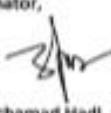


LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Terong Ungu (*Solanum melongena L.*)

 KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI UNIVERSITAS DIPONEGORO FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA LABORATORIUM EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI Jl. Prof. H. Soedarto 3/H Tembalang Semarang 50147. Telp. 024 76480923
<u>SURAT KETERANGAN</u>
Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :
<p>Nama : SHARFINA SUKMA PERMATASARI HARYONO NIM : 155010016 Fakultas/Prodi : FARMASI Perguruan Tinggi: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG Judul Penelitian : "Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (<i>Solanum melongena L.</i>) Terhadap Sitotoksitas dan Eksprasi Protein p53 pada Sel Kanker Payudara T47D" Pembimbing : -</p> <p>Telah melakukan determinasi / identifikasi satu sampel tumbuhan, di Laboratorium Ekologi dan Biosistematiska Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Hasil determinasi/identifikasi terlampir.</p> <p>Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.</p> <p style="text-align: right;">Semarang, April 2018 Laboratorium Ekologi Dan Biosistematis Koordinator,  Dr. Mochamad Hadi, M.Si. NIP. 196001081987031002</p>

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 (tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (berpembuluh)
Superdivisio	: Spermatophyta (menghasilkan biji)
Divisio	: Magnoliophyta (berbunga)
Kelas	: Dicotyledoneae
Sub-kelas	: -
Ordo	: Solanales
Famili	: Solanaceae
Genus	: Solanum
Spesies	: <i>Solanum melongena</i> L. (Terong Ungu)

Deskripsi :

Herba tegak, pada pangkal sering berkayu, tinggi 0,3-1,5 m. Batang dan tangkai daun sering keunguan, berambut bintang kelabu dan berduri tempel atau tidak. Helaian daun bulat telur, elips atau memanjang, sering dengan pangkal yang tidak sama, kebanyakan berlekuk menyirip dangkal dengan tepi berombak, jarang rata, sering berduri tempel pada tulang daun yang besar. Bunga dalam cabang berseling yang duduk, yang atas sering jantan. Kelopak bentuk lonceng, mahkota bertaju 5, sisi luar berambut, putih atau ungu, dengan bagian tengah yang kekuningan. Kepala sari kuning, bakal buah gundul. Buah buni mengangguk, bentuk

Warnanya yang menarik bisa menambah selera buat memakannya, terong ungu sering kali diolah dalam bentuk sayuran matang namun kadang juga digunakan sebagai laapan dalam bentuk segar. Warna ungu pada terong terbentuk karena adil dari zat antosianin yang merupakan pigmen pemberi warna ungu. Terong ungu kaya akan zat antosianin, sehingga warna ungunya cukup mendominasi pada terong.

Zat antosianin mampu berperan dalam menghambat oksidasi dari toksin dan juga mampu menghambat sel tumor. Bahkan dalam zat antosianin terdapat 2 komponen yaitu siandin dan delphinidin yang bermanfaat mampu mencegah pertumbuhan sel kanker. Selain zat antosianin dalam terong ungu juga terdapat ellagic acid, dimana komponen tersebut bermanfaat untuk mencegah penggumpalan darah dan mencegah tumbuhnya

