

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



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	: 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 Biosistemik 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 Biosistemik
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 berdaging, 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 *Zuurzak* 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...



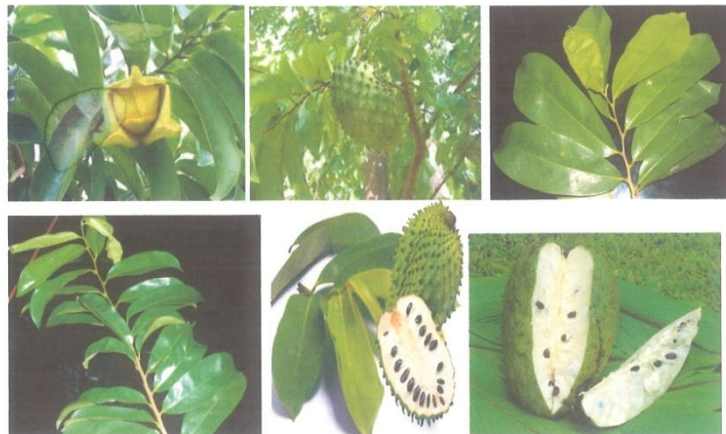
KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
 LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATI DEPARTEMEN BIOLOGI
 Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

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 : parasitfkgm@yahoo.com

SURAT KETERANGAN
No. ~~212~~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 : RIKE FRIDIANA
Instansi : Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Semarang
NIM. : 145010095

Telah melakukan penelitian di Departemen Parasitologi FKMK UGM dengan judul :

“PENGARUH EKSTRAK ETANOLIK BIJI SIRSAK (*Annona muricata* L.) TERHADAP
INDUKSI APOPTOSIS SEL KANKER SERVIKS (HeLa) DENGAN METODE
FLOWCYTOMETRY”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 2 Mei 2018 sampai dengan 22 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, Seri Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS)

1. Sel HeLa

a. Perhitungan Sel

$$\text{Jumlah sel terhitung} = 25 \times 10^4$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (stok)

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

Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 10.000 sel

$$\text{Volume yang diambil} = \frac{10000 \times 50}{25 \times 10^4} = 2 \text{ ml} + \text{MK ad } 5 \text{ ml}$$

2. Seri Konsentrasi EEBS

a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 100.000 µg/ml

Sebanyak 12,0 mg EEBS dilarutkan dalam 120 µl DMSO (10 x bobot ekstrak yang ditimbang) kemudian divortex hingga homogen.

$$\frac{12,0 \text{ mg}}{120 \text{ µl}} = \frac{12000 \text{ µg}}{0,12 \text{ ml}} = 100.000 \text{ µg/ml}$$

