

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Bayam Merah (*Amaranthus tricolor L.*)



SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :

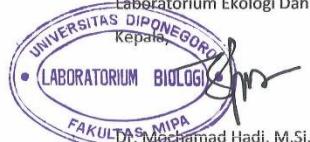
Nama	:	Titik Setyowati
NIM	:	135010965
Fakultas / Prodi	:	FARMASI
Perguruan Tinggi	:	UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Penelitian	:	"Aktivitas Sitotoksik Ekstrak Air Bayam Merah (<i>Amaranthus Tricolor L.</i>) terhadap Sel Kanker Payudara T47D Melalui Induksi Apoptosis"
Pembimbing	:	-

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

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Semarang, September 2017

Laboratorium Ekologi Dan Biosistematisk



Dr. Mohammad Hadi, M.Si.

NIP. 196001081987031002



**KEMENTERIAN PENDIDIKAN TINGGI DAN RISET TEKNOLOGI
UNIVERSITAS DIPONEGORO
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA
LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK JURUSAN 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 – Dycotyledoneae (berkeping dua/dikotil)
Sub Kelas	:
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: Amaranthaceae
Genus	: <i>Amaranthus</i>
Spesies	: <i>Amaranthus tricolor</i> L. (Bayam merah)

DETERMINASI

1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15a, Golongan 8 :
 Tanaman dengan daun tunggal letak tersebar 109b, 120b, 128b, 129b, 135b,
 136b, 139b, 140b, 142b, 143b, 146b, 154b, 155b, 156b, 162b, 163b, 167b, 169b, 171a,
 172b, 173b, 174a, 175b, Famili 41 : Amaranthaceae 1b, 5b
 Genus : *Amaranthus* Spesies : *Amaranthus tricolor* L. (Bayam merah)

DESKRIPSI

Herba berumur 1 tahun, berwarna merah, tegak atau condong kemudian tegak, tinggi 0,4-1 m, kerap kali bercabang banyak. Daun bulat telur memanjang bentuk lancet, panjang 5-8 cm dengan ujung tumpul dan pangkal runcing, berwarna merah. Bunga dalam tukal yang rapat, yang bawah duduk di ketiak, yang atas terkumpul menjadi karangan bunga di ujung dan duduk di ketiak, bentuk bulir atau bercabang pada pangkalnya. Bulir ujung sebagian besar jantan, mula-mula maik lalu menggantung. Tukal betina menjauhi batang. Daun pelindung dan anak daun pelindung runcing. Daun tenda bunga 5, panjang 2-3 mm, gundul, hijau atau ungu. Benang sari 5, lepas. Kepala putik duduk, bentuk benang. Buah bulat memanjang, dengan tutup yg rontok, berbiji satu.

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.



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



Lampiran2. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim



Lampiran 3. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium
Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT,
DAN KEPERAWATAN
DEPARTEMEN PARASITOLOGI

SURAT KETERANGAN
No. UGM/KU/Prst/~~68~~/M/04/03/02.18

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama	:	TITIK SETYOWATI
Instansi	:	Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang
NIM.	:	135010965

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

“EFEK EKSTRAK BAYAM MERAH (*Amaranthus tricolor L.*) TERHADAP INDUKSI APOPTOSIS SEL KANKER PAYUDARA T47D”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 14 Nopember 2017 sampai dengan 24 Nopember 2017

