

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

46



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 :

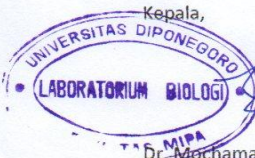
Nama	: ANI MARYAM
NIM	: 135011017
Fakultas / Prodi	: FARMASI
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Penelitian	: "Efek Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (<i>Annona muricata</i> L.) Terhadap Aktivitas Sitotoksik Doksorubisin Pada Sel Kanker Serviks Hela"
Pembimbing	: -

Telah mendeterminasikan / mengidentifikasi sampel tumbuhan (satu jenis) di
 Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Departemen Biologi Fakultas Sains dan
 Matematika UNDIP. Hasil determinasi / identifikasi terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Semarang, Maret 2017
 Laboratorium Ekologi Dan Biosistemik

Kepala,


 Dr. Mochamad Hadi, M.Si.
 NIP. 196001081987031002



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 (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.



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, anomuricin, anomurine, anonol, cacourine, 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
Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta



FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
Jl. A. Yani Tromol Pos 1 Pabelan Kartasura, Surakarta 57102
Telp. (0271) 717417 ext 2283 Faks (0271) 715448
E-mail: ums@ums.ac.id

SURAT KETERANGAN

No. 343/PA/FA-4-11/IV/2017

Yang bertanda tangan di bawah ini,

Kepala bagian Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
menerangkan dengan sesungguhnya bahwa :

Nama : Ani Maryam
Instansi : Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang
NIM : 135011017

Telah melakukan penelitian di Bagian Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi UMS
dengan judul :

“Efek Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata*.L) Terhadap Aktivitas Sitotoksik
Doksorubisin Pada Sel Kanker Serviks HeLa”

Dibawah Supervisi Laboratorium Maryati, Ph.D., Apt
Waktu Penelitian : 18 Maret 2017 sampai dengan 3 April 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.

Surakarta,
Kepala Lab. Biologi Fakultas Farmasi UMS


Maryati, Ph.D., Apt

NIK. 871

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. 023/Lab. Biologi Farmasi/C.05/UWH/IV/2017

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Bagian Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang menerangkan bahwa:

Nama : Ani Maryam
NIM : 135011017
Fakultas : Farmasi

Telah melakukan pembuatan ekstrak daun sirsak dalam rangka penelitian dengan judul :
"Efek Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Aktivitas Sitotoksik
Doksorubisin pada Sel Kanker Servik HeLa".
Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.
Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, April 2017
Kepa Bag Biologi Farmasi

Nisa Hidayati, M.Sc, Apt



Lampiran 4. Perhitungan Sel, Seri Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (EEDS), dan Seri Konsentrasi Doksorubisin Uji Sitotoksitas Perlakuan Tunggal

1. Sel HeLa

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel kamar A = 117, B = 169, C = 154, D = 97

Jumlah sel yang dihitung

$$\begin{aligned}
 &= \frac{\Sigma \text{ sel kamar A} + \Sigma \text{ sel kamar B} + \Sigma \text{ sel kamar C} + \Sigma \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4 \\
 &= \frac{117 + 169 + 154 + 97}{4} \times 10^4 \\
 &= 13.425 \times 10^5 \text{ sel}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah sel yang diperlukan} &= 5 \times 10^3 \times 100 \text{ sumuran} \\
 &= 5 \times 10^5 \text{ Sel}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Jumlah mL panen sel yang ditransfer} &= \frac{\text{Jumlah sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel yang dihitung}} \\
 &= \frac{5 \times 10^5}{13.425 \times 10^5} \\
 &= 0,372 \text{ mL} \\
 &= 0,372 \text{ mL} \sim 372 \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Total volume yang diperlukan} &= 100 \mu\text{l} \times 100 \text{ sumuran} \\
 &= 10.000 \mu\text{l} \sim 10 \text{ ml}
 \end{aligned}$$

2. Seri Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (EEDS) Perlakuan Tunggal

- a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 1000 µg/ml

Sebanyak 10 mg EEDS dilarutkan dalam 100 µl DMSO ditambahkan media ad 10 ml.

