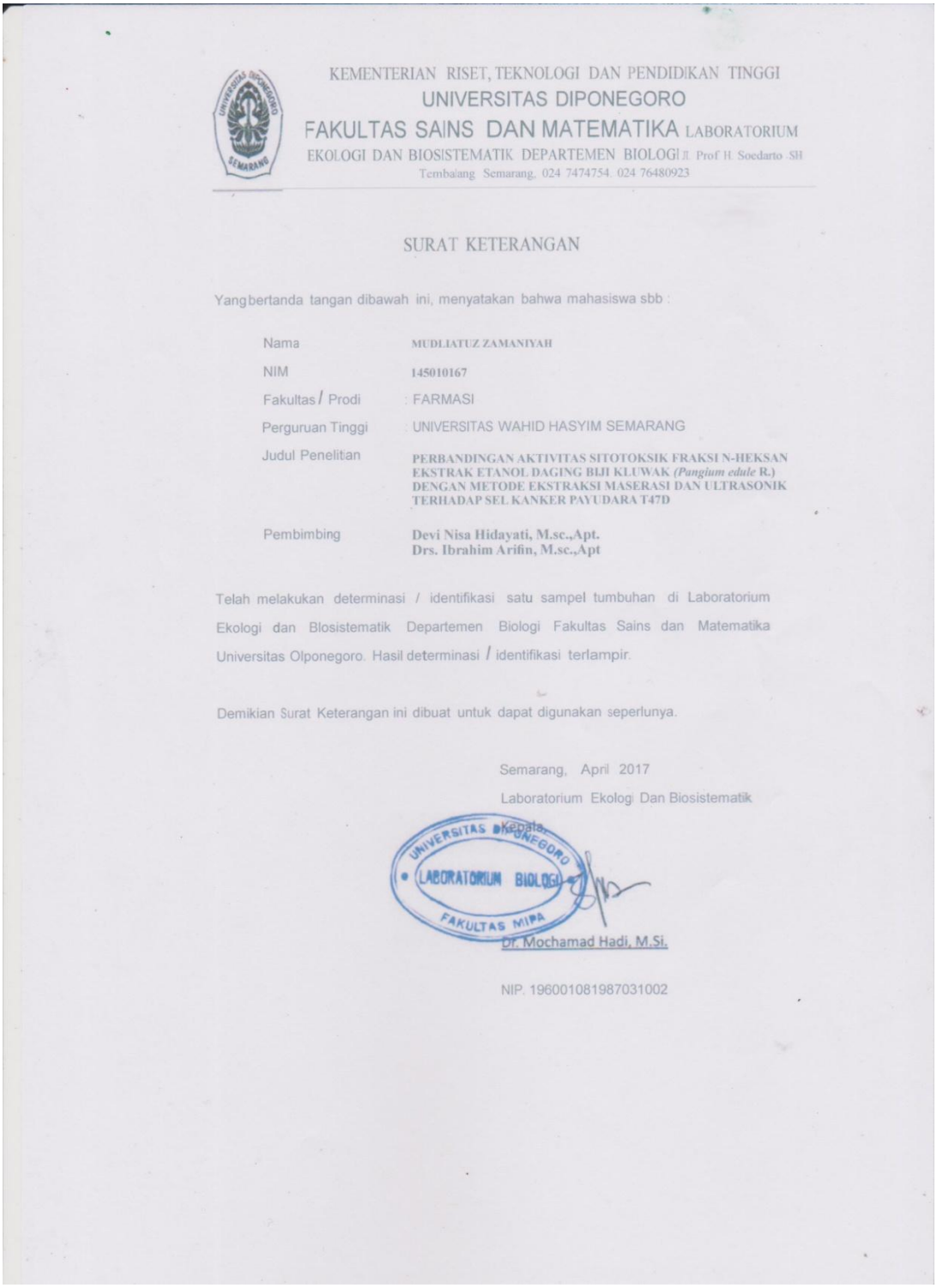
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Kluwak (*Pangium edule* R.)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA LABORATORIUM
EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI Jl. Prof H. Soedarto SH
Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :

Nama	MUDLIATUZ ZAMANIYAH
NIM	145010167
Fakultas / Prodi	: FARMASI
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Penelitian	PERBANDINGAN AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N-HEKSAN EKSTRAK ETANOL DAGING BIJI KLUWAK *(Pangium edule* R.) DENGAN METODE EKSTRAKSI MASERASI DAN ULTRASONIK TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D
Pembimbing	Devi Nisa Hidayati, M.sc.,Apt. Drs. Ibrahim Arifin, M.sc.,Apt

Telah melakukan determinasi / identifikasi satu sampel tumbuhan di Laboratorium Ekologi dan Blosistematik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Olponegoro. Hasil determinasi / identifikasi terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

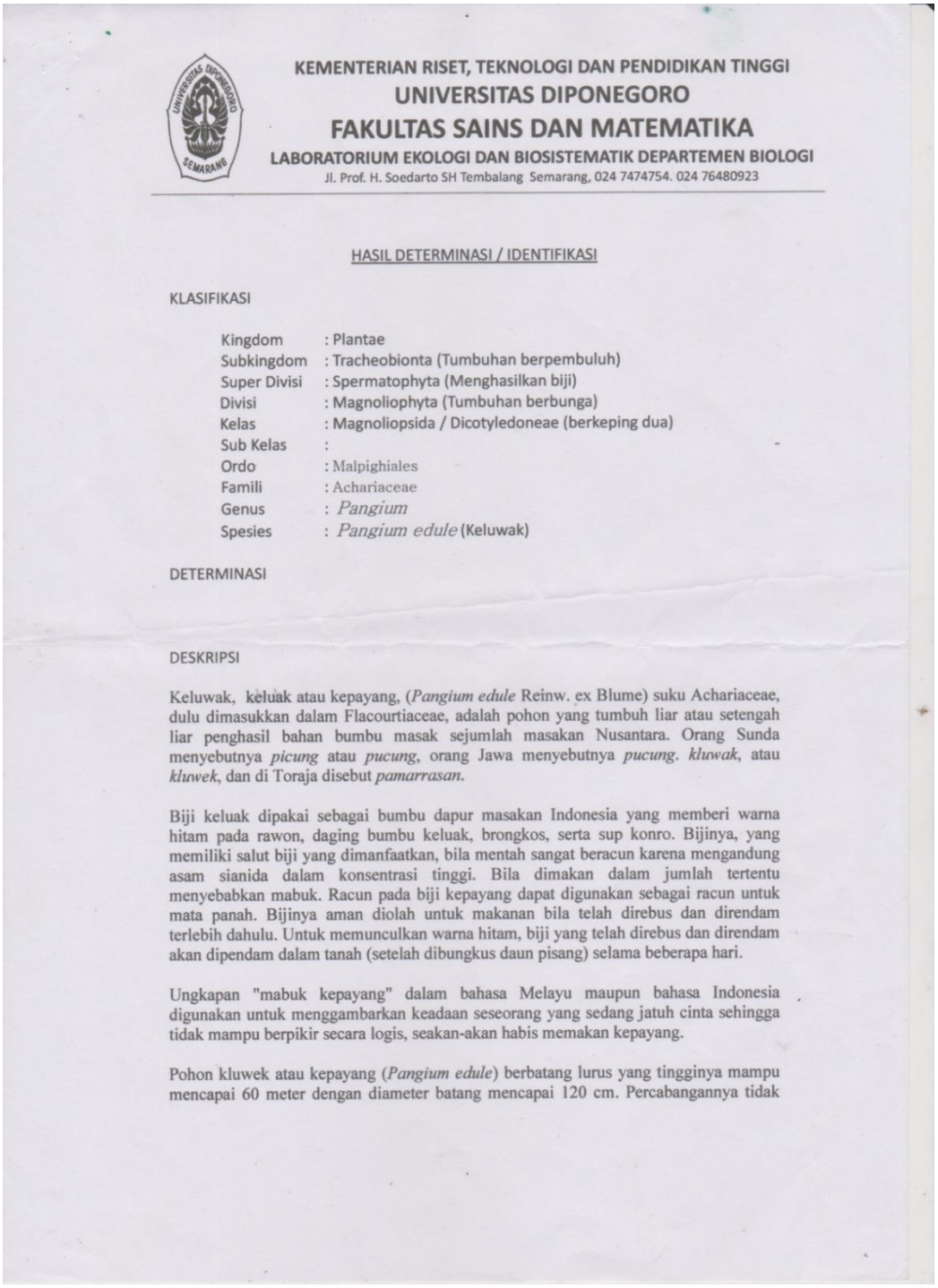
Semarang, April 2017
Laboratorium Ekologi Dan Biosistematik
Kepala,