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

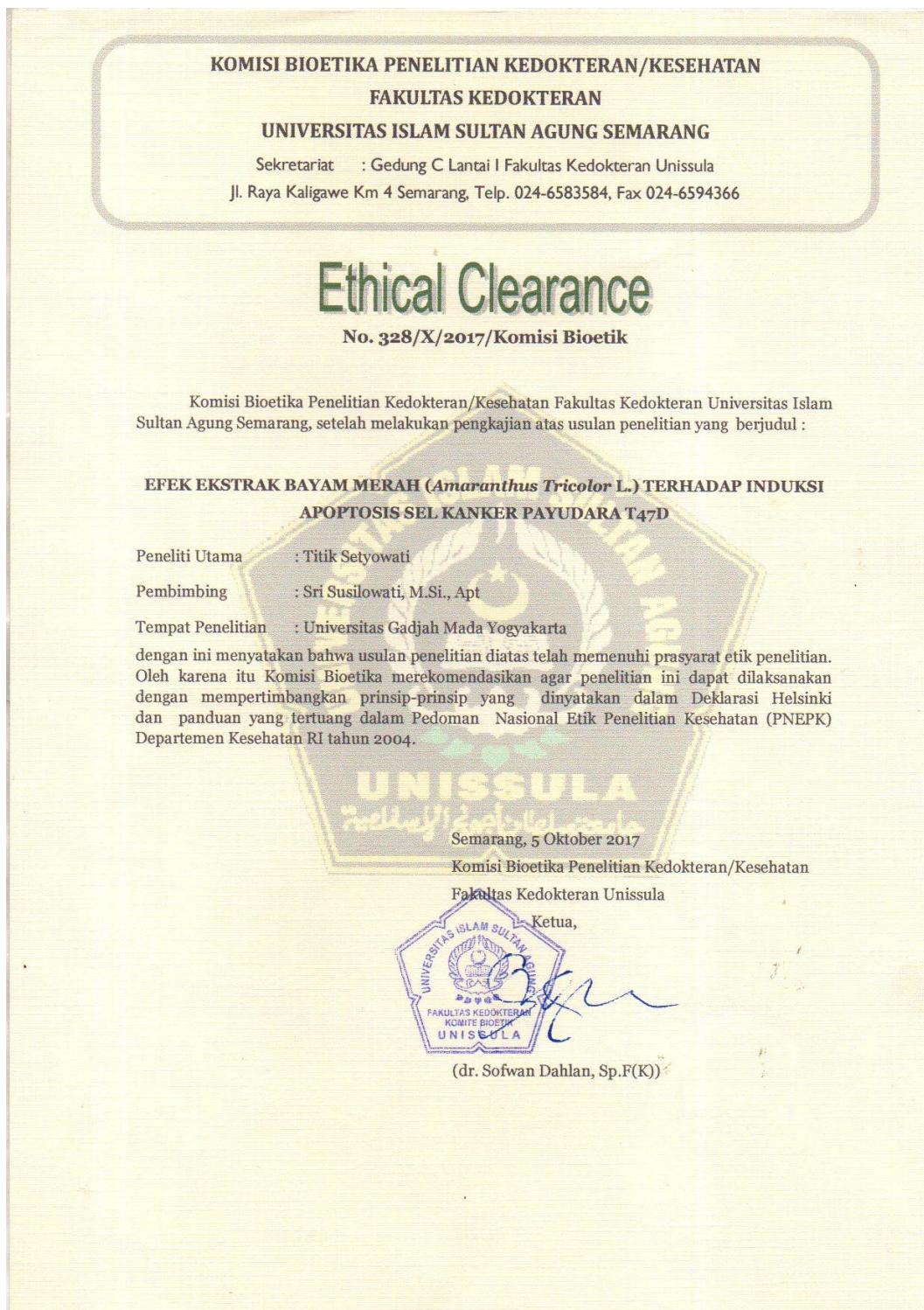
Surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 13 Pebruari 2018

Kepala,


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

Lampiran 4. Ethical Clearance



Lampiran 5. Hasil Rendemen

Perhitungan Rendemen Ekstrak Air Bayam Merah

$$\text{Rendemen Hasil} = \frac{\text{Bobot ekstrak yang di dapat}}{\text{Bobot bahan yang di ekstraksi}} \times 100\%$$

$$= 70 \text{ g} / 250 \times 100 \%$$

$$= 28\%$$



Lampiran 6. Perhitungan Sel, Seri Konsentrasi Uji Sitotoksitas Ekstrak AirBayam Merah (EABM) dan Seri Konsentrasi Doktorubisin