b. Pembuatan Seri Konsentrasi

Sel HeLa 3x replikasi 300 µl dilebihkan menjadi 400 µl

Pembuatan seri konsentrasi 1000 µg/ml

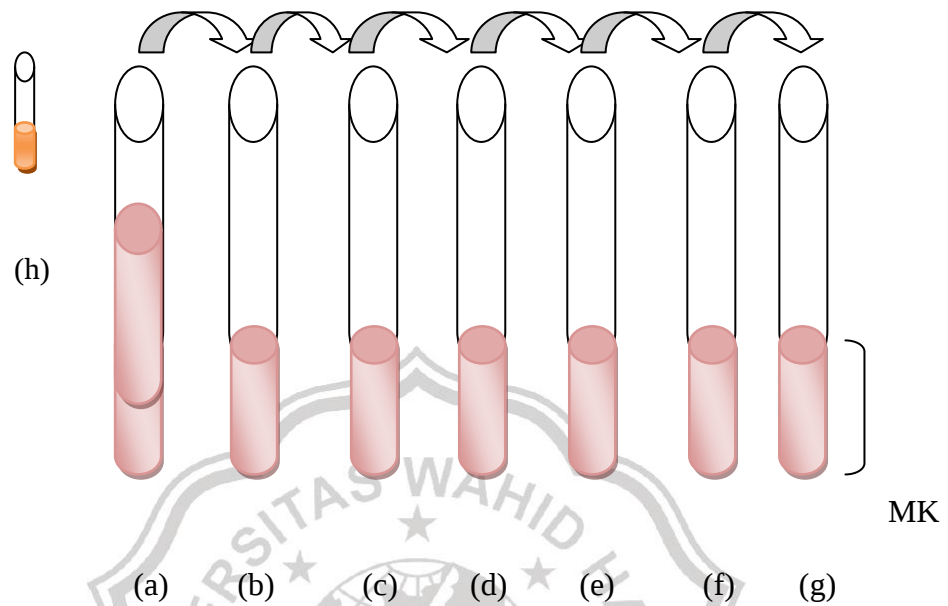
$$V1 \times C1 = V2 \times C2$$

$$V1 \times 100.000 \text{ µg/ml} = 800 \text{ µl} \times 1000 \text{ µg/ml}$$

$$= \frac{800 \text{ µl} \times 1000 \text{ µg/ml}}{100.000 \text{ µg/ml}}$$

$$= 8 \text{ µl ad } 792 \text{ MK}$$

Lanjutan lampiran 3....



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 g/ml.

Lampiran 4. Penentuan nilai IC_{50} Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS) pada Sel
Kanker Serviks HeLa

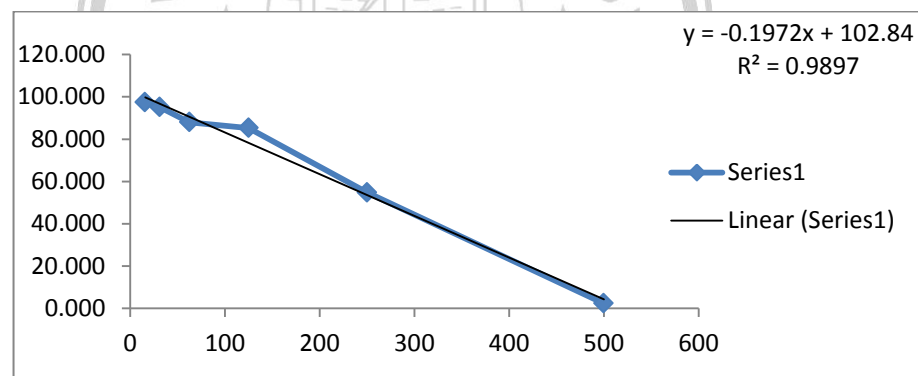
1. Penentuan Nilai IC_{50} EEBS

Konsentrasi EEBS ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi			Rerata	
	1	2	3	% Viabilitas Sel	
1000	0,179	0,169	0,168	0,172	6,749
500	0,147	0,138	0,142	0,142	2,333
250	0,399	0,614	0,471	0,495	54,789
125	0,676	0,718	0,704	0,699	85,261
62,5	0,686	0,738	0,729	0,718	87,990
31,25	0,756	0,755	0,785	0,765	95,087
15,625	0,781	0,753	0,81	0,781	97,469
kontrol sel	0,826	0,811	0,756	0,798	
kontrol media	0,126	0,128	0,126	0,127	

Lanjuta lampiran 4....

2. % Viabilitas sel setelah konsentrasi 1000 ppm di cut

Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (µg/ml)	% Viabilitas Sel HeLa
500	2,333
250	54,789
125	85,261
62,5	87,990
31,25	95,087
15,625	97,469



Konsentrasi EEBS (µg/ml)