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

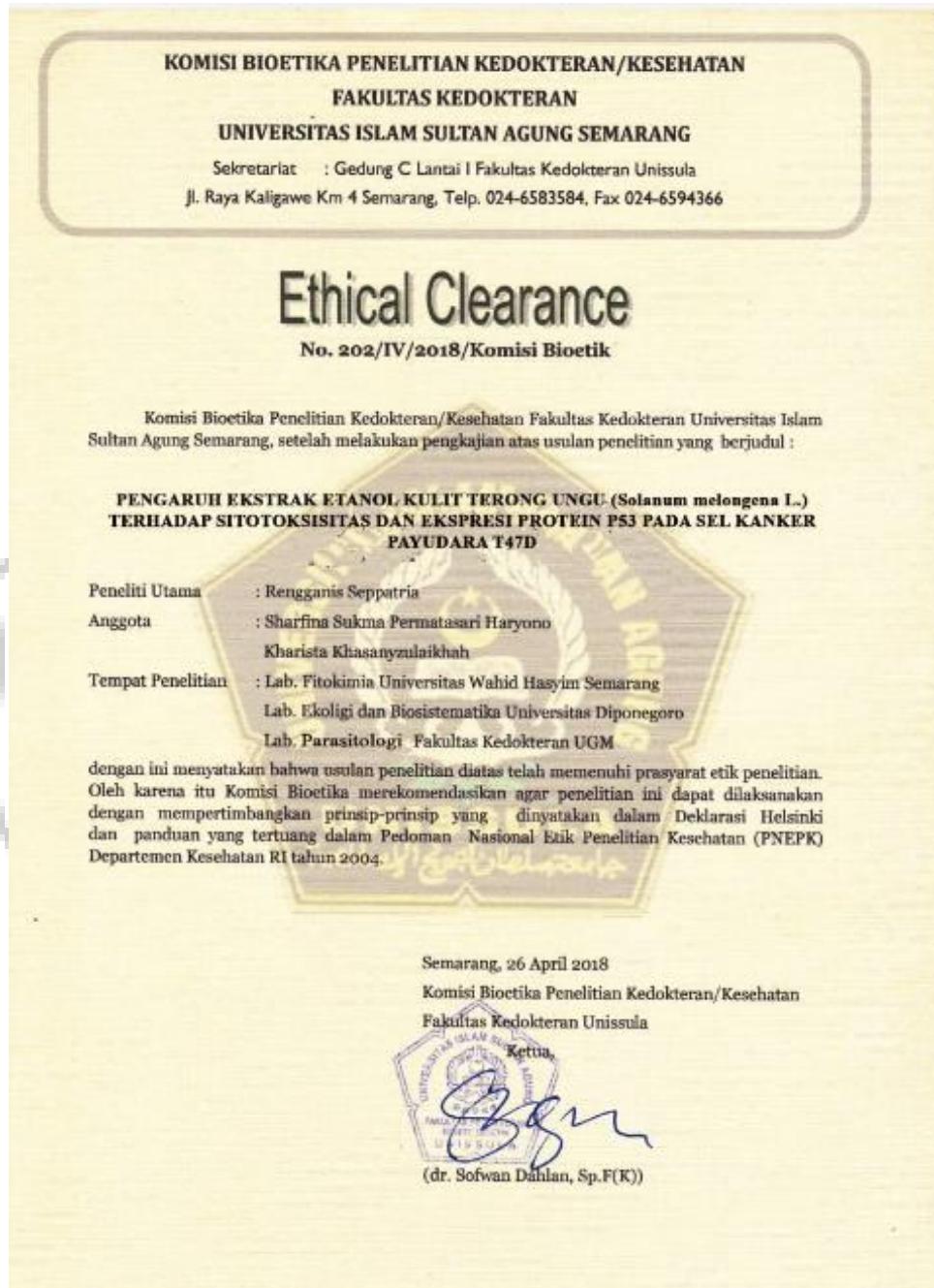
beberapa jenis tumor dan kanker seperti kanker kulit, kanker pankreas, kanker payudara, kanker pencernaan dan kanker kolon.

PUSTAKA :

Backer and van den Brink (1968) Flora of Java, Vol. I – III, Wolters – Noordhoff NV – Groningen – The Netherlands.
Van Steenis, CGJ. (1985) Flora untuk sekolah di Indonesia, terjemahan Moesa Suryowinoto, dkk PT. Pradnya Paramita Jakarta Pusat.



