

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Surat determinasi tanaman buah mentimun



KEMENTERIAN KESEHATAN REPUBLIK INDONESIA
BADAN KEBIJAKAN PEMBANGUNAN KESEHATAN
BALAI BESAR PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
TANAMAN OBAT DAN OBAT TRADISIONAL
 Jalan Liris No.11 Tasikmaja, Karanganyar, Jawa Tengah 57792
 Telepon (0271) 697 010 Faksimila (0271) 697 451
 Laman b2p2toot@bang.kemkes.go.id Surat Elektronik b2p2toot@bang.kemkes.go.id

Nomor : KM.04.02/2/498/2022 21 Februari 2022
 Lampiran : -
 Hal : Keterangan Determinasi

Yth. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
 Jalan Letjend. Sutoyo Solo 57127

Merujuk surat Saudara nomor: 548/H6-04/07.12.2021 tanggal 7 Desember 2021 hal permohonan determinasi, dengan ini kami sampaikan bahwa hasil determinasi sampel tanaman sebagai berikut:

Nama Pemohon : Verdy Mangarah Samaludin Napitupulu
 Nama Sampel : Mentimun
 Sampel : Segar
 Spesies : Cucumis sativus L.
 Sinonim : Cucumis sativus subsp. agrestis Gabaev
 Familia : Cucurbitaceae
 Penanggung Jawab : Isna Jati Asiyah, M.Sc.

Hasil determinasi tersebut hanya mencakup sampel tanaman yang telah dikirimkan ke B2P2TOOT.

Atas perhatian Saudara, kami sampaikan terima kasih.

Kepala Balai Besar Penelitian
 dan Pengembangan Tanaman Obat
 dan Obat Tradisional



Akhmad Saikhu, S.K.M.,
 M.Sc.PH.
 NIP 196805251992031004

Tembusan :
 -

Lampiran 2. Pembuatan buffer fosfat pH 7



Lampiran 3. Supernatan ekstrak enzim buah mentimun



Lampiran 4. Hasil pelet pemurnian ke-1 enzim buah mentimun



Lampiran 5. Hasil pelet pemurnian ke-2 enzim buah mentimun



Lampiran 6. Pemurnian ekstrak enzim buah mentimun

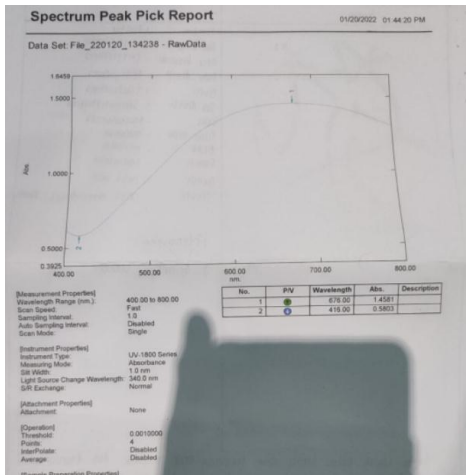


Lampiran 7. Reagen Lowry dan perhitungan



- Larutan A= Na_2CO_3 2 gram + 100 mL NaOH diambil 50 mL
- Larutan B= $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 1% 5 mL + 5 mL NaKtartat 2% diambil 1 mL
- Larutan C= Campuran 50 mL larutan A dan 1 mL larutan B
- Larutan D= Reagen Follin Phenol Ciocalteu 10 mL ditambahkan aquades 10 mL, diambil 0,5 mL
- Larutan baku= BSA ditimbang 50 mg kemudian ditambahkan ad 50 ml aquades