Lanjutan lampiran 4....**3. Analisis Regresi Linier dengan Ms. Excel 2007**

$$y = - 0,197x + 102,8$$

$$R^2 = 0,989$$

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

$$50 = - 0,197x + 102,8$$

$$X = \frac{102,8-50}{0,197} = 268,020 \mu\text{g/ml}$$

Sehingga diperoleh IC_{50} EEBS 268,020 $\mu\text{g/ml}$



**Lampiran 5. Perhitungan Sel dan Konsentrasi Ekstrak Etanolik Biji Sirsak
(EEBS) Uji Induksi Apoptosi**

1. Sel HeLa

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel terhitung = 40×10^4 sel

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

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

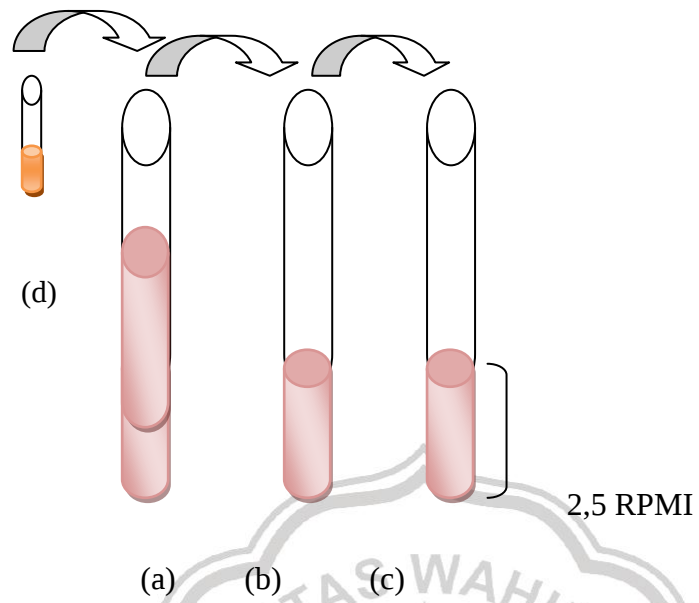
Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 1.000.000 sel

Volume yang diambil = $\frac{1000000}{400000} = 2,5$ ml

2. Perhitungan konsentrasi EEBS yang diambil

$$\begin{aligned}
 V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\
 5\text{ml} \times 268 \mu\text{g/ml} &= V_2 \times 100.000 \\
 V_2 &= 0,0134 \text{ ml} \\
 &= 13 \mu\text{l ad 5 ml MK}
 \end{aligned}$$

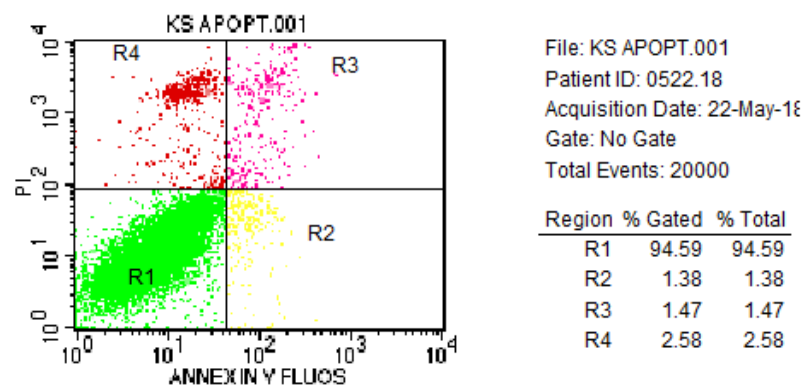
Lanjutan lampiran 5....



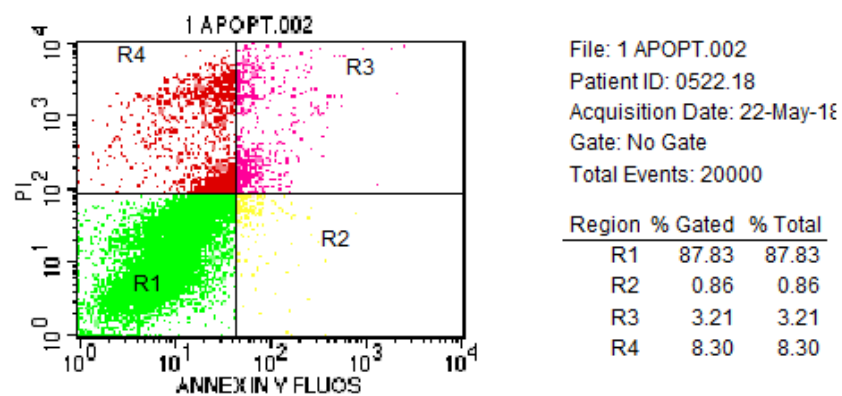
Keterangan konsentrasi: (a) 1 IC_{50} 5ml RPMI + 13 μ l EEBS; (b) $\frac{1}{2}$ IC_{50} 2,5ml RPMI; (c) $\frac{1}{4}$ IC_{50} 2,5ml RPMI; (d) EEBS 13 μ l