1. Sel T47D

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel terhitung = 1.244 sel

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{\text{jumlah sel terhitung} \times \text{kepadatan sel}}{\text{kuadran}}$$

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{1.244 \times 10^4}{4} = 311 \times 10^4 \frac{\text{sel}}{\text{ml}}$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

Sel T47D untuk perlakuan = 1×10^4 sel/sumuran

Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 10000 sel

$$\text{Volume yang diambil} = \frac{\text{kepadatan sel} \times \text{sumuran}}{\text{jumlah sel dalam stok}}$$

$$\text{Volume yang diambil} = \frac{10000 \times 10^0}{311 \times 10^4} = 0,321 \text{ ml} + \text{MKad } 10 \text{ ml, diambil } 100 \mu\text{l}$$

dimasukkan dalam setiap sumuran.

2. Seri Konsentrasi EABM

a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 100.000 µg/ml

Sebanyak 11,7 mg EABM dilarutkan dalam 117 µl DMSO (10x bobot ekstak yang ditimbang) kemudian divortex hingga homogen.

$$\frac{11,7 \text{ mg}}{117 \text{ } \mu\text{l}} = \frac{11.700 \text{ } \mu\text{g}}{0,117 \text{ ml}} = 100.000 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

b. Pembuatan Seri konsentrasi

Seri konsentrasi EABM (500; 250; 125; 62,5; 31,25; µg/ml)

1. Pembuatan Seri Konsentrasi 500 µg/ml

$$\begin{aligned} V_1 \times 100.000 \text{ } \mu\text{g/ml} &= 1000 \text{ } \mu\text{l} \times 500 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ V_1 &= \frac{1000 \text{ } \mu\text{l} \times 500 \text{ } \mu\text{g/ml}}{100.000 \text{ } \mu\text{g/ml}} \end{aligned}$$

= 5 µl EBM dari 100.000 µg/ml, di + MK 995 µl dalam *conical tube*, kemudian 100 µl campuran tersebut dimasukkan dalam sumuran dan replikasi 4x.

2. Pembuatan Seri Konsentrasi 250 µg/ml

$$\begin{aligned} V_1 \times 500 \text{ } \mu\text{g/ml} &= 1000 \text{ } \mu\text{l} \times 250 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ V_1 &= \frac{1000 \text{ } \mu\text{l} \times 250 \text{ } \mu\text{g/ml}}{500 \text{ } \mu\text{g/ml}} \end{aligned}$$

= 5000 µl EABM dari konsentrasi 500 µg/ml, di + MK 500 µl dalam *conical*

tube, kemudian 100 μ l campuran tersebut dimasukkan dalam sumuran dan replikasi 4x.

3. Pembuatan Seri Konsentrasi 125 μ g/ml

$$V_1 \times 250 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1000 \text{ } \mu\text{l} \times 125 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\begin{array}{r} V_1 = 1000 \text{ } \mu\text{l} \times 125 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ \hline 250 \text{ } \mu\text{g/ml} \end{array}$$

= 500 μ l EABM dari konsentrasi 250 μ g/ml, di + MK 500 μ l dalam *conical tube*, kemudian 100 μ l campuran tersebut dimasukkan dalam sumuran dan replikasi 4x.

4. Pembuatan Seri Konsentrasi 62,5 μ g/ml

$$V_1 \times 125 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1000 \text{ } \mu\text{l} \times 62,5 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\begin{array}{r} V_1 = 1000 \text{ } \mu\text{l} \times 62,5 \text{ } \mu\text{g/ml} \\ \hline 125 \text{ } \mu\text{g/ml} \end{array}$$

= 500 μ l EABM dari konsentrasi 125 μ g/ml, di + MK 500 μ l dalam *conical tube*, kemudian 100 μ l campuran tersebut dimasukkan dalam sumuran dan replikasi 4x.