UNIVERSITAS DIPONEGORO
LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS MIPA

Dr. Mochamad Hadi, M.Si.

NIP. 196001081987031002

Lampiran 1. Lanjutan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI
Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

HASIL DETERMINASI / IDENTIFIKASI

KLASIFIKASI

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida / Dicotyledoneae (berkeping dua)
Sub Kelas	:
Ordo	: Malpighiales
Famili	: Achariaceae
Genus	: *Pangium*
Spesies	: *Pangium edule* (Keluwak)

DETERMINASI

DESKRIPSI

Keluwak, keluak atau kepayang, (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) suku Achariaceae, dulu dimasukkan dalam Flacourtiaceae, adalah pohon yang tumbuh liar atau setengah liar penghasil bahan bumbu masak sejumlah masakan Nusantara. Orang Sunda menyebutnya *picung* atau *pucung*, orang Jawa menyebutnya *pucung*. *kluwak*, atau *kluwek*, dan di Toraja disebut *pamarrasan*.

Biji keluak dipakai sebagai bumbu dapur masakan Indonesia yang memberi warna hitam pada rawon, daging bumbu keluak, brongkos, serta sup konro. Bijinya, yang memiliki salut biji yang dimanfaatkan, bila mentah sangat beracun karena mengandung asam sianida dalam konsentrasi tinggi. Bila dimakan dalam jumlah tertentu menyebabkan mabuk. Racun pada biji kepayang dapat digunakan sebagai racun untuk mata panah. Bijinya aman diolah untuk makanan bila telah direbus dan direndam terlebih dahulu. Untuk memunculkan warna hitam, biji yang telah direbus dan direndam akan dipendam dalam tanah (setelah dibungkus daun pisang) selama beberapa hari.

Ungkapan "mabuk kepayang" dalam bahasa Melayu maupun bahasa Indonesia digunakan untuk menggambarkan keadaan seseorang yang sedang jatuh cinta sehingga tidak mampu berpikir secara logis, seakan-akan habis memakan kepayang.

Pohon kluwek atau kepayang (*Pangium edule*) berbatang lurus yang tingginya mampu mencapai 60 meter dengan diameter batang mencapai 120 cm. Percabangannya tidak

Lampiran 1. Lanjutan

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI
Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

terlalu rapat. Daunnya berbentuk jantung, dengan lebar 15 cm. dan panjang 20 cm. berwarna hijau gelap dan mengkilap di bagian atas, sementara bagian bawahnya agak keputihan dan sedikit berbulu.

Bunga kluwek (*Pangium edule*) tumbuh di pucuk ranting, berwarna putih kehijauan, mirip dengan bunga pepaya. Buah berbentuk lonjong dengan bagian ujung dan pangkal meruncing, berukuran panjang 30 cm dan lebar 20 cm. Warna kulit buah cokelat, dengan permukaan agak berbulu.

Daging buah putih dan lunak. Biji kepayang bertempurung, berbentuk asimetris, dengan ukuran 3 – 4 cm. Tempurung biji bertekstur dengan warna cokelat kehitaman. Ketebalan tempurung antara 3 sd. 4 mm. dan sangat keras. Daging biji berwarna sangat putih.

