

LAMPIRAN



Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Mangga (*Mangifera indica* 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
<u>SURAT KETERANGAN</u>	
Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :	
Nama	: FITRIASIH
NIM	: 155010053
Fakultas / Prodi	: FARMASI
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Skripsi	: "Antarksa Aktivitas Sitotoksik dan Ekspresi Protein Baxdan Bel-2 dengan Software Image J Ekstrak Daun Mangga (<i>Mangifera indica</i> L.) pada Sel Kanker Payudara MCF-7"
Pembimbing	: -
Telah melakukan determinasi / identifikasi sampel tumbuhan (satu jenis) di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Hasil determinasi / identifikasi terlampir.	
Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.	
Semarang, April 2018 Laboratorium Ekologi Dan Biosistemik Koordinator,	
	
<u>Dr. Mochamad Hadi, M.Si.</u> 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
 Divisi : Magnoliophyta atau Spermatophyta
 Class : Magnoliopsida atau Dicotyledoneae
 Ordo : Spindales
 Famili : Anacardiaceae
 Genus : *Mangifera*
 Species : *Mangifera indica* L. (Mangga)

DETERMINASI

1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15a, Golongan 9.
 Tanaman dengan daun majemuk terletak tersebar 197b, 208b, 219b, 220b,
 224b, 225b, 227b, 229b, 230b, 234b, 235b, 236b, 237b, 238b, Famili 68 :
 Anacardiaceae 1a, 2b, Genus 1. *Mangifera* Species :
Mangifera indica L. (Mangga).

DESKRIPSI

Mangga termasuk ke dalam marga *Mangifera*, yang terdiri dari 35-40 anggota dan suku Anacardiaceae. Nama ilmiahnya adalah *Mangifera indica*. Nama ini kira-kira mengandung arti: "(pohon) yang berbuah mangga, berasal dari India". Pohon mangga termasuk tumbuhan tingkat tinggi yang struktur batangnya (*habitus*) termasuk kelompok *arboreus*, yaitu tumbuhan berkayu yang mempunyai tinggi batang lebih dari 5 m. Mangga bisa mencapai tinggi antara 10 hingga 40 m. Mangga berasal dari daerah di sekitar perbatasan India dengan Burma, mangga telah menyebar ke Asia Tenggara sekurang-kurangnya semenjak 1500 tahun yang silam. Buah ini dikenal pula dalam berbagai bahasa daerah, seperti *pelem* atau *poh* (Jw.).

Pohon mangga berperawakan besar, dapat mencapai tinggi 40 m atau lebih, meski kebanyakan mangga peliharaan hanya sekitar 10 m atau kurang. Batang mangga tegak, bercabang agak kuat; dengan daun-daun lebat membentuk tajuk yang indah berbentuk kubah, oval atau memanjang, dengan diameter sampai 10 m. Kulit batangnya tebal dan kasar dengan banyak celah-celah kecil dan sisik-sisik bekas tangkai daun.

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

Mangga berakar tunggang yang bercabang-cabang, sangat panjang hingga bisa mencapai 6 m. Akar cabang makin ke bawah semakin sedikit, paling banyak akar cabang pada kedalaman lebih kurang 30–60 cm.

Daun tunggal, dengan letak tersebar, tanpa daun penumpu. Panjang tangkai daun bervariasi dari 1,25–12,5 cm, bagian pangkalnya membesar dan pada sisi sebelah atas ada alurnya. Aturan letak daun pada batang biasanya 3/8, tetapi makin mendekati ujung, letaknya makin berdekatan sehingga tampaknya seperti dalam lingkaran (*roset*).

Helai daun bervariasi namun kebanyakan berbentuk jorong sampai lanset, 2–10 × 8–40 cm, agak liat seperti kulit, hijau tua berkilap, berpangkal melancip dengan tepi daun bergelombang dan ujung meluncip, dengan 12–30 tulang daun sekunder. Beberapa variasi bentuk daun mangga : Lonjong dan ujungnya seperti mata tombak. Berbentuk bulat telur, ujungnya runcing seperti mata tombak. Berbentuk segi empat, tetapi ujungnya runcing. Berbentuk segi empat, ujungnya membulat.

Daun yang masih muda biasanya bewarna kemerahan, keunguan atau kekuningan; yang di kemudian hari akan berubah pada bagian permukaan sebelah atas menjadi hijau mengkilat, sedangkan bagian permukaan bawah berwarna hijau muda. Umur daun bisa mencapai 1 tahun atau lebih.