Lampiran 6. Hasil Uji Induksi Apoptosi Sel HeLa Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS)

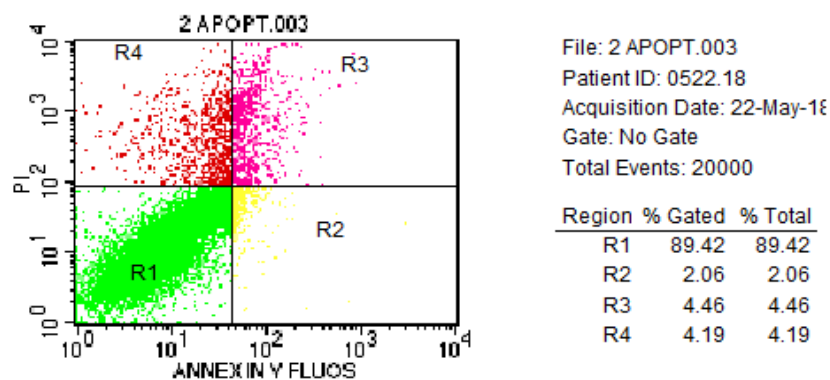
1. Kontrol Sel



2. Perlakuan EEBS 1 IC_{50} (268 $\mu\text{g/ml}$)

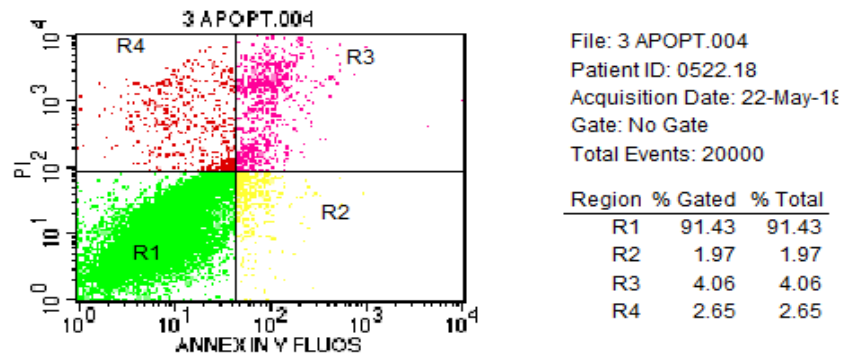


3. Perlakuan EEBS $\frac{1}{2} IC_{50}$ (134 $\mu\text{g/ml}$)



Lanjutan lampiran 6....

4. Perlakuan EEBS $\frac{1}{4}$ IC₅₀ (67 μ g/ml)



5. Persentase Distribusi Induksi Apoptosis Setelah Perlakuan Ekstrak Etanolik Biji Sirsak (EEBS) pada Sel HeLa kontrol sel dan perlakuan 1 IC₅₀, $\frac{1}{2}$ IC₅₀, $\frac{1}{4}$ IC₅₀.

Sampel	Sel Hidup (%)	Apoptosis Awal (%)	Apoptosis Akhir (%)	Nekrosis (%)
Kontrol Sel	94,59	1,38	1,47	2,58
EEBS 1 IC ₅₀ (268 μ g/ml)	87,83	0,86	3,21	8,30
EEBS $\frac{1}{2}$ IC ₅₀ (134 μ g/ml)	89,42	2,06	4,46	4,19
EEBS $\frac{1}{4}$ IC ₅₀ (67 μ g/ml)	91,43	1,97	4,06	2,65