Konsentrasi stok 10 mg/10ml = 1 mg/ml = 1000 µg/ml

- b. Pembuatan Seri Konsentrasi 1000 µg/ml

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ µg/ml} &= 1 \text{ ml} \times 1000 \text{ µg/ml} \\ V_1 &= \frac{1 \text{ ml} \times 1000 \text{ µg/ml}}{1000 \text{ µg/ml}} \\ V_1 &= 1 \text{ ml} \end{aligned}$$

- c. Pembuatan Seri Konsentrasi 500 µg/ml

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 1000 \text{ µg/ml} &= 1 \text{ ml} \times 500 \text{ µg/ml} \\ V_1 &= \frac{1 \text{ ml} \times 500 \text{ µg/ml}}{1000 \text{ µg/ml}} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \sim 500 \text{ µl} \end{aligned}$$

Jadi diambil 500 µl dari seri konsentrasi 1000 µg/ml + 500 µl MK

- d. Pembuatan Seri Konsentrasi 250 µg/ml

$$\begin{aligned} V_1 \times C_1 &= V_2 \times C_2 \\ V_1 \times 500 \text{ µg/ml} &= 1 \text{ ml} \times 250 \text{ µg/ml} \\ V_1 &= \frac{1 \text{ ml} \times 250 \text{ µg/ml}}{500 \text{ µg/ml}} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml} \sim 500 \text{ µl} \end{aligned}$$

Jadi diambil 500 µl dari seri konsentrasi 500 µg/ml + 500 µl MK

e. Pembuatan Seri Konsentrasi 125 µg/ml

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

$$V1 \times 250 \mu\text{g/ml} = 1 \text{ ml} \times 125 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ ml} \times 125 \mu\text{g/ml}}{250 \mu\text{g/ml}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml} \sim 500 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 500 µl dari seri konsentrasi 250 µg/ml + 500 µl MK

f. Pembuatan Seri Konsentrasi 62,5 µg/ml

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

$$V1 \times 125 \mu\text{g/ml} = 1 \text{ ml} \times 62,5 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{1 \text{ ml} \times 62,5 \mu\text{g/ml}}{125 \mu\text{g/ml}}$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml} \sim 500 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 500 µl dari seri konsentrasi 125 µg/ml + 500 µl MK

3. Seri Konsentrasi Dokсорubisin Perlakuan Tunggal

a. Sedia dalam kemasan 10 mg/5ml/vial atau sama dengan 2 mg/ml.

Sediaan 2 mg/ml ~ 2 g/L

BM dokсорubisin 579,99 g/mol (FI Edisi IV,1995)

$$\frac{2 \text{ g/ml}}{579,99 \text{ g/mol}} = 0,0034483353 \text{ mol/L} \sim 0,0034483353 \text{ M} \sim 3.4483353$$

nM

Maka 2 mg/ml dokсорubisin setara dengan 3.4483353 nM

b. Pembuatan Stok Konsentrasi 100.000 nM

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

$$V1 \times 3.4483353 \text{ nM} = 345 \mu\text{l} \times 100.000 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{345 \mu\text{l} \times 100.000 \text{ nM}}{3.4483353 \text{ nM}}$$

$$V1 = 10 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 10 μl dari sediaan 2 mg/ml + 335 μl MK

c. Pembuatan Seri Konsentrasi 500 nM

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

$$V1 \times 100.000 \text{ nM} = 1000 \mu\text{l} \times 500 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{1000 \mu\text{l} \times 500 \text{ nM}}{100.000 \text{ nM}}$$

$$V1 = 5 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 5 μl dari stok 100.000 nM + 995 μl MK

d. Pembuatan Seri Konsentrasi 250 nM

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

$$V1 \times 500 \text{ nM} = 400 \mu\text{l} \times 250 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 250 \text{ nM}}{500 \text{ nM}}$$

$$V1 = 200 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 200 μl dari stok 500 nM + 200 μl MK

e. Pembuatan Seri Konsentrasi 125 nM

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

$$V1 \times 500 \text{ nM} = 400 \mu\text{l} \times 125 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 125 \text{ nM}}{500 \text{ nM}}$$

$$V1 = 100 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 100 μl dari seri konsentrasi 500 nM + 300 μl MK

f. Pembuatan Seri Konsentrasi 62,5 nM

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

$$V1 \times 500 \text{ nM} = 400 \mu\text{l} \times 62,5 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 62,5 \text{ nM}}{500 \text{ nM}}$$

$$V1 = 50 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 50 μl dari seri konsentrasi 500 nM + 350 μl MK

g. Pembuatan Seri Konsentrasi 31,25 nM

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

$$V1 \times 500 \text{ nM} = 400 \mu\text{l} \times 31,25 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 31,25 \text{ nM}}{500 \text{ nM}}$$