Berumah satu (*monoecious*), bunga mangga merupakan bunga majemuk yang berkarang dalam malai bercabang banyak di ujung ranting. Karangan bunga biasanya berbulu, tetapi sebagian ada juga yang gundul, kuning kehijauan, sampai 40 cm panjangnya. Bunga majemuk ini terdiri dari sumbu utama yang mempunyai banyak cabang utama. Setiap cabang utama ini mempunyai banyak cabang-cabang, yakni cabang kedua. Ada kemungkinan cabang bunga kedua ini mempunyai suatu kelompok yang terdiri dari 3 bunga atau mempunyai cabang tiga. Setiap kelompok tiga bunga terdiri dari tiga kuntum bunga dan setiap kuntum bertangkai pendek dengan daun kecil. Jumlah bunga pada setiap bunga majemuk bisa mencapai 1000–6000.

Bunga-bunga dalam karangan berkelamin campuran, ada yang jantan dan ada pula yang hermafrodit (berkelamin dua). Besarnya bunga lebih kurang 6–8 mm. Bunga jantan lebih banyak daripada bunga hermafrodit, dan jumlah bunga hermafrodit inilah yang menentukan terbentuknya buah. Persentase bunga hermafrodit bermacam-macam, tergantung dari varietasnya, yaitu antara 1,25%–77,9%; sementara yang mempunyai bakal buah normal kira-kira 5–10%.

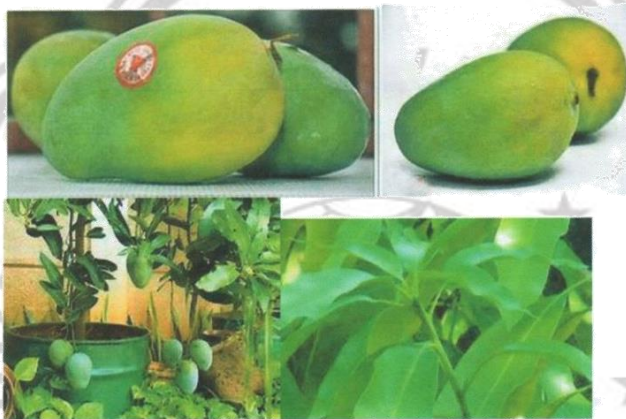
Bunga mangga biasanya bertangkai pendek, jarang sekali yang bertangkai panjang, dan berbau harum. Kelopak bunga biasanya bertaju 5; demikian juga mahkota bunga terdiri dari 5 daun bunga, tetapi kadang-kadang ada yang 4 sampai 8. Warnanya kuning pucat, sedangkan pada bagian tengah terdapat garis timbul berjumlah 3 sampai 5 yang warnanya

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

Van Steenis, 2003. Flora Untuk Sekolah di Indonesia. Terjemahan Moeso Surjowinoto.
Cetakan ke 9. PT Pradnya Paramita, Jakarta



Lampiran 2. Ethical Clearence

KOMISI BIOETIKA PENELITIAN KEDOKTERAN/KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG SEMARANG
 Sekretariat : Gedung C Lantai I Fakultas Kedokteran Unissula
 Jl. Raya Kaligawe Km 4 Semarang, Telp. 024-6583584, Fax 024-6594366

Ethical Clearance
No. 209/ IV/2018/Komisi Bioetik

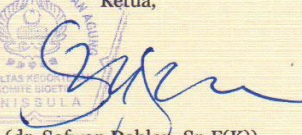
Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, setelah melakukan pengkajian atas usulan penelitian yang berjudul :

ANTARIKSA : " Aktivitas Sitotoksik dan Ekspresi Bax dan Bcl-2 dengan *Software ImageJ* Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) pada Sel Kanker Payudara MCF-7"

Peneliti Utama : Fitriasih
 Anggota : Siti Mega Komariyah
 Nenny Pratiwi

Tempat Penelitian : Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi UNWAHAS
 Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran UGM

dengan ini menyatakan bahwa usulan penelitian diatas telah memenuhi prasyarat etik penelitian. Oleh karena itu Komisi Bioetika merekomendasikan agar penelitian ini dapat dilaksanakan dengan mempertimbangkan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki dan panduan yang tertuang dalam Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI tahun 2004.