Lampiran 2. Ethical Clearance



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



Lampiran 4. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang



**UNIVERSITAS WAHID HASYIM
FAKULTAS FARMASI
BAGIAN BIOLOGI FARMASI**

Jl. Mawar Tengah X / 22 Semarang – Semarang 50236 Telp. (034) 8505680 – 8505681 fax. (034) 8105680

SURAT KETERANGAN

No.121/Lab. Biologi Farmasi/C.05/UWH/VII/2018

Assalamu'alaikum Wr. Wh.

Yang bertandatangan di bawah ini, Kepala Bagian Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang menegaskan halwa:

Nama : Sharifina Sukma Permatasari Haryono (155010016)
Fakultas : Farmasi

Telah melakukan pembuatan ekstrak etanol kulit terong ungu dalam rangka penelitian dengan judul: "Pengaruh Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (*Solanum malacoxylon* L.) Terhadap Sistotoksitas dan Ekspreksi Protein p53 pada Sel Kanker Payudara T47D"

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sementara.
Wassalamu'alaikum Wr. Wh.

Surat ini dibuat di Semarang, Juli 2018
Kepala Bagian Biologi Farmasi
K.M., M.Farm., Apt.

Lampiran 5. Perhitungan Sel dan Seri Konsentrasi Ekstrak Etanol Kulit Terong Ungu (EEKTU) Uji Sitotoksitas

1. Sel T47D

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel terhitung = 203 sel

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{203 \times 10^4 \text{ sel}}{1 \text{ mL}} = 2,03 \times 10^6 \text{ sel/mL}$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

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

Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 10.000 sel

$$\text{Volume yang diambil} = \frac{100 \times 10^4}{2,03 \times 10^6} = 4,9 \text{ mL} + \text{MK ad 10 mL}$$

2. Seri Konsentrasi EEKTU Perlakuan

a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 100.000 µg/mL

Sebanyak 10,4 mg EEKTU dilarutkan dalam 104 µl DMSO (10 x bobot ekstrak yang ditimbang) kemudian divortex hingga homogen.

$$\frac{10,4 \text{ mg}}{104 \mu\text{L}} \rightarrow \frac{10400 \mu\text{g}}{0,104 \text{ mL}} \rightarrow 100.000 \mu\text{g/mL}$$

b. Pembuatan Larutan Sub Stok Konsentrasi 2000 µg/mL

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

$$V1 \times 100.000 \mu\text{g/mL} = 1600 \mu\text{L} \times 2000 \mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{1600 \mu\text{L} \times 2000 \mu\text{g/mL}}{100.000 \mu\text{g/mL}}$$

$$= 32 \mu\text{L EEKTU dari } 100.000 \mu\text{g/mL di + MK ad 1000 } \mu\text{L dalam conical tube}$$

Lampiran 5. Lanjutan

c. Pembuatan Seri Konsentrasi 1000 µg/mL

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

$$V1 \times 2000 \mu\text{g/mL} = 700 \mu\text{L} \times 1000 \mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{700 \mu\text{l} \times 1000 \mu\text{g/mL}}{2000 \mu\text{g/mL}}$$

$$= 350 \mu\text{l EKKTU dari } 2000 \mu\text{g/mL}$$

di + MK ad 700 µL dalam *conical tube* kemudian

100 µL campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran dan direplikasi 6x

d. Pembuatan Seri Konsentrasi 500 µg/mL

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

$$V1 \times 2000 \mu\text{g/mL} = 700 \mu\text{L} \times 500 \mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{700 \mu\text{l} \times 500 \mu\text{g/mL}}{2000 \mu\text{g/mL}}$$

$$= 175 \mu\text{l EKKTU dari } 2000 \mu\text{g/mL}$$

di + MK ad 700 µL dalam *conical tube* kemudian

100 µL campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran dan direplikasi 6x

e. Pembuatan Seri Konsentrasi 400 µg/mL

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

$$V1 \times 2000 \mu\text{g/mL} = 700 \mu\text{l} \times 400 \mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{700 \mu\text{l} \times 400 \mu\text{g/mL}}{2000 \mu\text{g/mL}}$$

