

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Sirsak (*Annona muricata* L.)



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIKA 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	: CAHYANING GITA RIZKITA
NIM	: 145010093
Fakultas / Prodi	: FARMASI
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Penelitian	: "Pengaruh Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) Terhadap Induksi Apoptosis Sel Kanker Payudara T47D Dengan Metode Flowcytometry"
Pembimbing	: -

Telah melakukan determinasi / identifikasi sampel tumbuhan (satu jenis) di Laboratorium Ekologi dan Biosistematik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Dionegoro. Hasil determinasi / identifikasi terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Semarang, Pebruari 2018
Laboratorium Ekologi Dan Biosistematik
Koordinator,

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 BIOSISTEMATIKA DEPARTEMEN BIOLOGI
 Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

HASIL DETERMINASI / IDENTIFIKASI

KLASIFIKASI

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
 Sub Kelas : -
 Ordo : Magnoliales
 Famili : Annonaceae
 Genus : *Annona*
 Spesies : *Annona muricata* L. (Sirsak).

DETERMINASI

1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15a.....
 Golongan 8. Tanaman dengan daun tunggal dan tersebar. 109b, 119b, 120b,
 128b, 129b, 135b, 136b, 139b, 140b, 142b, 143b, 146b, 154b, 155b, 156b, 162b, 163a,
 164b, 165b, 166a, Famili 50. Annonaceae
 Genus 2. *Annona* 1a Spesies : *Annona muricata* L. (Sirsak).

DESKRIPSI

Pohon, tinggi 3-8 m. Daun memanjang, bentuk lanset atau bulat telur terbalik, ujung meruncing pendek, seperti kulit, panjang 6-18 cm, tepi rata. Bunga berdiri sendiri berhadapan dengan daun, bau tidak enak. Daun kelopak bunga kecil. Daun mahkota bunga berdagang, tiga yang terluar hijau, kemudian kuning, panjang 3,5-5 cm, tiga yang terdalam bulat telur, kuning muda. Daun kelopak dan daun mahkota yang terluar pada saat kuncup seperti katup, sedangkan daun mahkota terdalam tersusun seperti susunan genting. Dasar bunga sangat cekung, benang sari banyak, bakal buah banyak, bakal biji satu. Buah majemuk tidak beraturan, bentuk telur miring atau bengkok, berduri tempel. Biji hitam, daging buah putih. Pohon buah dari Hindia Barat, banyak ditanam di Indonesia.

Tanaman ini ditanam secara komersial untuk diambil daging buahnya. Dapat tumbuh di sembarang tempat, paling baik ditanam di daerah yang cukup berair. Nama sirsak berasal dari bahasa Belanda Zuursak yang berarti kantung yang asam. Pohon sirsak bisa mencapai tinggi 9 meter. Di Indonesia sirsak dapat tumbuh dengan baik pada ketinggian 1000 m dari permukaan laut.

Lampiran 1. Lanjutan



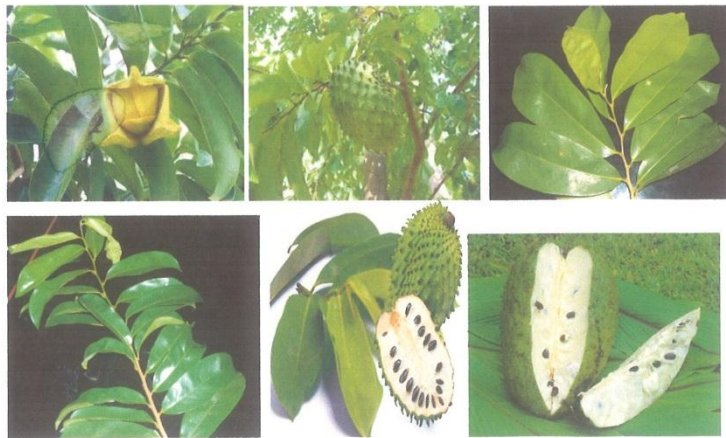
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
 LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIKA DEPARTEMEN BIOLOGI
 Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