Tanaman ini tumbuh di hutan hujan tropika basah dan merupakan tanaman asli yang tumbuh mulai dari Asia Tenggara hingga Pasifik Barat, termasuk di Indonesia. Keluwak mampu tumbuh di daerah dataran rendah hingga ketinggian 1.500 m dpl.

Seperti namanya, tanaman ini mampu membuat orang menjadi kepayang (mabuk atau pusing). Hal ini dikarenakan, terutama bijinya, mengandung asam sianida dalam konsentrasi tinggi. Selain asam sianida, beberapa kandungan kimia lainnya yang terdapat pada buah antara lain vitamin C, ion besi, betakaroten, asam hidnokarpat, asam khaulmograt, asam glorat, dan tanin.

Berbagai kandungan zat tersebut menjadikan tanaman kepayang, kluwek, picung atau *Pangium edule* memiliki berbagai macam manfaat dan kegunaan, seperti; bahan batang korek api (batang), obat cacing (daun), antiseptik, penghilang kutu, bahan pengawet, dan bahan pembuat minyak (biji).

Manfaat yang tidak kalah pentingnya adalah buahnya yang sering kali digunakan sebagai bumbu dapur masakan Indonesia seperti rawon. Bijinya pun dapat dimakan langsung setelah menjalani proses pemeraman untuk menghilangkan zat asam sianida yang dikandungnya. Meskipun demikian bila dimakan dalam jumlah tertentu apalagi bagi yang kurang tahan dapat mengakibatkan efek pusing (mabuk).

Selain itu, kayu kepayang juga cukup baik dan kuat sebagai bahan pertukangan. Dan lagi, tumbuhan asli Indonesia ini memiliki perakaran yang kuat sehingga cocok digunakan sebagai pohon pelindung dan penghijuan di daerah aliran sungai.

Untuk menghilangkan kandungan asam sianida, buah kepayang atau kluwek (*Pangium edule*) yang telah matang dan jatuh dari pohon dikumpulkan dalam satu karung dan dibiarkan basah oleh air hujan atau malah direndam dalam air dalam waktu 10-14 hari. Dengan begitu, selain kulit atau sabutnya lebih mudah dikupas juga dapat menghilangkan racun asam sianida yang terdapat pada bijinya.

Lampiran 1. Lanjutan

KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI
Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

Meskipun bukan termasuk tanaman langka, namun nyatanya pohon kepayang kini mulai jarang ditemukan. Sayang, padahal buah yang disebut kepayang, kluwek, keluwek, kluak, keluak, picung, pucung, atau pohon lunglai, dan panarassan ini unik, mampu membuat kita mabuk kepayang.

PUSTAKA :

Backer, CA, RCB Van Den Brink, 1963. Flora of Java. Volume I (III). NV. Noordhoff, Groningen, The Netherlands.
Van Steenis, C.G.G.J. 1981. Flora, Untuk Sekolah Indonesia. P.T. Pradnya Paramita, Jakarta.

Lampiran 2. Surat Telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS KEDOKTERAN
DEPARTEMEN PARASITOLOGI

SURAT KETERANGAN
No. UGM/KU/Prst/ 033 /TL/04/03/01.18

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Kepala Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa :

Nama : MUDLIATUZ ZAMANIYAH
Instansi : Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Semarang
NIM. : 145010167

Telah melakukan penelitian di Departemen Parasitologi FK. UGM dengan judul :

"PENGARUH PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK DAN MASERASI TERHADAP AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAGING BIJI KELUWAK (*Pengium edele* Reinw.) TERHADAP SEL KANKER PAYUDARA T47D"

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 21 Agustus 2017 sampai dengan 24 Agustus 2017

Urusan administrasi telah diselesaikan oleh yang bersangkutan dan fasilitas laboratorium yang dipakai telah dikembalikan, dengan demikian dinyatakan **bebas laboratorium**.

Surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 23 Januari 2018
a.n. Kepala,
Sekretaris

Dr. Budi Mulyaningsih, Apt, MS..
NIP. 19560912 198303 2 002.