Semarang, 26 April 2018
 Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan
 Fakultas Kedokteran Unissula
 Ketua,

 (dr. Sofwan Dahlan, Sp.F(K))

**Lampiran 3. Surat Keterangan telah Melaksanakan 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.101/Lab. Biologi Farmasi/C.05/UWH/V/2018

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

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

Nama : Fitriasi (155010053)
Siti Mega (155010173)
Nenni Pratiwi (155010147)
Fakultas : Farmasi

Telah melakukan pembuatan ekstrak daun mangga dalam rangka penelitian dengan judul:
ANTARIKSA : “Aktivitas Sitotoksik dan Ekspresi Protein Bax dan Bcl-2 Dengan *Software Image*
I Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) Pada Sel Kanker Payudara MCF-7”

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, Mei 2018
Kep. Bag. Biologi Farmasi

Dewi Andini K.M., M.Farm., Apt.

**Lampiran 4. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium
Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta**



UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS KEDOKTERAN, KESEHATAN MASYARAKAT, DAN KEPERAWATAN
DEPARTEMEN PARASITOLOGI
Gedung Radiopoetro Lantai 4 Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281, Telp. (0274) 546215. Faks. 546215.
E-mail: parasitfkugm@yahoo.com

SURAT KETERANGAN

No. 060 / UN1/KU.3/PRST.2/LT/2019

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : FITRIASIH
NIM. : 155010053
Instansi: Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Semarang

Telah melakukan penelitian di Departemen Parasitologi FKMK UGM dengan judul:

“UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK DAN EKSPRESI PROTEIN BCL-2 EKSTRAK DAUN
MANGGA (*Mangifera indica* L.) PADA SEL KANKER PAYUDARA MCF-7”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.
Waktu Penelitian: 27 Desember 2018 sampai dengan 18 Januari 2019

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, 30 Januari 2019

Ketua,




Dr. Ir. Baskoro T. Satoto, MSc., PhD.
NIP. 195804121986011001.

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen Ekstrak Metanol Daun Mangga (EMDM)

Bobot serbuk daun mangga yang di gunakan 180 gram

Bobot EMDM yang diperoleh yaitu 40 gram

Perhitungan Rendemen :

$$\begin{aligned}\text{Rendemen} &= \frac{\text{Berat ekstrak kental yang diperoleh}}{\text{Berat serbuk}} \times 100\% \\ &= \frac{40 \text{ gram}}{180 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 22,22 \%\end{aligned}$$



Lampiran 6. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Metanol Daun Mangga (EMDM) untuk Uji Sitotoksik MTT Assay

1. Sel MCF-7

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel terhitung = 320 (A) dan 345 (B) sel

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{320+345}{2} \times 10^4 = 333 \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

Sel MCF-7 untuk perlakuan = 10×10^4 sel/sumuran

Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 100.000 sel

Volume yang diambil :

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 333 \times 10^4 \text{ sel/ml} &= 10 \text{ ml} \times 10 \times 10^4 \text{ sel/ml} \\ V_1 &= 0.3 \text{ ml} + \text{MK ad } 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

2. Seri Konsentrasi EMDM Perlakuan Tunggal

a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 50.000 $\mu\text{g/ml}$

Sebanyak 10 mg EMDM dilarutkan dalam 200 μl DMSO (20 x bobot ekstrak yang ditimbang) kemudian di vortex hingga homogen.

$$\frac{10 \text{ mg}}{200 \mu\text{l}} = \frac{10.000 \mu\text{g}}{0,2 \text{ ml}} = 50.000 \mu\text{g/ml}$$

b. Pembuatan Seri Konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 50.000 \mu\text{g/ml} = 1400 \mu\text{l} \times 1000 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 28 \mu\text{l EMDM dari } 50.000 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 6. Lanjutan

di + MK ad 1400 μl dalam *conical tube* kemudian
100 μl campuran tersebut diambil untuk dimasukkan
dalam sumuran (triplo).

c. Pembuatan Seri Konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$

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

$$V1 \times 1000 \mu\text{g/ml} = 1400 \mu\text{l} \times 500 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = 700 \mu\text{l EMDM dari } 1000 \mu\text{g/ml}$$

di + MK 700 μl dalam *conical tube* kemudian 100
 μl campuran tersebut diambil untuk dimasukkan
dalam sumuran (triplo).