Lampiran 5. Lanjutan

= 140 μl EEKTU dari 2000 $\mu\text{g}/\text{mL}$
di + MK ad 700 μl dalam *conical tube* kemudian
100 μl campuran tersebut diambil untuk
dimasukkan dalam sumuran dan direplikasi 6x

f. Pembuatan Seri Konsentrasi 300 $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 2000 \mu\text{g}/\text{mL} &= 700 \mu\text{L} \times 300 \mu\text{g}/\text{mL} \\ V_1 &= \frac{700 \mu\text{L} \times 300 \mu\text{g}/\text{mL}}{2000 \mu\text{g}/\text{mL}} \\ &= 105 \mu\text{L} \text{ EEKTU dari } 2000 \mu\text{g}/\text{mL} \end{aligned}$$

di + MK ad 700 μL dalam *conical tube* kemudian
100 μL campuran tersebut diambil untuk
dimasukkan dalam sumuran dan direplikasi 6x

g. Pembuatan Seri Konsentrasi 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 2000 \mu\text{g}/\text{mL} &= 700 \mu\text{L} \times 200 \mu\text{g}/\text{mL} \\ V_1 &= \frac{700 \mu\text{L} \times 200 \mu\text{g}/\text{mL}}{2000 \mu\text{g}/\text{mL}} \\ &= 70 \mu\text{l} \text{ EEKTU dari } 2000 \mu\text{g}/\text{mL} \end{aligned}$$

di + MK ad 700 μL dalam *conical tube* kemudian
100 μL campuran tersebut diambil untuk
dimasukkan dalam sumuran dan direplikasi 6x

Lampiran 5. Lanjutan

h. Pembuatan Seri Konsentrasi 100 µg/ml

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

$$V1 \times 2000 \mu\text{g/ml} = 700 \mu\text{l} \times 100 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{700 \mu\text{l} \times 100 \mu\text{g/ml}}{2000 \mu\text{g/ml}}$$

= 35 µl EKKTU dari 2000 µg/ml di + MK ad 700 µl

dalam conical tube kemudian 100 µl campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran dan direplikasi 6x

i. Pembuatan Seri Konsentrasi 80 µg/ml

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

$$V1 \times 2000 \mu\text{g/ml} = 700 \mu\text{l} \times 80 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{700 \mu\text{l} \times 80 \mu\text{g/ml}}{2000 \mu\text{g/ml}}$$

= 28 µl EKKTU dari 2000 µg/ml di + MK ad 700 µl

dalam conical tube kemudian 100 µl campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran dan direplikasi 6x

Lampiran 6. Analisis Data Uji Sitotoksitas EEKTU dengan MTT Assay

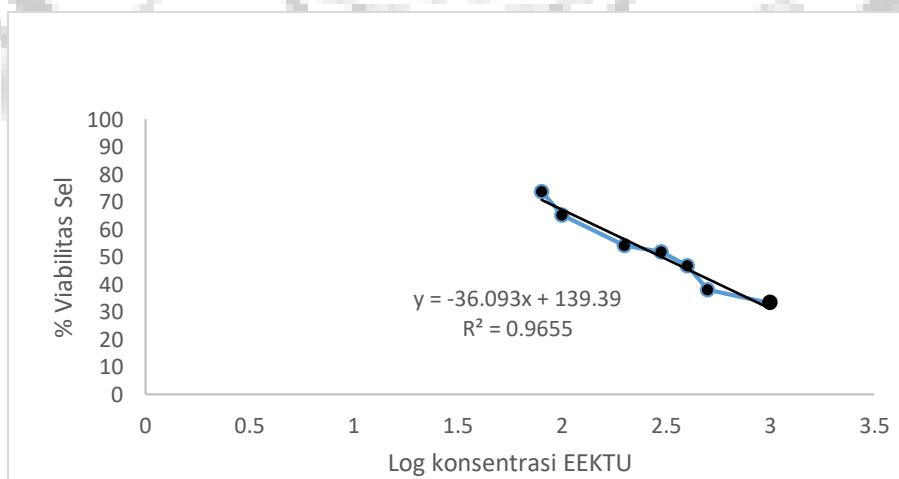
1. Kontrol Sel dan Kontrol Media

Absorbansi KS	Rata-Rata KS	Absorbansi KM	Rata-Rata KM	Absorbansi KS-KM
0,930		0,157		
0,877	0,887	0,097	0,117	0,769
0,853		0,098		