Lampiran 8. Lamda max 676 nm



Kinetics Data Print Report
 02/05/2021 02:30:41 PM

Time (Minutes)	Absorbance
0.000	0.000
0.005	0.000
0.010	0.000
0.015	0.000
0.020	0.000
0.025	0.000
0.030	0.000
0.035	0.000
0.040	0.000
0.045	0.000
0.050	0.000
0.055	0.000
0.060	0.000
0.065	0.000
0.070	0.000
0.075	0.000
0.080	0.000
0.085	0.000
0.090	0.000
0.095	0.000
0.100	0.000
0.105	0.000
0.110	0.000
0.115	0.000
0.120	0.000
0.125	0.000
0.130	0.000
0.135	0.000
0.140	0.000
0.145	0.000
0.150	0.000
0.155	0.000
0.160	0.000
0.165	0.000
0.170	0.000
0.175	0.000
0.180	0.000
0.185	0.000
0.190	0.000
0.195	0.000
0.200	0.000
0.205	0.000
0.210	0.000
0.215	0.000
0.220	0.000
0.225	0.000
0.230	0.000
0.235	0.000
0.240	0.000
0.245	0.000
0.250	0.000
0.255	0.000
0.260	0.000
0.265	0.000
0.270	0.000
0.275	0.000
0.280	0.000
0.285	0.000
0.290	0.000
0.295	0.000
0.300	0.000
0.305	0.000
0.310	0.000
0.315	0.000
0.320	0.000
0.325	0.000
0.330	0.000
0.335	0.000
0.340	0.000
0.345	0.000
0.350	0.000
0.355	0.000
0.360	0.000
0.365	0.000
0.370	0.000
0.375	0.000
0.380	0.000
0.385	0.000
0.390	0.000
0.395	0.000
0.400	0.000
0.405	0.000
0.410	0.000
0.415	0.000
0.420	0.000
0.425	0.000
0.430	0.000
0.435	0.000
0.440	0.000
0.445	0.000
0.450	0.000
0.455	0.000
0.460	0.000
0.465	0.000
0.470	0.000
0.475	0.000
0.480	0.000
0.485	0.000
0.490	0.000
0.495	0.000
0.500	0.000
0.505	0.000
0.510	0.000
0.515	0.000
0.520	0.000
0.525	0.000
0.530	0.000
0.535	0.000
0.540	0.000
0.545	0.000
0.550	0.000
0.555	0.000
0.560	0.000
0.565	0.000
0.570	0.000
0.575	0.000
0.580	0.000
0.585	0.000
0.590	0.000
0.595	0.000
0.600	0.000
0.605	0.000
0.610	0.000
0.615	0.000
0.620	0.000
0.625	0.000
0.630	0.000
0.635	0.000
0.640	0.000
0.645	0.000
0.650	0.000
0.655	0.000
0.660	0.000
0.665	0.000
0.670	0.000
0.675	0.000
0.680	0.000
0.685	0.000
0.690	0.000
0.695	0.000
0.700	0.000
0.705	0.000
0.710	0.000
0.715	0.000
0.720	0.000
0.725	0.000
0.730	0.000
0.735	0.000
0.740	0.000
0.745	0.000
0.750	0.000
0.755	0.000
0.760	0.000
0.765	0.000
0.770	0.000
0.775	0.000
0.780	0.000
0.785	0.000
0.790	0.000
0.795	0.000
0.800	0.000
0.805	0.000
0.810	0.000
0.815	0.000
0.820	0.000
0.825	0.000
0.830	0.000
0.835	0.000
0.840	0.000
0.845	0.000
0.850	0.000
0.855	0.000
0.860	0.000
0.865	0.000
0.870	0.000
0.875	0.000
0.880	0.000
0.885	0.000
0.890	0.000
0.895	0.000
0.900	0.000
0.905	0.000
0.910	0.000
0.915	0.000
0.920	0.000
0.925	0.000
0.930	0.000
0.935	0.000
0.940	0.000
0.945	0.000
0.950	0.000
0.955	0.000
0.960	0.000
0.965	0.000
0.970	0.000
0.975	0.000
0.980	0.000
0.985	0.000
0.990	0.000
0.995	0.000
1.000	0.000

Lampiran 9. Plasma darah



Lampiran 10. Pengujian clot lysis



Lampiran 11. Berat pelet enzim pemurnian ke-1 ekstrak enzim buah mentimun

Sampel	Berat pelet (g)
Pelet pemurnian enzim ke-1	13,21

Lampiran 12. Berat pelet enzim pemurnian ke-2 ekstrak enzim buah mentimun

Sampel	Berat pelet (g)
Pelet pemurnian enzim ke-2	11,88

**Lampiran 13. Hasil absorbansi ekstrak enzim buah mentimun
(Metode Lowry)**

Jumlah Sampel	Sampel	Absorbansi	Rata-rata Absorbansi
50 µl	Pelet pemurnian ke-1	0,319 0,323 0,322	0,321
50 µl	Pelet pemurnian ke-2	0,573 0,590 0,594	0,585
50 µl	Supernatan	0,208 0,207 0,209	0,208

Lampiran 14. Kadar protein ekstrak enzim buah mentimun

	pelet 1	pelet 2	enzim kasar
	0.319	0.573	0.208
	0.323	0.591	0.207
	0.322	0.594	0.209
rata2	0.3213333	0.586	0.208
sd	0.0020817	0.01135782	0.001

Sampel	Serapan (y)	Persamaan Kalibrasi	Kadar Protein(µg/mL) (x)	Kadar Protein (µg/mL) (x Faktor Pengenceran)
Supernatan	0,208	0,208 ± 0,001	0,831	83,1
Pelet pemurnian ke-1	0,321	0,321 ± 0,002	1,260	126
Pelet pemurnian ke-2	0,585	0,585 ± 0,0111	2,305	230,5