d. Pembuatan Seri Konsentrasi 250 $\mu\text{g/ml}$

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

$$V1 \times 500 \mu\text{g/ml} = 1400 \mu\text{l} \times 250 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = 700 \mu\text{l EMDM dari } 500 \mu\text{g/ml}$$

di + MK 700 μl dalam *conical tube* kemudian 100
 μl campuran tersebut diambil untuk dimasukkan
dalam sumuran (triplo).

e. Pembuatan Seri Konsentrasi 125 $\mu\text{g/ml}$

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

$$V1 \times 250 \mu\text{g/ml} = 1400 \mu\text{l} \times 125 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = 700 \mu\text{l EMDM dari } 250 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 6. Lanjutan

di + MK 700 μl dalam *conical tube* kemudian 100 μl campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran (triplo).

f. Pembuatan Seri Konsentrasi 62,5 $\mu\text{g/ml}$

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 125 \mu\text{g/ml} = 1400 \mu\text{l} \times 62,5 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 700 \mu\text{l EMDM dari } 125 \mu\text{g/ml}$$

di + MK 700 μl dalam *conical tube* kemudian 100 μl campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran (triplo).

g. Pembuatan Seri Konsentrasi 31,25 $\mu\text{g/ml}$

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 62,5 \mu\text{g/ml} = 1400 \mu\text{l} \times 31,25 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 700 \mu\text{l EMDM dari } 62,5 \mu\text{g/ml}$$

di + MK 700 μl dalam *conical tube* kemudian 100 μl campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran (triplo).

h. Pembuatan Seri Konsentrasi 15,625 $\mu\text{g/ml}$

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$V_1 \times 31,25 \mu\text{g/ml} = 1400 \mu\text{l} \times 15,625 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = 700 \mu\text{l EMDM dari } 31,25 \mu\text{g/ml}$$

Lampiran 6. Lanjutan

di + MK 700 μ l dalam *conical tube* kemudian 100 μ l campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran (triplo).



Lampiran 7. Pengolahan data uji sitotoksik MTT Assay Ekstrak Metanol Daun Mangga (EMDM)

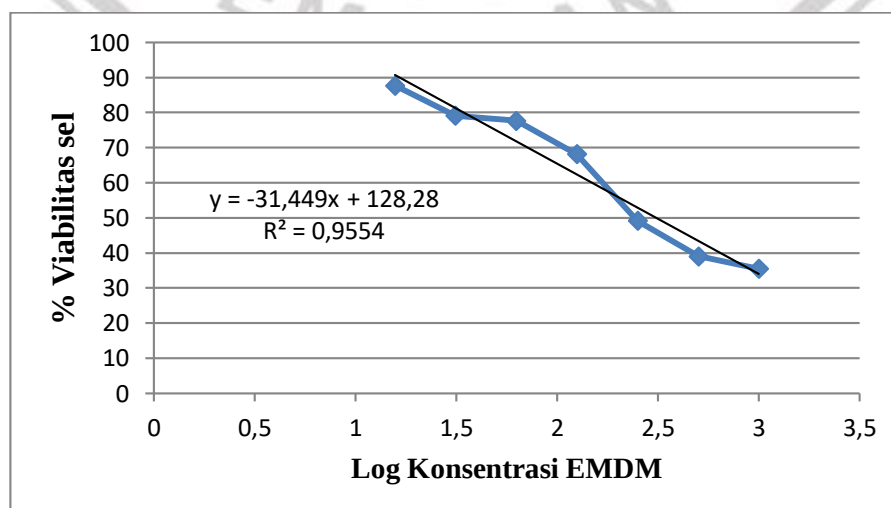
1. Kontrol Sel dan Kontrol Media

Absorbansi kontrol sel (KS)	Rata-rata absorbansi KS	Absorbansi kontrol media (KM)	Rata-rata absorbansi KM	Absorbansi KS-KM
1,096		0,115		
0,965	1,005	0,107	0.108	0.897
0,955		0,102		