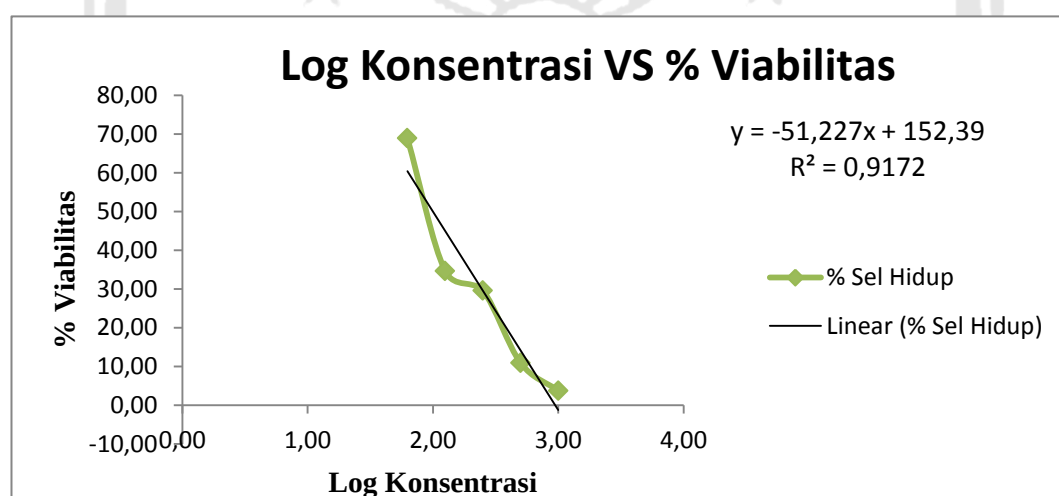
$$V1 = 25 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 25 μl dari seri konsentrasi 500 nM + 375 μl MK

Lampiran 5. Penentuan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (EEDS) dan Doksorubisin pada Sel Kanker Serviks HeLa

1. Penentuan Nilai IC₅₀ Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (EEDS)

Konsentrasi EEDS (µg/ml)	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi	Log Konsentrasi	% Viabilitas Sel
	1	2	3			
1000	0,129	0,153	0,126	0,136	3,00	3,71
500	0,201	0,211	0,170	0,194	2,70	10,89
250	0,249	0,519	0,268	0,345	2,40	29,58
125	0,346	0,386	0,425	0,386	2,10	34,65
62,5	0,681	0,805	0,503	0,663	1,80	68,94
Kontrol Sel	0,912	0,897	0,934	0,793		
Kontrol Media	0,113	0,098	0,106	0,965		