Gedung Prof. Drs. R. Radiopoetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281
Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitfkugm@yahoo.com

Lampiran 3. Surat Keterangan Telah Melaksanakn Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang

UNIVERSITAS WAHID HASYIM
FAKULTAS FARMASI
BAGIAN BIOLOGI FARMASI
Jl. Menoreh Tengah X / 22 Sampangan – Semarang 50236 Telp. (024) 8505680 – 8505681 fax. (024) 8505680

SURAT KETERANGAN
No.083/Lab. Biologi Farmasi/C.05/UWH/I/2018

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Yang bertandatangan di bawah ini, Kepala Bagian Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang menerangkan bahwa:

Nama	: Mudliatuz Zamaniyah
NIM	: 145010167
Fakultas	: Farmasi

Telah melakukan pembuatan ekstrak daging biji kluwak dalam rangka penelitian dengan judul: "Perbandingan Aktivitas Sitotoksik Fraksi N-Heksan Ekstrak Ekstrak Etanol Daging Biji Kluwak *(Pangium edule* R.) dengan Metode Ekstraksi Maserasi dan Ultrasonik Terhadap Sel Kanker Payudara T47D".

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.
Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, Januari 2018
Ka.Bag Biologi Farmasi

Dewi Nisa Hidayati, M.Sc, Apt

Lampiran 4. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Fraksi N- heksan Ekstrak Etanol Daging Biji Kluwak (FNEEDBK) Uji Akstivitas Sitotoksik Tunggal

1. Sel kanker payudara T47D

   a. Perhitungan sel

      Jumlah sel terhitung = 210 sel

      Jumlah sel dalam stok $= \frac{210 \text{ x } 10^4}{1}$

      $= 2{,}1 \text{ x } 10^6$ sel/mL

   b. Pembuatan suspensi sel (Stok)

      Sel T47D untuk perlakuan = $1 \text{ x } 10^4$ sel/sumuran

      Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 10.000 sel

      Volume yang diambil $= \frac{10^4 \text{ x } 100}{2{,}1 \text{ x } 10^6}$

      =0,47 ml ~ 0,5 ml ~500 µl

      = 500 µl + MK ad 10 ml

2. Seri konsentrasi FNEEDBK perlakuan tunggal

   a. Pembuatan larutan stok konsentrasi 100.000 µg/mL

      Sebanyak 12,3 mg FNEEDBK dilarutkan dalam 123 µl DMSO (10 x bobot FNEEDBK yang ditimbang) kemudian dihomogenkan dengan vortex hingga larut dan homogen:

      $\frac{12{,}3 \ mg \ FNEEDBK}{123 \ \mu l \ DMSO} = \frac{12.300 \ \mu g \ FNEEDBK}{123 \ \mu l \ DMSO} \rightarrow$ 100.000 µg/mL

   b. Pembuatan seri konsentrasi 750 µg/mL

      N1 x V1 = N2 x V2

      100.000 µg/mL x V1 = 750 µg/mL x 3 mL

Lampiran 4. Lanjutan

$$V1 = \frac{750\ \mu g/mL \text{ x } 3\ mL}{100.000\ \mu g/mL}$$

= 22,5 µg/mL FNEEDBK dari suspensi sel + ditambahkan 2977,5 µl Media Komplit (MK) kemudian diresuspensi.

c. Pembuatan seri konsentrasi 500 µg/mL

N1 x V1 = N2 x V2

750 µg/mL x V1 = 500 µg/mL x 0,8 mL

$$V1 = \frac{500\ \mu g/mL \text{ x } 0,8\ mL}{750\ \mu g/mL}$$

= 0,53 mL

= 530 µl FNEEDBK diambil dari konsentrasi 750 µg/mL kemudian ditambahkan MK sebanyak 270 µl. Diresuspensi

d. Pembuatan seri konsentrasi 400 µg/mL

N1 x V1 = N2 x V2

750 µg/mL x V1 = 400 µg/mL x 0,8 mL

$$V1 = \frac{400\ \mu g/mL \text{ x } 0,8\ mL}{750\ \mu g/mL}$$

= 0,42 mL

= 420 µl FNEEDBK diambil dari konsentrasi 750 µg/mL kemudian ditambahkan MK sebanyak 380 µl. Diresuspensi