2. Data viabilitas sel setelah perlakuan EMDM

Kadar $\mu\text{g/ml}$	Log Kadar	Absorbansi			% Viabilitas Sel (%VS)			Rata-rata % VS	SD
15,625	1,19	0,91	0,883	0,892	89,38	86,37	87,37	87,7	1,53
31,25	1,49	0,791	0,83	0,832	76,11	80,46	80,68	79,09	2,58
62,5	1,8	0,804	0,809	0,801	77,56	78,12	77,23	77,64	0,45
125	2,1	0,724	0,708	0,727	68,65	66,86	68,98	68,16	1,14
250	2,4	0,547	0,54	0,56	48,92	48,14	50,37	49,15	1,13
500	2,7	0,449	0,455	0,472	38	38,67	40,56	39,08	1,33
1000	3	0,454	0,382	0,444	38,56	30,53	37,44	35,51	4,35

3. Grafik% Viabilitas sel vs Log Konsentrasi EMDM



Lampiran 7. Lanjutan**4. Perhitungan IC₅₀ EMDM**

Persamaan regresi linier didapatkan :

$$y = -31,449x + 128,28 \text{ dengan } r^2 = 0,9554$$

Mencari IC₅₀ sehingga $y = 50$

$$y = -31,449x + 128,28$$

$$50 = -31,449x + 128,28$$

$$x = \frac{128,28 - 50}{31,449}$$

$$x = 2,489109352$$

$$\text{Anti Log } x = 308,39 \mu\text{g/ml}$$

Diperoleh IC₅₀ EMDM sebesar 308,39 $\mu\text{g/ml}$

Lampiran 8. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Metanol Daun Mangga (EMDM) untuk uji imunositokimia

1. Sel MCF-7

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel terhitung = 320 (A) dan 345 (B) sel

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{320+345}{2} \times 10^4 = 333 \times 10^4 \text{ sel/ml}$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

Sel MCF-7 untuk perlakuan = 5×10^4 sel/sumuran

Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 50.000 sel

Volume yang diambil :

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 333 \times 10^4 \text{ sel/ml} &= 6 \text{ ml} \times 5 \times 10^4 \text{ sel/ml} \\ V_1 &= 0.09 \text{ ml} + \text{MK ad } 6 \text{ ml} \end{aligned}$$

2. Seri Konsentrasi EMDM Perlakuan Tunggal

a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 50.000 $\mu\text{g/ml}$

Sebanyak 10 mg EMDM dilarutkan dalam 200 μl DMSO (20 x bobot ekstrak yang ditimbang) kemudian di vortex hingga homogen.

$$\frac{10 \text{ mg}}{200 \mu\text{l}} = \frac{10.000 \mu\text{g}}{0,2 \text{ ml}} = 50.000 \mu\text{g/ml}$$

b. Pembuatan Seri Konsentrasi (IC_{50}) 308 $\mu\text{g/ml}$

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 50.000 \mu\text{g/ml} &= 2000 \mu\text{l} \times 308 \mu\text{g/ml} \\ V_1 &= 12,3 \mu\text{l EMDM dari } 50.000 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Lampiran 8. Lanjutan

di + MK ad 2000 μl dalam *conical tube* kemudian
1000 μl campuran tersebut diambil untuk
dimasukkan dalam sumuran (duplo).

c. Pembuatan Seri Konsentrasi ($\frac{1}{2}\text{IC}_{50}$) 154 $\mu\text{g/ml}$

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

$$V1 \times 50.000 \mu\text{g/ml} = 3000 \mu\text{l} \times 154 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = 9,5 \mu\text{l EMDM dari } 50.000 \mu\text{g/ml}$$

di + MK ad 3000 μl dalam *conical tube* kemudian
1000 μl campuran tersebut diambil untuk
dimasukkan dalam sumuran (duplo).