5. Pembuatan Seri Konsentrasi 31,25 μ g/ml

$$V_1 \times 62,5 \text{ } \mu\text{g/ml} = 1000 \text{ } \mu\text{l} \times 31,25 \text{ } \mu\text{g/ml}$$

$$\begin{array}{rcl} V1 & = & 1000 \mu\text{l} \times 31,25 \mu\text{g/ml} \\ & & \hline \\ & & 62,5 \mu\text{g/ml} \end{array}$$

= 500 μl EABM dari konsentrasi $62,5 \mu\text{g/ml}$,
di + MK 500 μl dalam *conical tube*,
kemudian 100 μl campuran tersebut
dimasukkan dalam sumuran dan replikasi
4x.

c. Seri Konsentrasi Doktorubisin

1. Pembuatan Stok Doktorubisin

Stok Doktorubisin dalam sediaan $10 \text{ mg}/5\text{ml} = 2 \text{ mg/ml} = 2000 \mu\text{g/ml}$

2. Pembuatan Seri Konsentrasi Doktorubisin

a. Pembuatan seri konsentrasi $100 \mu\text{g/ml}$

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

$$V1 \times 2000 \mu\text{g/ml} = 1000 \mu\text{l} \times 100 \mu\text{g/ml}$$

$V1 = 50 \mu\text{l}$. Diambil dari stok,
di + MK 950 μl

b. Pembuatan seri konsentrasi $50 \mu\text{g/ml}$

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

$$V1 \times 100 \mu\text{g/ml} = 1000 \mu\text{l} \times 50 \mu\text{g/ml}$$

$V1 = 500 \mu\text{l}$. Diambil dari kon sentrasi $100 \mu\text{g/ml}$, di+
MK 500 μl

c. Pembuatan seri konsentrasi $25 \mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 V_1 \times 50\mu\text{g/ml} &= 1000 \mu\text{l} \times 25\mu\text{g/ml} \\
 V_1 &= 500 \mu\text{l}. \text{ Diambil dari konsentrasi } 50\mu\text{g/ml, di +} \\
 &\quad \text{MK } 500 \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

d. Pembuatan seri konsentrasi 12,5 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 V_1 \times 25 \mu\text{g/ml} &= 1000 \mu\text{l} \times 12,5\mu\text{g/ml} \\
 V_1 &= 500 \mu\text{l}. \text{ Diambil dari konsentrasi } 25\mu\text{g/ml,} \\
 &\quad \text{di + MK } 500 \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

e. Pembuatan seri konsentrasi 6,25 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned}
 V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\
 V_1 \times 12,5 \mu\text{g/ml} &= 1000 \mu\text{l} \times 6,25 \mu\text{g/ml} \\
 V_1 &= 500 \mu\text{l}. \text{ Diambil dari konsentrasi } 12,5\mu\text{g/ml, di +} \\
 &\quad \text{MK } 500\mu\text{l}
 \end{aligned}$$

Lampiran 7. Penentuan % Sel Hidup Ekstrak Air Bayam Merah (EABM) dan Doksurubisin pada Sel Kanker Payudara T47D

1. Penentuan Nilai IC₅₀ EABM

Konsentrasi EEDS (μ g/ml)	Absorbansi			Rata- rata	% Sel Hidup
	1	2	3		
500	0,825	0,945	0,955	0,908	76,031
250	0,949	0,952	0,962	0,954	80,47
125	0,965	0,983	0,998	0,982	83,126
62,5	1,004	1,005	1,02	1,009	85,81
31,25	1,029	1,037	1,093	1,035	88,207
KS	1,167	1,170	1,130	1,158	
KM	0,116	0,117	0,112	0,115	

