus alvarezii*. *Media Akuakultur* 2(1), 142–146.
3. Hurtado, A.Q., Reis, R.P., Loureiro, R.R., & Critchley, A.T. (2015). *Kappaphycus* (Rhodophyta) Cultivation: Problems and the Impacts of Acadian Marine Plant Extract Powder. In: L. Pereira & J.M. Neto (Eds.), *Marine Algae: Biodiversity, Taxonomy, Environmental Assessment, and Biotechnology* (pp. 251–299). USA: CRC Press.

Demikian yang kami sampaikan. Atas perhatian dan kerjasama yang diberikan, kami ucapkan terima kasih.



Wakil Dekan Bidang Sumber Daya,

Dr. Angga Dwiartama
NIP. 198302052012121002

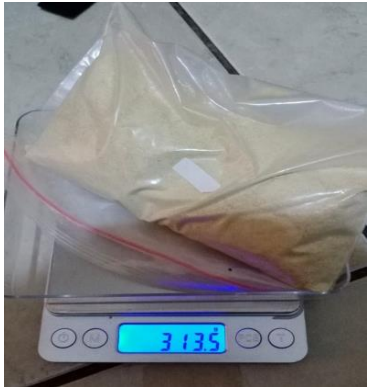
Tembusan:
Dekan SITH ITB, sebagai laporan.

Terakreditasi oleh :



Lampiran 5. Pembuatan Simplisia

No	Preparasi sampel	Dokumentasi
1.	Makroalga <i>Eucheuma cottonii</i>	
2.	Perajangan	
3.	Perendaman CaCO ₃	
4.	Hasil Perendaman CaCO ₃	

5.	Perendaman NaOH	
6.	Hasil Perendaman NaOH	
7.	Penjemuran	
8.	Hasil Simplisia	

Lampiran 6. Pembuatan Simplisia

No	Pembuatan ekstrak	Dokumentasi
1.	Proses ekstraksi dengan metode maserasi bertingkat	 
2.	Proses pengentalan ekstrak dengan <i>rotary evaporator</i>	
3.	Ekstrak N-heksana	
4.	Ekstrak Etil Asetat	
5.	Ekstrak Etanol 70%	

Lampiran 7. Perhitungan Rendemen Ekstrak

1. Menghitung Rendemen Ekstrak Kental n-heksana

Berat simplisia : 200 gr

Berat ekstrak kental : 28,768 gr

$$\begin{aligned}\%Rendemen\ Ekstrak &= \frac{28,768\ g}{200\ g} \times 100\% \\ &= 14,38\%\end{aligned}$$

2. Menghitung Rendemen Ekstrak Kental etil asetat

Berat simplisia : 200 gr

Berat ekstrak kental : 31,372 gr

$$\begin{aligned}\%Rendemen\ Ekstrak &= \frac{31,372\ g}{200\ g} \times 100\% \\ &= 15,69\%\end{aligned}$$

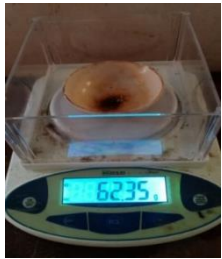
3. Menghitung Rendemen Ekstrak Kental etanol 70%

Berat simplisia : 200 gr

Berat ekstrak kental : 63,199 gr

$$\begin{aligned}\%Rendemen\ Ekstrak &= \frac{63,199\ g}{200\ g} \times 100\% \\ &= 31,60\%\end{aligned}$$

Lampiran 8. Karakterisasi Simplisia

No	Pengujian	Dokumentasi
1.	Kadar abu total	
2.	Kadar abu tidak larut asam	
3.	Kadar sari larut air	
4.	Kadar sari larut etanol	
5.	Susut pengeringan	

Lampiran 9. Perhitungan Karakterisasi Simplisia

1. Kadar Abu Total

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot simplisia} &= 3 \text{ g} \\
 \text{Bobot krus} &= 40,36 \text{ g} \\
 \text{Bobot krus abu} &= 40,87 \text{ g} \\
 \text{Kadar abu total} &= \frac{\text{bobot abu}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\
 &= \frac{40,87 - 40,36}{3} \times 100 \% \\
 &= 17 \% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

2. Kadar Abu Tidak Larut Asam

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot simplisia} &= 3 \text{ g} \\
 \text{Bobot krus} &= 40,31 \text{ g} \\
 \text{Bobot krus abu residu} &= 40,34 \text{ g} \\
 \text{Kadar abu tidak larut asam} &= \frac{\text{bobot abu}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\
 &= \frac{40,34 - 40,31}{3} \times 100 \% \\
 &= 1 \% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