d. Pembuatan Seri Konsentrasi ($\frac{1}{4}\text{IC}_{50}$) 77 $\mu\text{g/ml}$

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

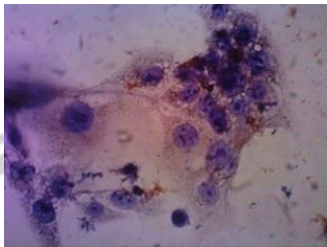
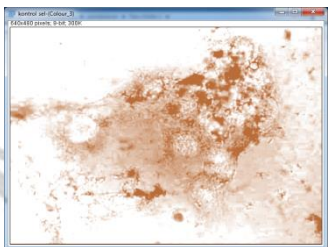
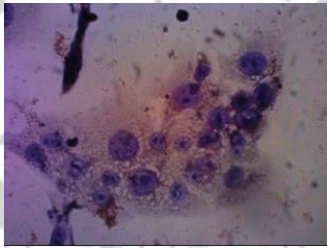
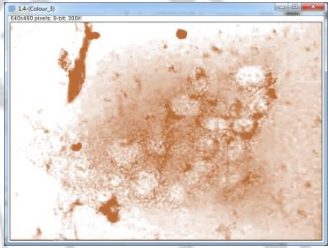
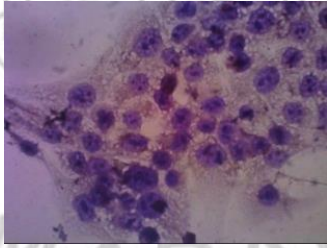
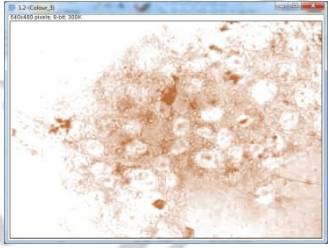
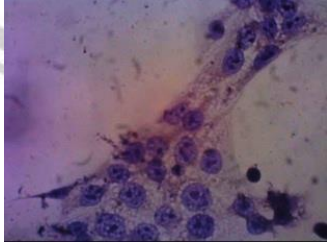
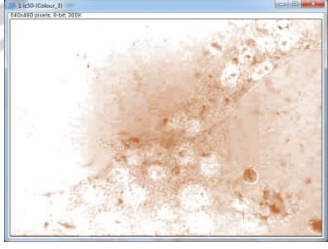
$$V1 \times 154 \mu\text{g/ml} = 2000 \mu\text{l} \times 77 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = 1000 \mu\text{l EMDM dari } 154 \mu\text{g/ml}$$

di + MK ad 2000 μl dalam *conical tube* kemudian
1000 μl campuran tersebut diambil untuk
dimasukkan dalam sumuran (duplo).

Lampiran 9. Pengolahan data hasil uji imunositoimia Ekstrak Metanol Daun Mangga (EMDM)

1. Gambar Hasil Analisis dengan Software ImageJ.

	Sebelum Analisis	Sesudah Analisis
Kontrol Sel		
$\frac{1}{4}IC_{50}$		
$\frac{1}{2} IC_{50}$		
IC_{50}		