Buah sirsak bukan buah sejati, yang ukurannya cukup besar hingga 20-30cm dengan berat mencapai 2,5 kg. Yang dinamakan "buah" sebenarnya adalah kumpulan buah-buah (buah agregat) dengan biji tunggal yang saling berhimpitan dan kehilangan batas antar buah. Daging buah sirsak berwarna putih dan memiliki biji berwarna hitam. Buah ini sering digunakan untuk bahan baku jus minuman serta es krim. Buah sirsak mengandung banyak karbohidrat, terutama fruktosa. Kandungan gizi lainnya adalah vitamin C, vitamin B1 dan vitamin B2 yang cukup banyak. Bijinya beracun, dan dapat digunakan sebagai insektisida alami, sebagaimana biji srikaya.

Daun sirsak mengandung banyak manfaat untuk bahan pengobatan herbal, dan untuk menjaga kondisi tubuh, manfaatnya tersebut tak lepas dari kandungan kimianya yang banyak mengandung acetogenins, annocatacin, annocatalin, annohexocin, annonacin, annomuricin, anomurine, anonol, caclourine, gentisic acid, gigantetronin, linoleic acid, muricapentocin.

PUSTAKA :

Van Steenis, C.G.G.J. 1981. Flora, Untuk Sekolah Indonesia. P.T. Pradnya Paramita, Jakarta.



Lampiran 2. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.



UNIVERSITAS GADJAH MADA
 FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT, DAN KEPERAWATAN
DEPARTEMEN PARASITOLOGI
 Gedung Prof. Drs. R. Radiopoetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281
 Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitkugm@yahoo.com

SURAT KETERANGAN
 No. 21b/UN1/KU.3/PRST.2/LT/2018

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : LINA MARIYYAH AL QIBTHIYYAH
 Instansi : Fakultas Farmasi
 Universitas Wahid Hasyim
 Semarang
 NIM. : 145010094

Telah melakukan penelitian di Departemen Parasitologi FKMK UGM dengan judul :

“PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK BIJI SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP MODULASI SIKLUS SEL KANKER KANKER PAYUDARA T47D DENGAN METODE FLOWCYTOMETRY”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
 Waktu Penelitian: 2 Mei 2018 sampai dengan 16 Mei 2018

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, 22 Mei 2018

Ketua

dr. Tri Baskoro T. Satoto, MSc., PhD.
 NIP. 19580412 198601 1 001.

Lampiran 3. Perhitungan Sel T47D, Seri Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji
Sirsak

1. Sel T47D

a. Perhitungan Sel

$$\text{Jumlah sel terhitung} = 156 \times 10^4$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

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

Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 10.000 sel

$$\text{Volume yang diambil} = \frac{5000 \times 100}{156 \times 10^4} = 0,33 \text{ ml} + \text{Media Kultur (RPMI) ad 5 ml.}$$

2. Seri Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak

a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 100.000 $\mu\text{g/ml}$

Sebanyak 11 mg Ekstrak Etanolik Biji Sirsak dilarutkan dalam 110 μl DMSO ditambahkan media ad 10 ml.

$$\text{Konsentrasi stok } 10 \text{ mg}/100 \mu\text{l} = 10.000 \mu\text{g}/100 \mu\text{l} = 100.000 \mu\text{g/ml.}$$