2. Data Viabilitas Sel Setelah Perlakuan EEKTU

Konsentrasi ($\mu\text{g/mL}$)	Log Konsentrasi	Absorbansi			% Viabilitas Sel (VS)			Rata- Rata VS	SD
1000	3,0	0,369	0,360	0,390	32,71	31,54	35,44	33,23	2,00
500	2,7	0,410	0,419	0,401	38,04	39,21	36,87	38,04	1,17
400	2,6	0,466	0,470	0,493	45,32	45,84	48,83	46,66	1,89
300	2,5	0,479	0,524	0,544	47,01	52,86	55,46	51,78	4,33
200	2,3	0,563	0,505	0,534	57,93	50,39	54,16	54,16	3,77
100	2,0	0,582	0,607	0,668	60,40	63,65	71,58	65,21	5,75
80	1,9	0,677	0,703	0,673	72,75	76,13	72,23	73,70	2,12

3. Grafik Hubungan Log Konsentrasi EEKTU vs % Viabilitas Sel



Lampiran 6. Lanjutan**4. Penentuan Nilai IC₅₀**

Persamaan regresi linier didapatkan:

$$y = -36,093x + 139,39 \text{ dengan nilai } R^2 = 0.9655$$

Mencari IC₅₀ sehingga Y = 50

$$50 = -36,093x + 139,39$$

$$X = \frac{50 - 139,39}{-36,093}$$

$$X = 2,476657524$$

$$\text{Anti log } x = 299,680$$

Sehingga diperoleh IC₅₀ EEKTU 299,680 µg/mL

Lampiran 7. Perhitungan Sel dan Perhitungan Konsetrasii Uji Imunositokimia

1. Sel T47D

a. Perhitungan Sel

$$\text{Jumlah sel terhitung} = 115 \text{ sel}$$

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{115 \times 10^4 \text{ sel}}{1 \text{ mL}} = 115 \times 10^4 \text{ sel/mL}$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

$$\text{Sel T47D untuk perlakuan} = 5 \times 10^4 \text{ sel/sumuran}$$

Jumlah sel yang ditanam dalam setiap sumuran adalah 50.000 sel

$$\text{Volume yang diambil} = \frac{5 \times 10^4 \times 6}{115 \times 10^4} = 0,261 \text{ mL} + \text{MK ad 6 mL}$$

2. Konsentrasi EEKTU Uji Imunositokimia

a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 100.000 µg/ml

Sebanyak 10,2 mg EEKTU dilarutkan dalam 102 µL DMSO (10 x bobot ekstrak yang ditimbang) kemudian divortex hingga homogen.

$$\frac{10,2 \text{ mg}}{102 \mu\text{L}} = \frac{10200 \mu\text{g}}{0,102 \text{ mL}} = 100.000 \mu\text{g/mL}$$

b. Pembuatan Konsentrasi dari IC₅₀ Uji Sitotoksitas

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

$$V1 \times 100.000 \mu\text{g/mL} = 2000 \mu\text{L} \times 300 \mu\text{g/mL}$$

$$V1 = \frac{2000 \mu\text{L} \times 300 \mu\text{g/mL}}{100.000 \mu\text{g/mL}}$$

$$= 6 \mu\text{L EEKTU dari } 100.000 \mu\text{g/mL di } + \text{MK ad}$$

2000 µL dalam *conical tube* kemudian 1000 µL

Lampiran 7. Lanjutan

campuran tersebut diambil untuk dimasukkan dalam sumuran.