2. Hasil % Area Ekspresi Bcl-2 dengan Software ImageJ.

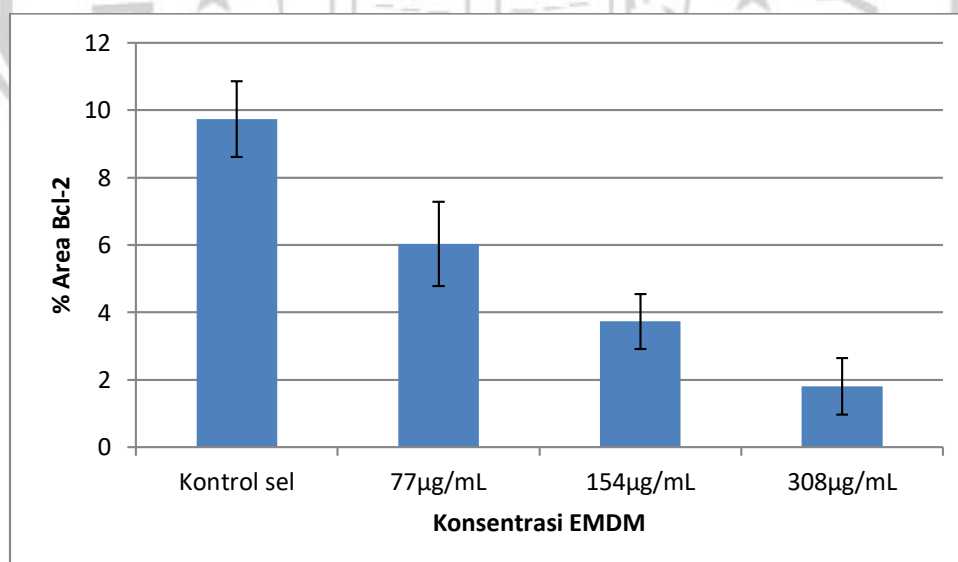
	Hasil																																				
Kontrol Sel	Result - KONTROL SEL BCL-2 (MG) <table><tr><th></th><th>Label</th><th>Area</th><th>%Area</th><th>MinThr</th><th>MaxThr</th></tr><tr><td>1</td><td>KONTROL SEL-(Colour_3):1</td><td>307200</td><td>11.496</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>2</td><td>KONTROL SEL-(Colour_3):2</td><td>307200</td><td>10.188</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>3</td><td>KONTROL SEL-(Colour_3):3</td><td>307200</td><td>9.326</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>4</td><td>KONTROL SEL-(Colour_3):4</td><td>307200</td><td>8.834</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>5</td><td>KONTROL SEL-(Colour_3):5</td><td>307200</td><td>8.834</td><td>0</td><td>255</td></tr></table>		Label	Area	%Area	MinThr	MaxThr	1	KONTROL SEL-(Colour_3):1	307200	11.496	0	255	2	KONTROL SEL-(Colour_3):2	307200	10.188	0	255	3	KONTROL SEL-(Colour_3):3	307200	9.326	0	255	4	KONTROL SEL-(Colour_3):4	307200	8.834	0	255	5	KONTROL SEL-(Colour_3):5	307200	8.834	0	255
	Label	Area	%Area	MinThr	MaxThr																																
1	KONTROL SEL-(Colour_3):1	307200	11.496	0	255																																
2	KONTROL SEL-(Colour_3):2	307200	10.188	0	255																																
3	KONTROL SEL-(Colour_3):3	307200	9.326	0	255																																
4	KONTROL SEL-(Colour_3):4	307200	8.834	0	255																																
5	KONTROL SEL-(Colour_3):5	307200	8.834	0	255																																
$\frac{1}{4}IC_{50}$	Result - 1/4 IC50 MG BCL-2 <table><tr><th></th><th>Label</th><th>Area</th><th>%Area</th><th>MinThr</th><th>MaxThr</th></tr><tr><td>1</td><td>1. 4 IC50-(Colour_3):1</td><td>307200</td><td>4.921</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>2</td><td>1. 4 IC50-(Colour_3):2</td><td>307200</td><td>4.176</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>3</td><td>1. 4 IC50-(Colour_3):3</td><td>307200</td><td>3.496</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>4</td><td>1. 4 IC50-(Colour_3):4</td><td>307200</td><td>3.110</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>5</td><td>1. 4 IC50-(Colour_3):5</td><td>307200</td><td>2.952</td><td>0</td><td>255</td></tr></table>		Label	Area	%Area	MinThr	MaxThr	1	1. 4 IC50-(Colour_3):1	307200	4.921	0	255	2	1. 4 IC50-(Colour_3):2	307200	4.176	0	255	3	1. 4 IC50-(Colour_3):3	307200	3.496	0	255	4	1. 4 IC50-(Colour_3):4	307200	3.110	0	255	5	1. 4 IC50-(Colour_3):5	307200	2.952	0	255
	Label	Area	%Area	MinThr	MaxThr																																
1	1. 4 IC50-(Colour_3):1	307200	4.921	0	255																																
2	1. 4 IC50-(Colour_3):2	307200	4.176	0	255																																
3	1. 4 IC50-(Colour_3):3	307200	3.496	0	255																																
4	1. 4 IC50-(Colour_3):4	307200	3.110	0	255																																
5	1. 4 IC50-(Colour_3):5	307200	2.952	0	255																																
$\frac{1}{2}IC_{50}$	Result - 1/2 IC50 BCL-2 <table><tr><th></th><th>Label</th><th>Area</th><th>%Area</th><th>MinThr</th><th>MaxThr</th></tr><tr><td>1</td><td>1. 2 IC50-(Colour_3):1</td><td>307200</td><td>7.884</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>2</td><td>1. 2 IC50-(Colour_3):2</td><td>307200</td><td>6.767</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>3</td><td>1. 2 IC50-(Colour_3):3</td><td>307200</td><td>5.220</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>4</td><td>1. 2 IC50-(Colour_3):4</td><td>307200</td><td>5.220</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>5</td><td>1. 2 IC50-(Colour_3):5</td><td>307200</td><td>5.056</td><td>0</td><td>255</td></tr></table>		Label	Area	%Area	MinThr	MaxThr	1	1. 2 IC50-(Colour_3):1	307200	7.884	0	255	2	1. 2 IC50-(Colour_3):2	307200	6.767	0	255	3	1. 2 IC50-(Colour_3):3	307200	5.220	0	255	4	1. 2 IC50-(Colour_3):4	307200	5.220	0	255	5	1. 2 IC50-(Colour_3):5	307200	5.056	0	255
	Label	Area	%Area	MinThr	MaxThr																																
1	1. 2 IC50-(Colour_3):1	307200	7.884	0	255																																
2	1. 2 IC50-(Colour_3):2	307200	6.767	0	255																																
3	1. 2 IC50-(Colour_3):3	307200	5.220	0	255																																
4	1. 2 IC50-(Colour_3):4	307200	5.220	0	255																																
5	1. 2 IC50-(Colour_3):5	307200	5.056	0	255																																
IC_{50}	Result - IC50 MG BCL-2 <table><tr><th></th><th>Label</th><th>Area</th><th>%Area</th><th>MinThr</th><th>MaxThr</th></tr><tr><td>1</td><td>IC50-(Colour_3):1</td><td>307200</td><td>2.707</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>2</td><td>IC50-(Colour_3):2</td><td>307200</td><td>2.659</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>3</td><td>IC50-(Colour_3):3</td><td>307200</td><td>1.582</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>4</td><td>IC50-(Colour_3):4</td><td>307200</td><td>1.269</td><td>0</td><td>255</td></tr><tr><td>5</td><td>IC50-(Colour_3):5</td><td>307200</td><td>0.839</td><td>0</td><td>255</td></tr></table>		Label	Area	%Area	MinThr	MaxThr	1	IC50-(Colour_3):1	307200	2.707	0	255	2	IC50-(Colour_3):2	307200	2.659	0	255	3	IC50-(Colour_3):3	307200	1.582	0	255	4	IC50-(Colour_3):4	307200	1.269	0	255	5	IC50-(Colour_3):5	307200	0.839	0	255
	Label	Area	%Area	MinThr	MaxThr																																
1	IC50-(Colour_3):1	307200	2.707	0	255																																
2	IC50-(Colour_3):2	307200	2.659	0	255																																
3	IC50-(Colour_3):3	307200	1.582	0	255																																
4	IC50-(Colour_3):4	307200	1.269	0	255																																
5	IC50-(Colour_3):5	307200	0.839	0	255																																