Lampiran 4. Lanjutan

e. Pembuatan seri konsentrasi 300 µg/mL

N1 x V1 = N2 x V2

750 µg/mL x V1 = 300 µg/mL x 0,8 mL

$$V1 = \frac{300\ \mu g/mL \times 0{,}8\ mL}{750\ \mu g/mL}$$

= 0,32 mL

= 320 µl FNEEDBK diambil dari konsentrasi 750 µg/mL kemudian ditambahkan MK sebanyak 480 µl. Diresuspensi

f. Pembuatan seri konsentrasi 250 µg/mL

N1 x V1 = N2 x V2

750 µg/mL x V1 = 250 µg/mL x 0,8 mL

$$V1 = \frac{250\ \mu g/mL \times 0{,}8\ mL}{750\ \mu g/mL}$$

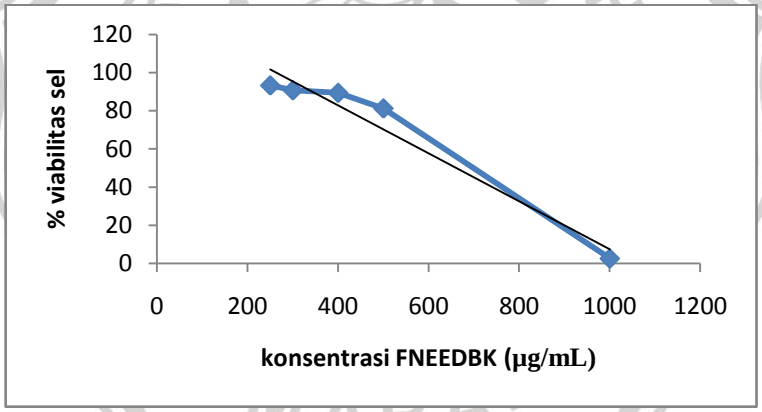
= 0,26 mL

= 260 µl FNEEDBK diambil dari konsentrasi 750 µg/mL kemudian ditambahkan MK sebanyak 540 µl. Diresuspensi

Lampiran 5. Penentuan nilai IC_{50} FNEEDBK terhadap sel kanker payudara T47D

a. MASERASI

Konsentrasi FNEEDBK (µg/ml)	**Absorbansi**			**Rerata**	**% viabilitas sel**
	1	**2**	**3**		
750	0,208	0,168	0,162	0,179	5,378
500	0,948	0,862	0,872	0,894	81,245
400	0,980	0,967	0,965	0,970	89,384
300	0,965	0,911	1,074	0,983	90,728
250	0,981	1,039	1,002	1,007	93,276
KS	1,033	1,061	1,118	1,070	
KM	0,121	0,132	0,133	0,128	



- **Analisis Regresi Linier dengan *Ms Excel* 2007**

  Y = -0,125x + 133,0

  R^2 = 0,953

- **Mencari IC_{50}**

  Y = 50

  Y = -0,125x + 133,0

  50 = -0,125 x + 133,0

  X = (133,0 – 50) : -0,125

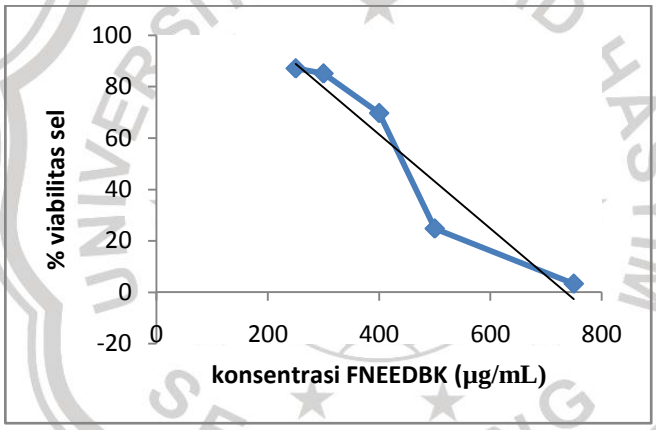
  X = 664

Jadi, IC_{50} yang diperoleh dari FNEEDBK metode ekstraksi maserasi adalah 664 µg/mL.