Analisis Regresi Linier dengan *Ms.Excel 2007*

$$Y = -51,227x + 152,39$$

$$R^2 = 0,9172$$

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

$$50 = -51,227x + 152,39$$

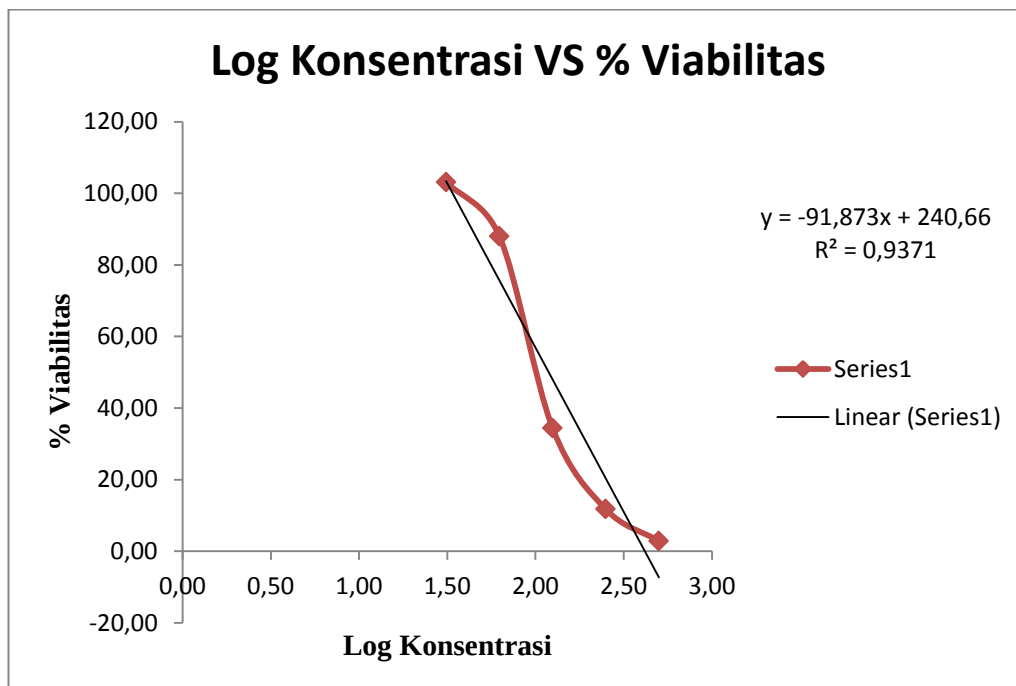
$$x = (152,39 - 50) : 51,227 = 1,998750659$$

$$\text{Antilog } 1,998750659 = 99,713 \mu\text{g/ml}$$

Sehingga diperoleh IC_{50} Ekstrak Etanolik Daun Sirsak 99,713 $\mu\text{g/ml}$

2. Penentuan Nilai IC_{50} Doksorubisin

Konsentrasi Doksorubisin (nM)	Absorbansi			Rata-rata Absorbansi	Log Konsentrasi	% Viabilitas Sel
	1	2	3			
500	0,134	0,129	0,124	0,129	2,70	2,85
250	0,212	0,179	0,213	0,201	2,40	11,76
125	0,324	0,436	0,392	0,384	2,10	34,41
62,5	0,837	0,814	0,801	0,817	1,80	88,00
31,25	0,971	0,912	0,934	0,939	1,49	103,09
Kontrol Sel	0,912	0,897	0,934	0,793		
Kontrol Media	0,113	0,098	0,106	0,965		



Analisis Regresi Linier dengan *Ms.excel 2007*

$$Y = -91,873x + 240,66$$

$$R^2 = 0,9371$$

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

$$50 = -91,873x + 240,66$$

$$x = (240,66 - 50) : 91,873 = 2,075256$$

$$\text{Antilog } 2,075256 = 118,920 \text{ nM}$$

Sehingga diperoleh IC_{50} Doksorubisin 118,920 nM

Lampiran 6. Perhitungan Sel, Seri Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak dan
Seri Konsentrasi Doksorubisin Uji Sitotoksisitas Perlakuan
Kombinasi

1. Sel HeLa

a. Perhitungan Sel

Jumlah sel kamar A = 136 ,B = 124, C = 119, D = 148

Jumlah sel yang dihitung

$$= \frac{\Sigma \text{ sel kamar A} + \Sigma \text{ sel kamar B} + \Sigma \text{ sel kamar C} + \Sigma \text{ sel kamar D}}{4} \times 10^4$$

$$= \frac{136 + 94 + 119 + 124}{4} \times 10^4$$

$$= 11.825 \times 10^5 \text{ sel}$$

Jumlah sel yang diperlukan = $5 \times 10^3 \times 100$ sumuran

$$= 5 \times 10^5$$

Jumlah mL panen sel yang ditransfer = $\frac{\text{Jumlah sel yang diperlukan}}{\text{Jumlah sel yang dihitung}}$

$$= \frac{5 \times 10^5}{11.825 \times 10^5}$$

$$= 0,423 \text{ mL} \sim 423 \mu\text{l}$$

Total volume yang diperlukan = $100 \mu\text{l} \times 100$ sumuran

$$= 10.000 \mu\text{l}$$

$$= 10 \text{ mL}$$

2. Seri Konsentrasi EEDS Perlakuan Kombinasi

- a. Pembuatan Larutan Stok Konsentrasi 1000 µg/ml

Sebanyak 10 mg EEDS dilarutkan dalam 100 µl DMSO ditambahkan media kultur ad 10 ml.