3. Perhitungan Rerata % Area Ekspresi Bcl-2.

Hasil rerata masing-masing 5 lapang pandang, kontrol sel (yang dicat dengan antibodi Bcl-2) serta perlakuan seri konsentrasi EMDM IC₅₀, ½ IC₅₀, ¼IC₅₀ hasil analisis dengan *Software ImageJ*.

Perlakuan	% Area Ekspresi Bcl-2					Rata-rata	SD
Kontrol Sel	11,496	10,188	9,326	8,834	8,834	9,736	1,129
77µg/mL	7,884	6,767	5,220	5,220	5,056	6,029	1,249
154µg/mL	4,921	4,176	3,496	3,110	2,952	3,731	0,816
308µg/mL	2,707	2,659	1,582	1,269	0,839	1,811	0,839

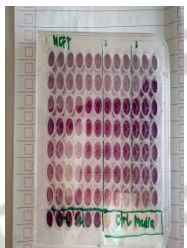
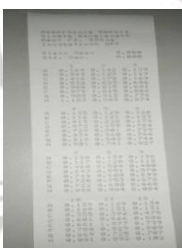
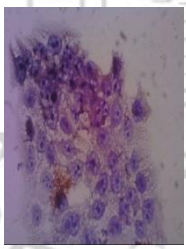
4. Grafik % Area Bcl-2 vs Konsentrasi EMDM



Lampiran 10. Dokumentasi Penelitian.

			
Panen daun mangga	Sortasi basah dan penirisan	Penimbangan	Pengovenan
			
Uji kadar air	Penimbangan serbuk kering	Proses soxhletasi	Pengentalan ekstrak
			
Penimbangan ekstrak kental soxhletasi	Pengamatan kondisi sel	Panen sel MCF-7	Pembilasan petri disk dengan PBS
			
Penambahan tripsin	Sentrifugasi	Penambahan DMSO	Vortex

Lampiran 10. Lanjutan.

 Pembuatan seri konsentrasi ekstrak	 Treatment	 Inkubator CO₂	 Penambahan reagen
 Penambahan SDS	 ELISA reader	 Print hasil absorbansi	 Preparasi sampel dan treatment uji imunositokimia
 Pewarnaan dengan Imunositokimia	 Pengambilan gambar dan analisis		