3. Kadar Sari Larut Air

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot simplisia} &= 5, \text{ g} \\
 \text{Bobot cawan} &= 62,19 \text{ g} \\
 \text{Bobot cawan ekstrak} &= 62,35 \text{ g} \\
 \text{Kadar sari larut air} &= \frac{\text{bobot ekstrak} \times 5}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\
 &= \frac{(62,35 - 62,19) \times 5}{5,} \times 100 \% \\
 &= 16 \% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

4. Kadar Sari Larut Etanol

$$\begin{aligned}
 \text{Bobot simplisia} &= 5 \text{ g} \\
 \text{Bobot cawan} &= 46,95 \text{ g} \\
 \text{Bobot cawan ekstrak} &= 47,01 \text{ g} \\
 \text{Kadar sari larut air} &= \frac{\text{bobot ekstrak} \times 5}{\text{bobot simplisia}} \times 100\% \\
 &= \frac{(47,01 - 46,95) \times 5}{5} \times 100 \% \\
 &= 6 \% \text{ b/b}
 \end{aligned}$$

Lampiran 10. Pembuatan Larutan Pengujian

1. Pembuatan Larutan Dapar Fosfat pH 6,8

Pembuatan larutan dapar fosfat pH 6,8 berdasarkan Farmakope III (hal. 755) yaitu

Dapar fosfat pH 6,8 dibuat dengan cara mencampurkan 50 mL kalium dihidrogen fosfat (KH_2PO_4) 0,2 M dengan 22,4 mL natrium hidroksida (NaOH) 0,2 N kemudian diencerkan dengan air bebas karbon dioksida (CO_2) P secukupnya hingga 200mL

a. Pembuatan KH_2PO_4 0,2 M

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{1000}{\text{vol (mL)}}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{g}{136,08} \times \frac{1000}{100}$$

$$10 \text{ g} = 136,08 \times 0,2$$

$$g = 2,7216 \text{ gram}$$

Pembuatan KH_2PO_4 0,2 M dilakukan dengan melarutkan 2,7216 gram KH_2PO_4 dalam 100mL aqua bebas karbondioksida.

b. Pembuatan NaOH 0,2 N

$$N = \frac{g}{BE} \times \frac{1000}{\text{vol (mL)}}$$

$$0,2 \text{ N} = \frac{g}{40} \times \frac{1000}{100}$$

$$10 \text{ g} = 40 \times 0,2$$

$$g = 0,8 \text{ gram}$$

Pembuatan NaOH 0,2 N dilakukan dengan melarutkan 0,8 gram NaOH dalam 100 mL aqua bebas karbondioksida.

2. Pembuatan Larutan Na_2CO_3 0,2 M

$$M = \frac{g}{Mr} \times \frac{1000}{\text{vol (mL)}}$$

$$0,2 \text{ M} = \frac{g}{105,99} \times \frac{1000}{100}$$

$$10 \text{ g} = 105,99 \times 0,2$$

$$g = 2,1198 \text{ gram}$$

Pembuatan larutan Na_2CO_3 0,2 N dilakukan dengan melarutkan 2,1198 gram Na_2CO_3 dalam 100 mL dapar fosfat pH 6,8.

3. Pembuatan Larutan Enzim α -Glukosidase

Diketahui :

4.13 mg Solid

24.19 Unit/mg Solid

41 Unit/mg Protein

$$\text{Unit/mg Solid} = \frac{\text{unit/mL Enzim}}{\text{mg Solid / mL Enzim}}$$

$$24.19 \text{ Unit/mg Solid} = \frac{0,1 \text{ Unit/mL}}{x}$$

$$\begin{aligned} X &= \frac{0,1 \text{ Unit/mL}}{24.19 \text{ Unit/mg Solid}} \\ &= 0.0042 \text{ mg Solid/mL} \end{aligned}$$

Pembuatan :

1 mg solid dalam 1 ml = 24.19 Unit/mL

- Larutan Induk Enzim 4,838 Unit/mL dalam 5 mL
 $1 \text{ mg} / 5 \text{ mL} = 24,19 \text{ unit} / 5 \text{ mL} = 4,838 \text{ unit/mL}$
- Larutan Uji Enzim 0,1 unit/ml dalam 5 mL
 $V_1 \times 4,838 \text{ unit/mL} = 5 \text{ mL} \times 0,1 \text{ unit/mL}$
 $V_1 = 0,103 \text{ Ml}$

Timbang sebanyak :

1 mg/mL : 24.19 Unit/mL

1 mg/mL : 4.83 Unit/mL

Enzim 0,1 Unit

$$\begin{aligned} V &= \frac{0,1 \times 5}{4.83} \\ &= 0.103 \text{ mL atau } 103 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Larutkan 103 μL enzim 4.83 Unit dengan buffer pH 6,8 add sampai 5 mL.