Konsentrasi stok 10 mg/10ml = 1 mg/ml = 1000 µg/ml

- b. Perhitungan Dari Perbandingan IC₅₀

IC₅₀ EEDS = 99,713 µg/ml ~ 100 µg/ml

$\frac{1}{2} \times 100 \text{ µg/ml} = 50 \text{ µg/ml} \times 2 = 100 \text{ µg/ml}$

$\frac{1}{3} \times 100 \text{ µg/ml} = 33,33 \text{ µg/ml} \times 2 = 66,66 \text{ µg/ml}$

$\frac{1}{4} \times 100 \text{ µg/ml} = 25 \text{ µg/ml} \times 2 = 50 \text{ µg/ml}$

$\frac{1}{6} \times 100 \text{ µg/ml} = 16,67 \text{ µg/ml} \times 2 = 33,34 \text{ µg/ml}$

- c. Pembuatan Seri Konsentrasi 50 µg/ml (100 µg/ml)

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

$$V1 \times 1000 \text{ µg/ml} = 1100 \text{ µl} \times 283 \text{ µg/ml}$$

$$V1 = \frac{1100 \text{ µl} \times 100 \text{ µg/ml}}{1000 \text{ µg/ml}}$$

$$V1 = 110 \text{ µl}$$

Jadi diambil 110 µl + MK 990 µl

- d. Pembuatan Seri Konsentrasi 33,33 µg/ml (66,66 µg/ml)

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

$$V1 \times 1000 \text{ µg/ml} = 1100 \text{ µl} \times 66,66 \text{ µg/ml}$$

$$V1 = \frac{1100 \text{ µl} \times 66,66 \text{ µg/ml}}{1000 \text{ µg/ml}}$$

$$V1 = 73,326 \sim 73 \text{ µl}$$

Jadi diambil 73 µl + MK 1027 µl

- e. Pembuatan Seri Konsentrasi 25 µg/ml (50 µg/ml)

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

$$V1 \times 1000 \mu\text{g/ml} = 1100 \mu\text{l} \times 50 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{1100 \mu\text{l} \times 50 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}}$$

$$V1 = 55 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 55 µl + MK 1045 µl

- f. Pembuatan Seri Konsentrasi 16,67 µg/ml (33,34 µg/ml)

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

$$V1 \times 1000 \mu\text{g/ml} = 1100 \mu\text{l} \times 33,34 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{1100 \mu\text{l} \times 33,34 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}}$$

$$V1 = 36,674 \sim 37 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 37 µl + MK 1063 µl

3. Seri Konsentrasi Dokсорubisin Perlakuan Kombinasi

- a. Perhitungan Dari Perbandingan IC₅₀

$$\text{IC}_{50} \text{ Dokсорubisin} = 118,920 \text{ nM} \sim 119 \text{ nM}$$

$$1/2 \times 119 \text{ nM} = 59,5 \text{ nM} \times 2 = 119 \text{ nM}$$

$$1/3 \times 119 \text{ nM} = 39,67 \text{ nM} \times 2 = 79,33 \text{ nM}$$

$$1/4 \times 119 \text{ nM} = 29,75 \text{ nM} \times 2 = 59,5 \text{ nM}$$

$$1/6 \times 119 \text{ nM} = 19,83 \text{ nM} \times 2 = 39,67 \text{ nM}$$

- b. Pembuatan Seri Konsentrasi 100.000 nM

Sedian dokсорubisin 2mg/ml setara dengan 3.4483353 nM

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

$$V1 \times 3.448.393 \text{ nM} = 345 \mu\text{l} \times 100.000 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{345 \mu\text{l} \times 100.000 \text{ nM}}{3.4483353 \text{ nM}}$$

$$V1 = 10 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 10 μl dan + MK 335 μl

c. Pembuatan Seri Konsentrasi 1000 nM

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

$$V1 \times 100.000 \text{ nM} = 500 \mu\text{l} \times 1000 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{500 \mu\text{l} \times 1000 \text{ nM}}{100000 \text{ nM}}$$

$$V1 = 5 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 5 μl dan + MK 495 μl

d. Pembuatan Seri Konsentrasi 59,5 nM (119 nM)