c. Pembuatan Konsentrasi dari $\frac{1}{2}$ IC₅₀ Uji Sitotoksitas

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

$$V_1 \times 300 \mu\text{g/mL} = 2000 \mu\text{L} \times 150 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = \frac{2000 \mu\text{L} \times 150 \mu\text{g/mL}}{300 \mu\text{g/mL}}$$

$$= 1000 \mu\text{L EEKTU dari } 300 \mu\text{g/mL di + MK ad}$$

2000 μL dalam *conical tube* kemudian 1000 μL

campuran tersebut diambil untuk dimasukkan

dalam sumuran.

d. Pembuatan Konsentrasi dari $\frac{1}{4}$ IC₅₀ Uji Sitotoksitas

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

$$V_1 \times 150 \mu\text{g/mL} = 2000 \mu\text{L} \times 75 \mu\text{g/mL}$$

$$V_1 = \frac{2000 \mu\text{L} \times 75 \mu\text{g/mL}}{150 \mu\text{g/mL}}$$

$$= 1000 \mu\text{L EEKTU dari } 150 \mu\text{g/mL di + MK ad}$$

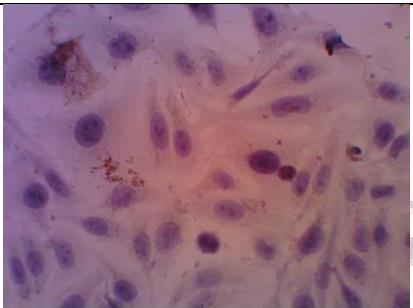
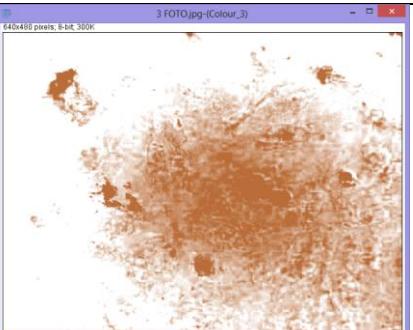
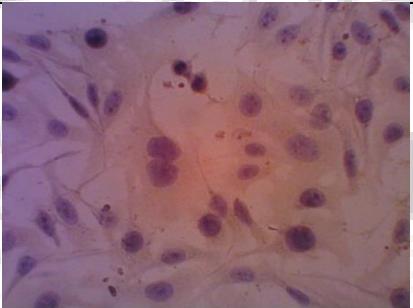
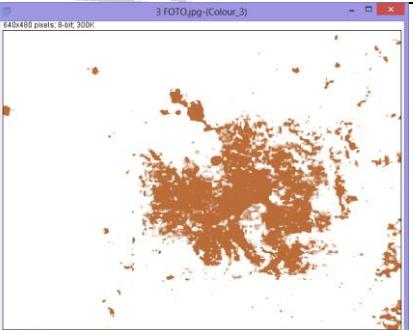
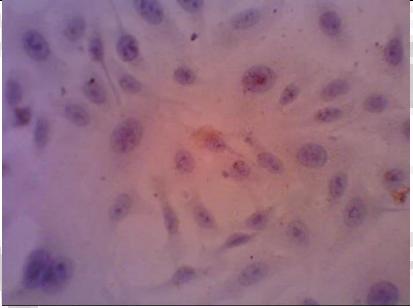
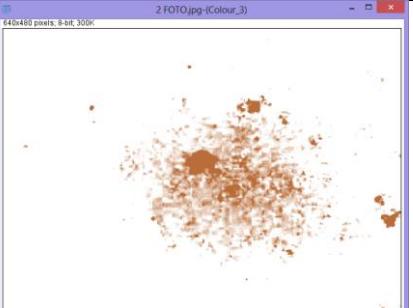
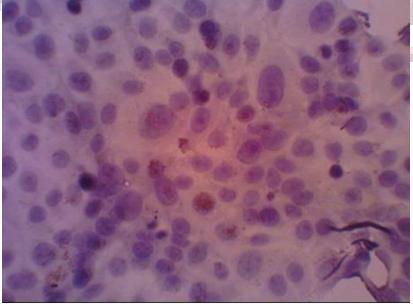
2000 μL dalam *conical tube* kemudian 1000 μL