b. Pembuatan Seri Konsentrasi

Sel T47D 3 replikasi= 300 μl , dilebihkan menjadi 400 μl

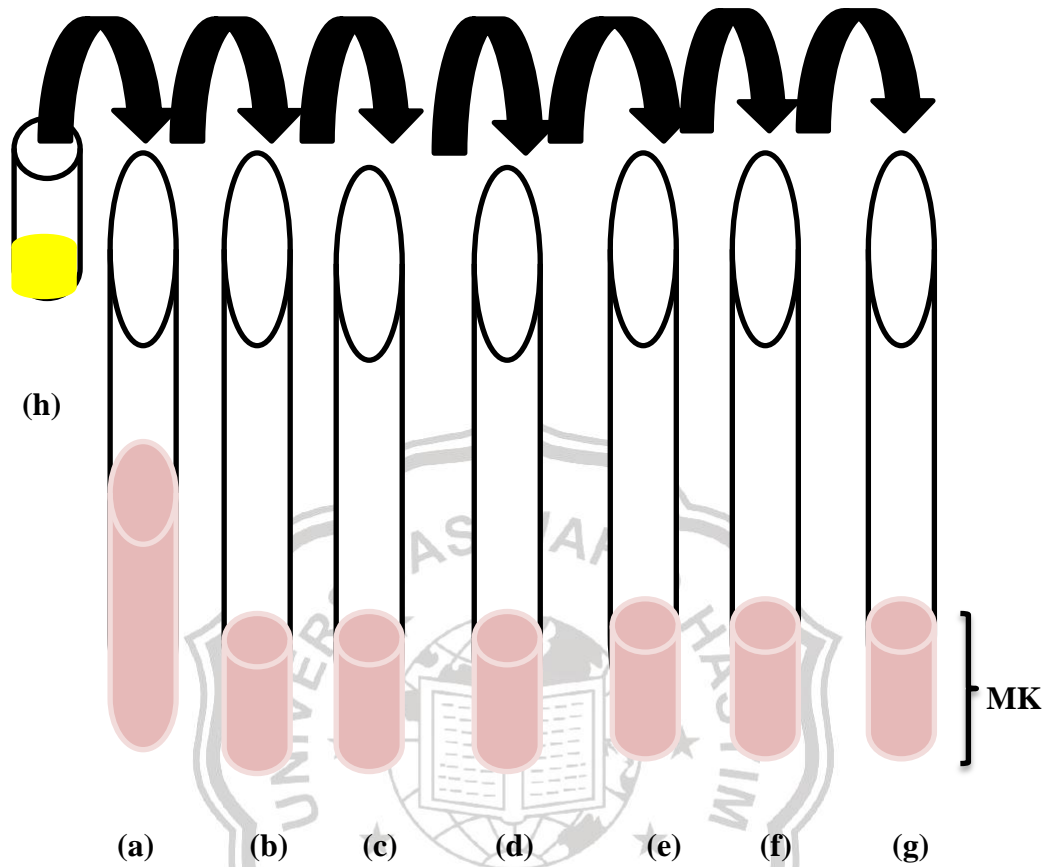
Pembuatan seri konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$

$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$V1 \times 100.000 \mu\text{g/ml} = 800 \mu\text{l} \times 1000 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{800 \mu\text{l} \times 1000 \mu\text{g/ml}}{100.000 \mu\text{g/ml}}$$

$$= 8 \mu\text{l ad } 392 \mu\text{l MK}$$



Keterangan konsentrasi: (a) 1000 ppm, 800 μ l MK; (b) 500 ppm, 400 μ l MK; (c) 250 ppm, 400 μ l MK; (d) 125 ppm, 400 μ l MK; (e) 62,5 ppm, 400 μ l MK; (f) 31, 25 ppm, 400 μ l MK; (g) 15,625 ppm, 400 μ l MK; (h) sampel EEBS 8 μ l

Lampiran 4. Penentuan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanolik Biji Sirsak pada Sel Kanker Payudara T47D

Konsentrasi EEBS (µg/ml)	Absorbansi			Rata-Rata Absorbansi	% Viabilitas (%)
	1	2	3		
500	0.143	0.143	0.15	0.145	2.76
125	0.709	0.749	0.706	0.721	83.50
62.5	0.707	0.84	0.73	0.759	88.79
31.25	0.744	0.732	0.783	0.753	87.94
15.625	0.792	0.834	0.788	0.805	95.19
Kontrol Media	0.121	0.12	0.136	0.126	
Kontrol Sel	0.849	0.822	0.846	0.839	