Lampiran 15. Presentase lisis bekuan darah

Sampel	Replikasi	Bekuan Darah (g)	Lisis Bekuan Darah (g)	Presentase Lisis (%)
Nattokinase	1	0,814	0,667	82%
	2	0,916	0,815	89%
	3	1,036	0,973	94%
	Total			90%
Enzim kasar (<i>crude enzim</i>)	1	1,021	0,816	80%
	2	0,997	0,817	82%
	3	1,057	0,887	84%
	Total			83%
Pelet pemurnian ke-1 Konsentrasi 20%	1	1,067	0,288	27%
	2	1,006	0,311	31%
	3	0,991	0,277	28%
	Total			29%
Pelet pemurnian ke-1 Konsentrasi 40%	1	1,066	0,415	39%
	2	0,997	0,418	42%
	3	1,060	0,381	36%
	Total			39%
Pelet pemurnian ke-1 Konsentrasi 80%	1	0,938	0,422	45%
	2	1,061	0,519	49%
	3	1,020	0,479	47%
	Total			47%
Pelet pemurnian ke-2 Konsentrasi 20%	1	1,072	0,686	64%
	2	1,006	0,684	68%
	3	0,99	0,623	63%
	Total			65%
Pelet pemurnian ke-2 Konsentrasi 40%	1	1,071	0,749	70%
	2	1,012	0,748	74%
	3	1,048	0,691	66%
	Total			70%
Pelet pemurnian ke-2 Konsentrasi 80%	1	1,013	0,79	78%
	2	1,032	0,815	79%
	3	1,006	0,865	86%
	Total			81%
Aquadres	1	0,861	0,068	8%
	2	1,209	0,077	9%
	3	0,986	0,112	13%
	Total			10%

Lampiran 16. Penimbangan lisis bekuan darah**Lampiran 17. Optimasi konsentrasi amonium sulfat**

50% = 10 mL x 291 gram/1000 mL = 2,91 gram

55% = 10 mL x 326 gram/1000 mL = 3,26 gram

60% = 10 mL x 361 gram/1000mL = 3,61 gram

Lampiran 18. Perhitungan kejenuhan ammonium sulfat 55%

Initial concentration of ammonium sulfate (percentage saturation at 0 °C)	Percentage saturation at 0 °C																
	20	25	30	35	40	45	50	55	60	65	70	75	80	85	90	95	100
	Solid ammonium sulfate (g) to be added to 1 l of solution																
0	106	134	164	194	226	258	291	326	361	398	436	476	516	559	603	650	697
5	79	108	137	166	197	229	262	296	331	368	405	444	484	526	570	615	662
10	53	81	109	139	169	200	233	266	301	337	374	412	452	493	536	581	627
15	26	54	82	111	141	172	204	237	271	306	343	381	420	460	503	547	592
20	0	27	55	83	113	143	175	207	241	276	312	349	387	427	469	512	557
25		0	27	56	84	115	146	179	211	245	280	317	355	395	436	478	522
30			0	28	56	86	117	148	181	214	249	285	323	362	402	445	488
35				0	28	57	87	118	151	184	218	254	291	329	369	410	453
40					0	29	58	89	120	153	187	222	258	296	335	376	418
45						0	29	59	90	123	156	190	226	263	302	342	383
50							0	30	60	92	125	159	194	230	268	308	348
55								0	30	61	93	127	161	197	235	273	313
60									0	31	62	95	129	164	201	239	279
65										0	31	63	97	132	168	205	244
70											0	32	65	99	134	171	209
75												0	32	66	101	137	174
80													0	33	67	103	139
85														0	34	68	105
90															0	34	70
95																0	35
100																	0

$$55\% = 300 \text{ mL} \times 326 \text{ gram} / 1000 \text{ mL} = 97,8 \text{ gram}$$

Lampiran 19. Perhitungan buffer fosfat pH 7

- $\text{NaH}_2\text{PO}_4 = 119,98 \times 250 \text{ mL} \times 0,05 / 1000 = 1,49975 \text{ gram}$
- $\text{Na}_2\text{HPO}_4 = 141,96 \times 250 \text{ mL} \times 0,05 / 1000 = 1,7745 \text{ gram}$

Lampiran 20. Hasil analisis data uji potensi fibrinolitik ekstrak enzim buah mentimun

Uji Shapiro-wilk

Tujuan: untuk mengetahui data normal sebagai syarat uji ANOVA

Kriteria uji: Sig < 0,05 berarti H0 ditolak

Sig > 0,05 berarti H0 diterima

Tests of Normality

SAMPSEL	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
PLOT_PERSEN						
NATTOKINASE	.211	3	.	.991	3	.817
ENZIM KASAR	.175	3	.	1.000	3	1.000
PELET 1 20 %	.292	3	.	.923	3	.463
PELET 1 40 %	.175	3	.	1.000	3	1.000
PELET 1 80 %	.175	3	.	1.000	3	1.000
PELET 2 20 %	.314	3	.	.893	3	.363
PELET 2 40 %	.175	3	.	1.000	3	1.000
PELET 2 80 %	.343	3	.	.842	3	.220
AKUADES	.314	3	.	.893	3	.363

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan: sig >0,05 dapat disimpulkan data terdistribusi normal.