4. Pembuatan Larutan pNPG 20mM

$$\text{mM} = \frac{\text{mg}}{\text{Mr}} \times \frac{1000}{\text{vol (mL)}}$$

$$20 \text{ mM} = \frac{\text{mg}}{301,25} \times \frac{1000}{10}$$

$$\text{mg} = \frac{20 \times 301,25}{100}$$

$$\text{mg} = 60,25 \text{ mg dilarutkan dalam } 10 \text{ mL dapar fosfat pH } 6,8$$

5. Pembuatan Larutan Sampel dan Pembanding

- a. Pembuatan larutan induk ekstrak etanol 70%, etil asetat, dan n-heksana makroalga *Eucheuma cottonii*

Larutan induk dibuat dengan 10 mg ekstrak dilarutkan dalam 10 mL DMSO yang setara dengan 1000 µg/mL.

- b. Pembuatan Larutan Acarbose

Larutan induk dibuat dengan 10 mg acarbose dalam 10mL DMSO yang setara dengan 1000 µg/mL.

Lampiran 11. Optimasi pH dan Substrat

Konsentrasi Substrat		Serapan (A)			Serapan Rata-rata	Serapan U-K
		A1	A2	A3		
1 mM	Uji (U)	0,351	0,481	0,463	0,432	0,364
	Kontrol (K)	0,083	0,058	0,062	0,068	
2,5 mM	Uji (U)	0,653	0,692	0,619	0,655	0,590
	Kontrol (K)	0,060	0,067	0,066	0,064	
5 mM	Uji (U)	0,719	0,644	0,762	0,708	0,641
	Kontrol (K)	0,070	0,066	0,066	0,067	
10 mM	Uji (U)	0,654	0,644	0,601	0,633	0,561
	Kontrol (K)	0,074	0,072	0,070	0,072	
15 mM	Uji (U)	0,600	0,635	0,664	0,633	0,559
	Kontrol (K)	0,076	0,073	0,073	0,074	
20 mM	Uji (U)	0,616	0,643	0,642	0,634	0,537
	Kontrol (K)	0,079	0,080	0,130	0,096	

Lampiran 12. Pengujian Penghambatan Aktivitas Enzim α -glukosidase

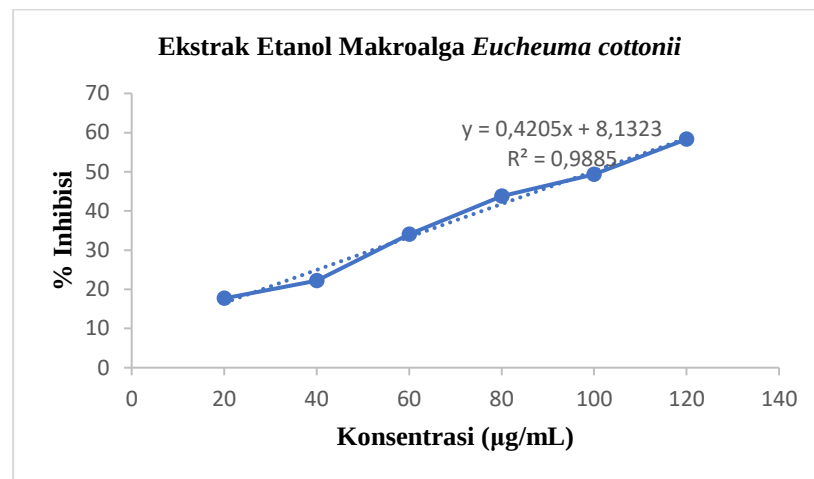
1. Penghambatan aktivitas oleh ekstrak etanol

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbansi Sampel	Blanko Sampel	Absorbansi Sampel – Blanko Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ ($\mu\text{g/mL}$)
20	0,647	0,072	0,575	17,692	$99,57 \pm 0,62$
40	0,622	0,071	0,551	21,221	
60	0,524	0,063	0,461	34,096	
80	0,435	0,063	0,372	46,781	
100	0,412	0,058	0,354	49,356	
120	0,349	0,058	0,291	58,321	
Kontrol	0,774	0,075	0,699	-	