Lampiran 5. Lanjutan

b. ULTRASONIK

Konsentrasi FNEEDBK (µg/ml)	Absorbansi			Rerata	% viabilitas sel
	1	2	3		
750	0,163	0,159	0,157	0,159	3,290
500	0,358	0,295	0,433	0,362	24,769
400	0,816	0,732	0,808	0,785	69,709
300	0,933	0,940	0,919	0,930	85,138
250	0,926	0,972	0,950	0,040	87,119
KS	1,033	1,061	1,118	1,070	
KM	0,121	0,132	0,133	0,128	



- **Analisis Regresi Linier dengan *Ms Excel* 2007**

  Y = -0,183x + 134,5

  R^2 = 0,917

- **Mencari IC_{50}**

  Y = 50

  Y = -0,183x + 134,5

  50 = -0,183x + 134,5

  X = (134,5 – 50) : -0,183

  X = 461,748

  Jadi, IC_{50} yang diperoleh dari FNEEDBK metode ekstraksi ultrasonik adalah 461,748 µg/Ml

Lampiran 6. Hasil analisis SPSS FNEEDBK

1. **UJI NORMALITAS FNEEDBK**

   Hipotesa:
   H0 : % sel hidup terdistribusi normal
   Ha: % sel hidup tidak terdistribusi normal

   Interpretasi hasil analisa:
   Sig < 0,05 : H0 ditolak dan Ha diterima = tidak terdistribusi normal
   Sig > 0,05 : H0 diterima dan Ha ditolak = terdistribusi normal

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		konsentrasi FNEEDBK
N		5
Normal Parameters[a]	Mean	440.0000
	Std. Deviation	198.11613
Most Extreme Differences	Absolute	.181
	Positive	.181
	Negative	-.169
Kolmogorov-Smirnov Z		.405
Asymp. Sig. (2-tailed)		.997
a. Test distribution is Normal.		

Kesimpulan : data tedistribusi normal

Lampiran 6. Lanjutan

2. UJI HOMOGENITAS
   Hipotesa:
   H0 : % sel hidup terdistribusi homogen
   Ha : % sel hidup tidak terdistribusi homogen

   Interpretasi hasil analisa:
   Sig < 0,05 : H0 ditolak dan Ha diterima = data tidak homogen
   Sig > 0,05 : H0 diterima dan Ha ditolak = data homogen

Test of Homogeneity of Variances

% viabilitas T47D

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.329	1	8	.582

Kesimpulan: data homogen

Lampiran 6. lanjutan

3. UJI ONE WAY ANOVA

H0: perbedaan metode ekstraksi tidak mempengaruhi % sel hidup

H1: perbedaan metode ekstraksi mempengaruhi % sel hidup

INTERPRETASI HAIL ANALISA

Sig. <0,05 : H0 ditolak Ha diterima

Sig. > 0,05 : H0 diterima Ha ditolak

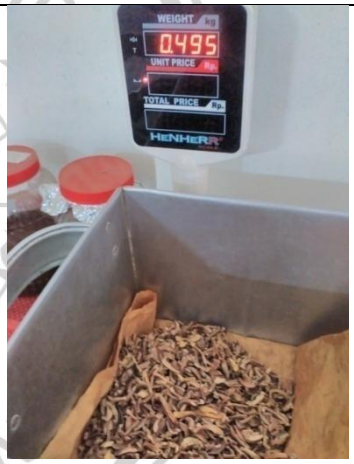
ANOVA

% viabilitas T47D

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	639.680	1	639.680	.423	.534
Within Groups	12110.692	8	1513.836		
Total	12750.372	9			