Perhitungan Nilai % Viabilitas EEBS

$$\% \text{ Viabilitas} = \frac{\text{Abs. sel dengan Perlakuan} - \text{Abs.Kontrol Media}}{\text{Abs.Kontrol Sel} - \text{Abs.Kontrol Media}} \times 100$$

$$\% \text{ Viabilitas Kons 500} = \frac{0,145 - 0,126}{0,839 - 0,126} \times 100 = 2,76 \%$$

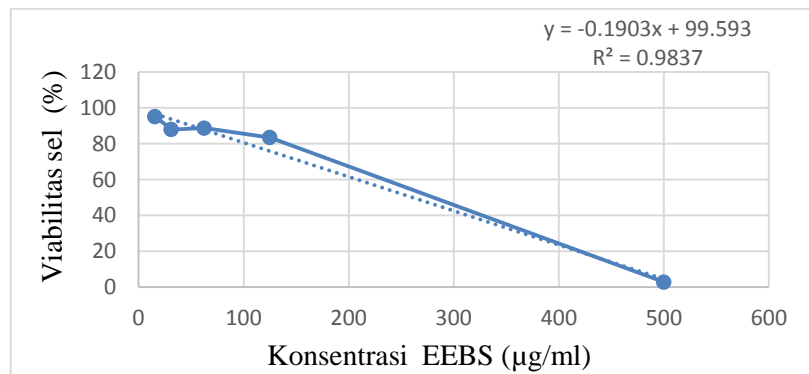
$$\% \text{ Viabilitas Kons 125} = \frac{0,721 - 0,126}{0,839 - 0,126} \times 100 = 83,50 \%$$

$$\% \text{ Viabilitas Kons 62,5} = \frac{0,759 - 0,126}{0,839 - 0,126} \times 100 = 88,79 \%$$

$$\% \text{ Viabilitas Kons 31,25} = \frac{0,753 - 0,126}{0,839 - 0,126} \times 100 = 87,94 \%$$

$$\% \text{ Viabilitas Kons 15,625} = \frac{0,805 - 0,126}{0,839 - 0,126} \times 100 = 95,19 \%$$

Lampiran 4. Lanjutan



Analisis Regresi Linier dengan *Ms.Excel 2010*

$$Y = -0,1903x + 99,593$$

$$R^2 = 0,9837$$

Mencari IC_{50} , sehingga $Y = 50$

$$50 = -1903x + 99,593$$

$$x = \frac{50 - 99,593}{-0,1903} = 260,604 \mu\text{g/ml} \sim 261 \mu\text{g/ml}$$

Sehingga diperoleh IC_{50} Ekstrak Etanolik Biji Sirsak 261 µg/ml

Lampiran 5. Perhitungan Sel dan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak
(EEBS) Uji Modulasi Siklus Sel

1. Sel T47D

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel terhitung = 40×10^4 sel

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

Sel T47D untuk perlakuan = 10×10^5 sel/sumuran

Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 1.000.000 sel

Volume yang diambil = 2,5 ml

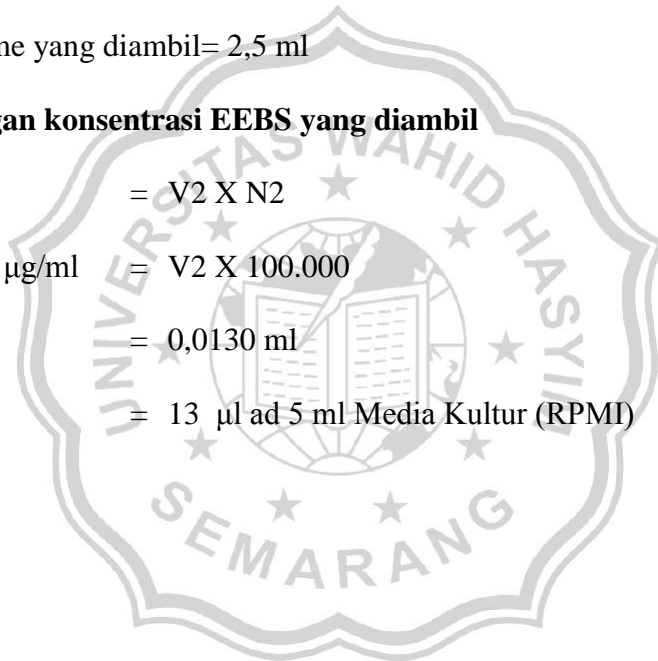
2. Perhitungan konsentrasi EEBS yang diambil