2. Analisa Probit EABM dengan spss 16 for windows.

Probability	Confidence Limits					
	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT						
0.01	2.153E7	.	.	7.333	.	.
0.02	6.562E6	.	.	6.817	.	.
0.03	3.087E6	.	.	6.490	.	.
0.04	1.751E6	.	.	6.243	.	.
0.05	1.104E6	.	.	6.043	.	.
0.06	7.453E5	.	.	5.872	.	.
0.07	5.282E5	.	.	5.723	.	.
0.08	3.881E5	.	.	5.589	.	.
0.09	2.932E5	.	.	5.467	.	.
0.1	2.265E5	.	.	5.355	.	.
0.15	77803.284	.	.	4.891	.	.
0.2	33279.005	.	.	4.522	.	.
0.25	16060.131	.	.	4.206	.	.
0.3	8348.204	.	.	3.922	.	.
0.35	4552.816	.	.	3.658	.	.
0.4	2561.073	.	.	3.408	.	.
0.45	1467.848	.	.	3.167	.	.
0.5	848.737	.	.	2.929	.	.
0.55	490.755	.	.	2.691	.	.
0.6	281.271	.	.	2.449	.	.
0.65	158.222	.	.	2.199	.	.
0.7	86.289	.	.	1.936	.	.
0.75	44.854	.	.	1.652	.	.
0.8	21.646	.	.	1.335	.	.
0.85	9.259	.	.	.967	.	.
0.9	3.180	.	.	.502	.	.
0.91	2.457	.	.	.390	.	.
0.92	1.856	.	.	.269	.	.
0.93	1.364	.	.	.135	.	.

3. Penentuan Nilai IC₅₀ Doktorubisin

Konsentrasi Doktorubisin ($\mu\text{g/ml}$)	Absorbansi			Rata-rata	% Sel Hidup
	1	2	3		
100	0,472	0,46	0,462	0,464	33,53
50	0,502	0,512	0,463	0,492	36,21
25	0,509	0,553	0,487	0,516	38,47
12,5	0,576	0,533	0,543	0,550	41,77
6,25	0,617	0,595	0,571	0,594	45,59
KS	1,167	1,170	1,130	1,158	
KM	0,116	0,117	0,112	0,115	

4. Analisis Probit Doxorubicin dengan spss 16 for windows

Probability	Confidence Limits					
	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi)		
	Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT						
0.01	1.490E9	189278.790	.	9.173	5.277	1953.400
0.02	1.379E8	57196.940	.	8.139	4.757	1694.170
0.03	3.045E7	26749.147	.	7.484	4.427	1529.698
0.04	9.774E6	15093.678	.	6.990	4.179	1405.972
0.05	3.879E6	9472.517	.	6.589	3.976	1305.331
0.06	1.766E6	6369.270	.	6.247	3.804	1219.670
0.07	8.862E5	4495.726	.	5.948	3.653	1144.562
0.08	4.779E5	3289.983	.	5.679	3.517	1077.311
0.09	2.725E5	2475.844	.	5.435	3.394	1016.150
0.1	1.625E5	1905.136	.	5.211	3.280	959.851
0.15	19108.253	640.645	.	4.281	2.807	726.761
0.2	3486.432	266.557	.	3.542	2.426	541.513
0.25	810.070	123.257	.	2.909	2.091	382.595
0.3	218.423	58.914	7.968E239	2.339	1.770	239.901
0.35	64.837	24.459	5.744E107	1.812	1.388	107.759
0.4	20.479	.000	283.975	1.311	-19.058	2.453
0.45	6.715	.000	18.506	.827	-139.539	1.267
0.5	2.241	.000	9.018	.350	-258.964	.955
0.55	.748	.000	4.887	-.126	-378.436	.689
0.6	.245	.000	2.704	-.610	-499.846	.432
0.65	.077	.000	1.487	-1.111	-625.338	.172
0.7	.023	.000	.798	-1.638	-757.592	-.098
0.75	.006	.000	.409	-2.208	-900.316	-.388
0.8	.001	.000	.195	-2.841	-1059.248	-.709
0.85	.000	.000	.083	-3.580	-1244.503	-1.083
0.9	.000	.000	.028	-4.510	-1477.598	-1.551
0.91	.000	.000	.022	-4.734	-1533.898	-1.664
0.92	.000	.000	.016	-4.978	-1595.060	-1.787
0.93	.000	.000	.012	-5.247	-1662.311	-1.922
0.94	.000	.000	.000	5.516	1777.440	2.072

Lampiran 8. Perhitungan Sel dan Konsentrasi Ekstrak Air Bayam Merah (EABM) dalam Uji induksi apoptosis Sel.