Kesimpulan : perbedaan metode ekstraksi tidak mempengaruhi % sel hidup (tidak berbeda bermakna)

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

 Penimbangan daging biji kluwak basah	 Perajangan daging biji kluwak
 Pengeringan daging biji kluwak	 Penimbangan daging biji kluwak kering

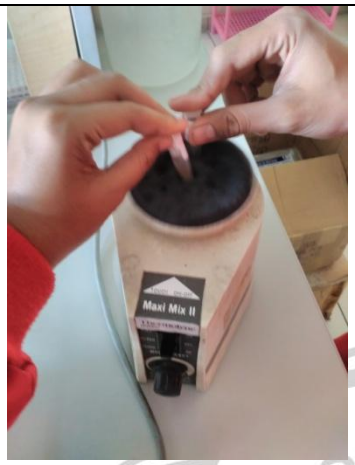
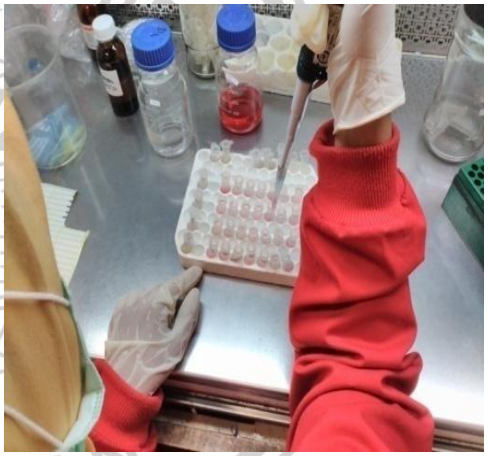
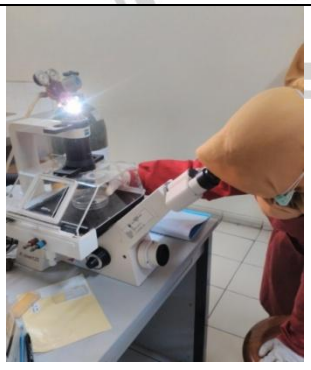
Lampiran 7. Lanjutan

Rotary evaporatory	Fraksinasi
Filtrat fraksinasi	Penimbangan ekstrak
Penimbangan fraksi	Penambahan DMSO

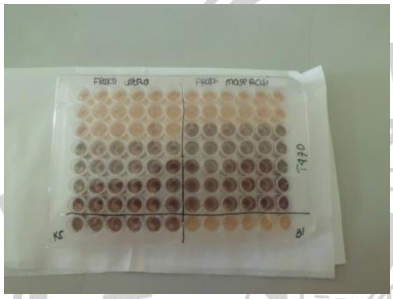
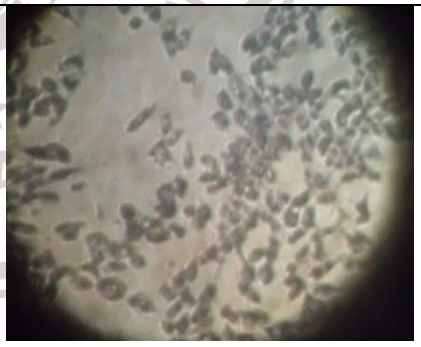
Lampiran 7. Lanjutan

 Penyerbukan daging biji kluwak	 Penimbangan serbuk daging biji kluwak
 Cek kadar air daging biji kluwak	 Ekstraksi maserasi
 Ekstraksi ultrasonik	 Penyaringan

Lampiran 7. Lanjutan

 vortex	Sentrifuge
Pemanenan sel kanker	 Pembuatan seri konsentrasi FNEEDBK
 Pengamatan sel kanker	LAF

Lampiran 7. Lanjutan

 Inkubator CO_2	 ELISA *reader*
 Setelah penambahan SDS sebelum inkubasi	 Seteleh penambahan SDS setelah inkubasi
 Sebelum penambahan FNEEDBK	 Kristal formazan Konsentrasi 750 µg/mL