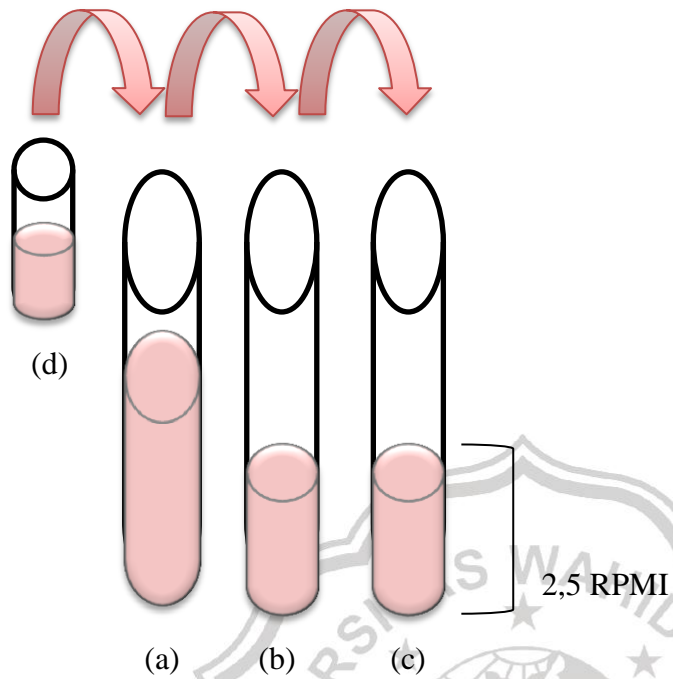
$$V_1 \times N_1 = V_2 \times N_2$$

$$5 \text{ ml} \times 261 \mu\text{g/ml} = V_2 \times 100.000$$

$$V_2 = 0,0130 \text{ ml}$$

$$= 13 \mu\text{l ad 5 ml Media Kultur (RPMI)}$$



Lampiran 5. Lanjutan

Keterangan konsentrasi: (a) 1 IC₅₀ 5ml RPMI+13 µl EEBS; (b) ½ IC₅₀ 2,5ml RPMI; (c) ¼ IC₅₀ 2,5 ml RPMI; (d) EEBS 13 µl

Lampiran 6. Dokumentasi Penelitian**Pengambilan Biji Sirsak****Pengecekan Kadar Air Serbuk Kering Biji Sirsak****Pemanenan Sel****Inkubator CO2**



Pembuatan Seri Konsentrasi



**Perlakuan dengan Ekstrak Biji
Sirsak+RPMI**



Perlakuan dengan MTT Assay

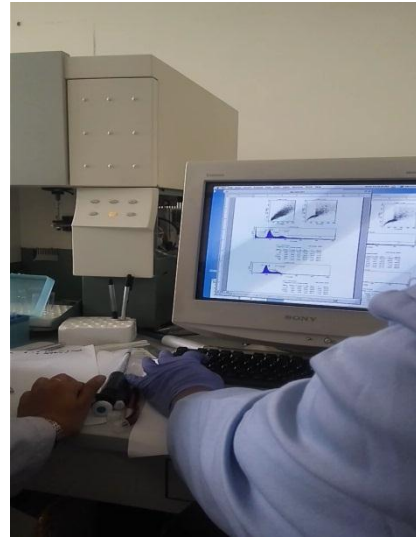


Pembacaan pada ELISA reader





Perlakuan untuk Uji Modulasi Siklus Sel



Analisis Data dengan Flowcytometri