Uji Homogenitas

Tujuan: untuk mengetahui data homogen

Kriteira uji: Sig < 0,05 berarti tidak homogen (ditolak)

Sig > 0,05 berarti homogen (diterima)

Test of Homogeneity of Variances

PLOT PERSEN			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.999	8	18	.470

Kesimpulan: Sig > 0,05 berarti data homogen (diterima) maka terdapat perbedaan yang bermakna dari konsentrasi ekstrak enzim buah mentimun terhadap presentase lisis yang dihasilkan.

Uji ANOVA

Tujuan: untuk mengetahui perbedaan yang bermakna dari konsentrasi ekstrak enzim buah mentimun terhadap presentase lisis yang dihasilkan.

Kriteria uji: Sig < 0,05 berarti H0 ditolak

Sig >0,05 berarti H0 diterima

ANOVA

PLOT PERSEN					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	17553.333	8	2194.167	185.133	.000
Within Groups	213.333	18	11.852		
Total	17766.667	26			

Kesimpulan: Sig < 0,05 yang berarti masing-masing sampel memiliki perbedaan yang bermakna satu sama lain dari konsentrasi ekstrak enzim buah mentimun terhadap presentase lisis yang dihasilkan.

Uji Post Hoc Turkey

Homogeneous

PLOT_PERSEN

Tukey HSD

SAMPSEL	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
AKUADES	3	9.3333				
PELET PEMURNIAN 1 KONSETRASI 20 %	3	27.0000	27.0000			
PELET PEMURNIAN 1 KONSETRASI 40 %	3		40.0000			
PELET PEMURNIAN 1 KONSETRASI 80 %	3		46.0000	46.0000		
PELET PEMURNIAN 2 KONSETRASI 20 %	3			64.6667	64.6667	
PELET PEMURNIAN 2 KONSETRASI 40 %	3			68.6667	68.6667	68.6667
PELET PEMURNIAN 2 KONSETRASI 80 %	3				82.0000	82.0000
NATTOKINASE	3					88.6533
Sig.		.207	.149	.056	.224	.115

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Kesimpulan: Menunjukkan hasil 5 subset kelompok.

Uji T-test

Tujuan: untuk mengetahui perbedaan yang bermakna dari konsentrasi ekstrak enzim buah mentimun terhadap presentase lisis yang dihasilkan.

Kriteria: Sig < 0,05 berarti H₀ ditolak
Sig > 0,05 berarti H₀ diterima

T-Test

[DataSet0]

One-Sample Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
PLOT_PERSEN	27	56.7778	26.14065	5.03077

One-Sample Test

	Test Value = 0					
	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
					Lower	Upper
PLOT_PERSEN	11.286	26	.000	56.77778	46.4369	67.1187

Kesimpulan: Sig < 0,05 yang berarti masing-masing sampel memiliki perbedaan yang bermakna satu sama lain dari konsentrasi ekstrak enzim buah mentimun terhadap presentase lisis yang dihasilkan.

MEAN STATISTIC**Ranks**

	SAMPEL	N	Mean Rank
PLOT_PERSEN	NATTOKINASE	3	25.17
	ENZIM KASAR	3	22.50
	PELET 1 20 %	3	5.00
	PELET 1 40 %	3	8.00
	PELET 1 80 %	3	11.00
	PELET 2 20 %	3	14.33
	PELET 2 40 %	3	16.67
	PELET 2 80 %	3	21.33
	AKUADES	3	2.00
	Total	27	

Kesimpulan: Hasil analisis SPSS rata-rata terbesar adalah kontrol positif nattokinase dan terendah adalah kontrol negatif akuades, hal ini telah sesuai teoritis dan validasi metode telah sesuai, sampel utama terbesar adalah pelet pemurnian 2 konsentrasi 80 %, hal ini dikarenakan faktor konsentrasi sampel yang besar, sedangkan sampel utama yang memiliki hasil terkecil adalah pelet pemurnian 1 konsentrasi 20 %, hal ini karena dipengaruhi oleh faktor konsentrasi sampel yang kecil.