campuran tersebut diambil untuk dimasukkan

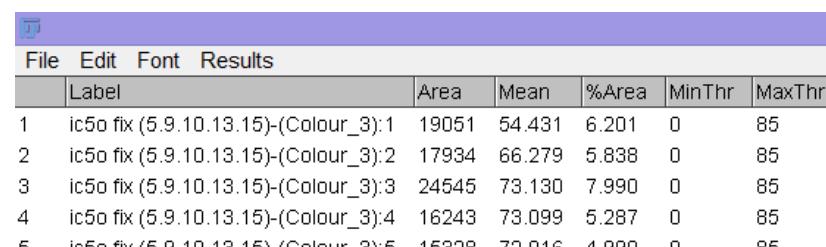
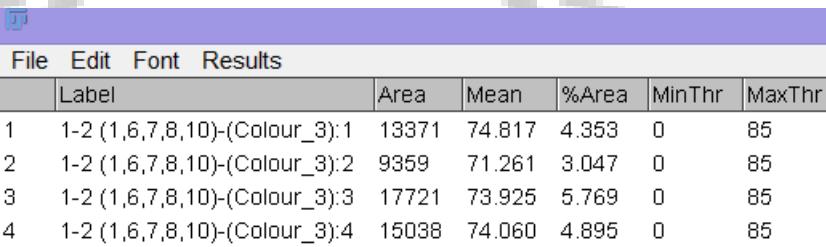
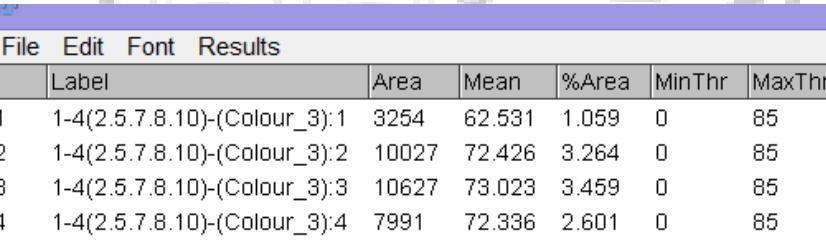
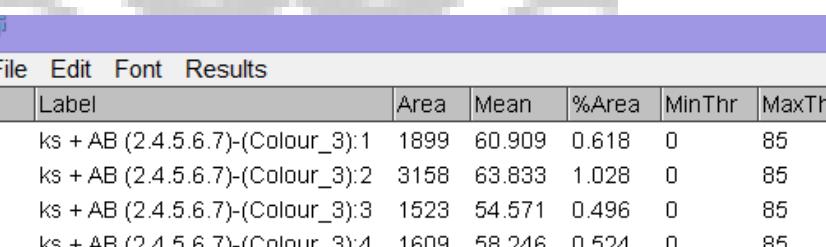
dalam sumuran.

Lampiran 8. Analisis Data Uji Imunositokimia dengan *Software ImageJ*

1. Gambar Hasil Analisis Ekspresi p53

Perlakuan	Sebelum Analisis	Sesudah Analisis
IC ₅₀		
½ IC ₅₀		
¼ IC ₅₀		
Kontrol Sel		