1. Sel T47D

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel terhitung = 643 sel

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{\text{jumlah sel terhitung} \times \text{kepadatan sel}}{\text{kuadran}}$$

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{643 \times 10^4}{4} = 160,75 \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

Sel T47D untuk perlakuan = 30×10^4 sel/sumuran

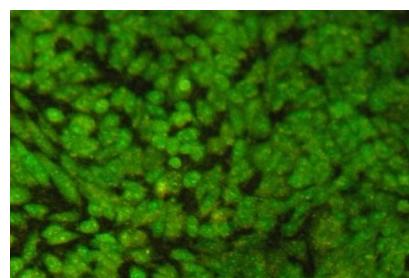
Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 300.000 sel.

$$\text{Volume yang diambil} = \frac{\text{kepadatan sel} \times \text{sumuran}}{\text{jumlah sel dalam stok}}$$

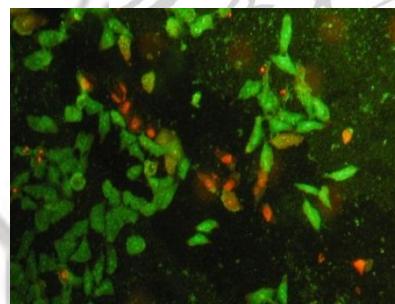
$$\text{Volume yang diambil} = \frac{300.000 \times 2}{160,75 \times 10^4} = 0,373 \text{ ml} + \text{MKad } 2 \text{ ml.}$$

Lampiran 9. Hasil Uji Induksi Apoptosis Sel T47D dari Ekstrak Air Bayam Merah (EABM)

1. Kontrol sel



2. Perlakuan Ekstrak Air Bayam Merah



Lampiran 10. Data absorbansi dengan *ELISA Reader*

Absorbance Report			
Single Wavelength			
Mes= F3, 595nm			
Incubation= OFF			
Blank Mean	0.000		
Std. Dev.	0.000		
	1	2	3
A	0.934	0.657	0.906
B	0.954	0.990	0.922
C	0.993	1.029	1.018
D	1.045	1.051	1.046
E	1.059	1.058	1.105
F	0.957	1.071	1.027
G	1.080	1.082	1.043
H	1.116	1.167	1.170
	4	5	6
A	0.915	0.825	0.983
B	0.949	0.949	0.794
C	1.017	0.965	0.983
D	1.037	1.004	1.083
E	1.083	1.029	1.037
F	1.067	1.034	0.971
G	1.087	1.041	1.077
H	1.111	1.137	1.130
	7	8	9
A	0.945	0.955	0.486
B	0.952	0.962	0.502
C	0.998	1.030	0.553
D	1.005	1.039	0.502
E	1.093	0.980	0.525
F	1.154	1.075	0.563
G	0.998	1.028	0.985
H	1.124	1.069	0.106
	10	11	12
A	0.472	0.460	0.462
B	0.513	0.517	0.463
C	0.509	0.485	0.487
D	0.576	0.533	0.543
E	0.595	0.617	0.571
F	0.571	0.551	0.554
G	0.913	0.934	0.906
H	0.116	0.117	0.112

Kontrol sel H 1,3,6

Absorbansi EABM

No 5-8

Absorbansi DOXO

No 9-12

Kontrol media

H 10-12

Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian

Penimbangan Bayam Merah



Perajangan Dan Proses Ekstraksi Bayam Merah



Frezedrying dan Hasil Ekstrak



Penimbangan Ekstrak



Media DMEM dan Reagen MTT



Penimbangan Ekstrak Untuk Uji Sitotoksik



Uji Sitotoksik Dan Uji Siklus Sel



ELISA Reader