Keterangan : % Inhibisi = $(B-S)/B \times 100\%$

B = Absorbansi blanko dikurangi absorbansi kontrol blanko

S = Absorbansi sampel dikurangi absorbansi kontrol sampel



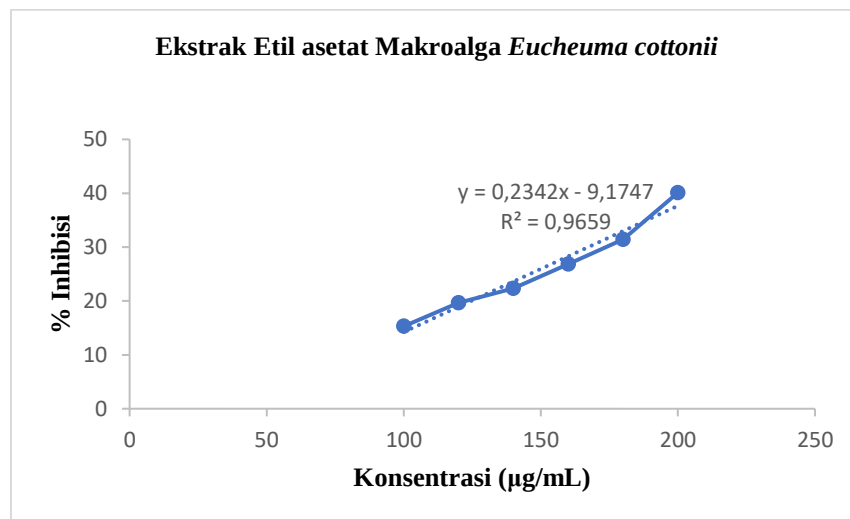
2. Penghambatan aktivitas oleh ekstrak etil asetat

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Sampel	Blanko Sampel	Absorbansi Sampel – Blanko Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
100	0,687	0,074	0,612	15,307	174,32 ± 0,68
120	0,647	0,066	0,581	19,640	
140	0,627	0,066	0,561	22,361	
160	0,585	0,056	0,529	26,879	
180	0,548	0,052	0,496	31,443	
200	0,484	0,051	0,433	40,111	
Kontrol	0,798	0,075	0,723	-	

Keterangan : % Inhibisi = $(B-S)/B \times 100\%$

B = Absorbansi blanko dikurangi absorbansi kontrol blanko

S = Absorbansi sampel dikurangi absorbansi kontrol sampel



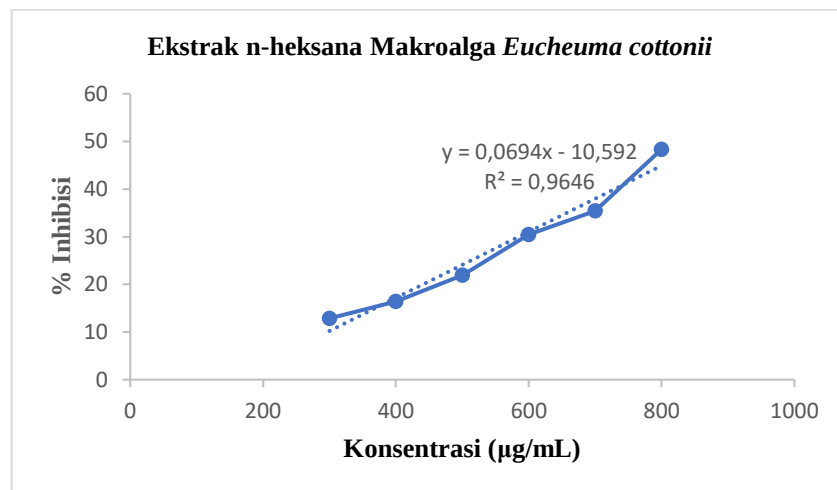
3. Penghambatan aktivitas oleh ekstrak n-heksana

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Sampel	Blanko Sampel	Absorbansi Sampel – Blanko Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
300	0,710	0,073	0,637	12,859	567,84 ± 0,66
400	0,678	0,067	0,611	16,416	
500	0,635	0,065	0,571	21,933	
600	0,566	0,058	0,508	30,461	
700	0,526	0,053	0,472	35,385	
800	0,432	0,055	0,378	48,336	
Kontrol	0,807	0,076	0,731	-	

Keterangan : % Inhibisi = $(B-S)/B \times 100\%$

B = Absorbansi blanko dikurangi absorbansi kontrol blanko

S = Absorbansi sampel dikurangi absorbansi kontrol sampel



4. Penghambatan aktivitas oleh acarbose

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi Sampel	Blanko Sampel	Absorbansi Sampel – Blanko Sampel	% Inhibisi	IC ₅₀ (µg/mL)
10	0,726	0,066	0,660	2,655	64,41 ± 0,48
20	0,677	0,075	0,603	11,111	
30	0,641	0,076	0,565	16,618	
40	0,571	0,076	0,495	26,991	
50	0,538	0,067	0,472	30,433	
60	0,485	0,072	0,413	39,086	
Kontrol	0,749	0,071	0,678	-	

Keterangan : % Inhibisi = $(B-S)/B \times 100\%$

B = Absorbansi blanko dikurangi absorbansi kontrol blanko

S = Absorbansi sampel dikurangi absorbansi kontrol sampel