2. Hasil % Area Ekspresi p53

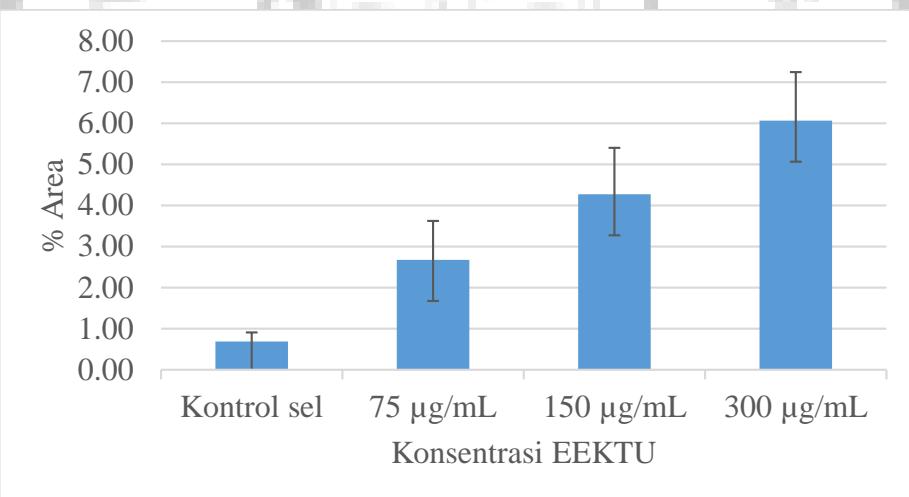
IC ₅₀	
½ IC ₅₀	
¼ IC ₅₀	
Kontrol Sel	

3. Perhitungan Rerata % Area Ekspresi p53

Hasil analisis yang dilakukan dengan menggunakan *software ImageJ* secara semi kuantitatif untuk menghitung ekspresi protein p53 dengan menghitung jumlah *pixel threshold* (area) serta *persentase pixel threshold* (% area) per satu lapang pandang. Berikut merupakan hasil yang didapatkan melalui *image quantification* dari rerata lima lapang pandang.

Perlakuan	% Area Ekspresi p53					Rerata	SD
	1	2	3	4	5		
Kontrol sel	0,496	0,524	0,618	0,795	1,028	0,69	0,22
75 µg/mL	1,059	2,601	2,958	3,264	3,459	2,67	0,96
150 µg/mL	3,047	3,257	4,353	4,895	5,769	4,26	1,14
300 µg/mL	4,99	5,287	5,838	6,201	7,99	6,06	1,18

4. Diagram % Area Ekspresi p53



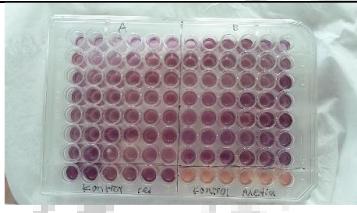
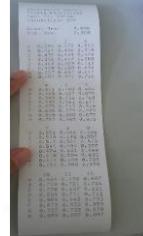
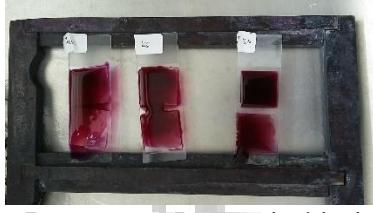
Lampiran 9. Dokumentasi Penelitian

	Pemanenan Terong Ungu		Pengupasan Kulit Terong Ungu
	Penimbangan Kulit Terong Ungu		Pencucian Kulit Terong Ungu
	Pengovenan Kulit Terong Ungu		Proses Penghalusan Kulit Terong Ungu

Lampiran 9. Lanjutan

 <p>Pengecekan Kadar Air</p>	 <p>Penimbangan Serbuk Kulit Terong Ungu</p>
 <p>Ekstraksi Ultrasonik</p>	 <p>Filtrat Hasil Ekstraksi</p>
 <p>Penyaringan Filtrat dengan Corong Buchner dan Hasilnya</p>	 <p><i>Rotary evaporator</i></p>
 <p>Penimbangan Ekstrak Kental</p>	 <p>Preparasi Sampel</p>

Lampiran 9. Lanjutan

	
Pembuatan Seri Konsentrasi Uji Sitotoksitas	Perlakuan untuk Uji Sitotoksitas
 96-well plate	 ELISA Reader
 Hasil Absorbansi ELISA Reader	 Perlakuan Imunositokimia
 Pewarnaan Imunositokimia	 6-well plate