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

$$V1 \times 1000 \text{ nM} = 1100 \mu\text{l} \times 119 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{1100 \mu\text{l} \times 119 \text{ nM}}{1000 \text{ nM}}$$

$$V1 = 130,9 \mu\text{l} \sim 131 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 131 μl + MK 969 μl

e. Pembuatan Seri Konsentrasi 39,67 nM (79,33 nM)

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

$$V1 \times 1000 \text{ nM} = 1100 \mu\text{l} \times 79,33 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{1100 \mu\text{l} \times 79,33 \text{ nM}}{1000 \text{ nM}}$$

$$V1 = 87,263 \mu\text{l} \sim 87 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 87 μl + MK 1013 μl

f. Pembuatan Seri Konsentrasi 29,75 nM (59,5 nM)

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

$$V1 \times 1000 \text{ nM} = 1100 \mu\text{l} \times 59,5 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{1100 \mu\text{l} \times 59,5 \text{ nM}}{1000 \text{ nM}}$$

$$V1 = 65,45 \mu\text{l} \sim 65 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 65 μl + MK 1035 μl

g. Pembuatan Seri Konsentrasi 19,83 nM (39,67 nM)

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

$$V1 \times 1000 \text{ nM} = 1100 \mu\text{l} \times 39,67 \text{ nM}$$

$$V1 = \frac{1100 \mu\text{l} \times 39,67 \text{ nM}}{1000 \text{ nM}}$$

$$V1 = 43,637 \mu\text{l} \sim 44 \mu\text{l}$$

Jadi diambil 44 μl + MK 1056 μl

Lampiran 7. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak
dan Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa

Absorbansi Perlakuan Kombinasi

Konsentrasi Doksorubisin (IC ₅₀)	Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (IC ₅₀)											
	1/2 = 49,857			1/3 = 33,238			1/4 = 24,928			1/6 = 16,619		
1/2 = 59,46	0,114	0,144	0,154	0,145	0,154	0,179	0,177	0,211	0,213	0,298	0,223	0,298
1/3 = 39,64	0,136	0,123	0,159	0,16	0,167	0,181	0,184	0,179	0,181	0,221	0,231	0,197
1/4 = 29,73	0,121	0,118	0,178	0,186	0,191	0,21	0,178	0,293	0,182	0,177	0,241	0,24
1/6 = 19,82	0,13	0,11	0,176	0,169	0,161	0,171	0,217	0,257	0,202	0,252	0,245	0,243
Kontrol Sel	0,904	0,879	0,883	0,889								
Kontrol Media	0,109	0,114	0,115	0,113								

Viabilitas Sel Perlakuan Kombinasi

Konsentrasi Doksorubisin (IC ₅₀)	Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (IC ₅₀)											
	1/2			1/3			1/4			1/6		
1/2	0,13	3,99	5,28	4,12	5,28	8,51	8,25	12,63	12,89	23,84	14,18	23,84
1/3	2,96	1,29	5,93	6,06	6,96	8,76	9,15	8,51	8,76	13,92	15,21	10,82
1/4	1,03	0,64	8,38	9,41	10,05	12,50	8,38	23,20	8,89	8,25	16,49	16,37
1/6	2,19	-0,39	8,12	7,22	6,19	7,47	13,40	18,56	11,47	17,91	17,01	16,75

Rata-Rata Viabilitas Sel Perlakuan Kombinasi

Konsentrasi Doksorubisin (nM)	Rata-rata % Viabilitas Sel			
	Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (µg/ml)			
	49,86	33,24	24,93	16,62
59,46	3,14	5,97	11,25	20,62
39,64	3,39	7,26	8,81	13,32
29,73	3,35	10,65	13,49	13,70
19,82	3,31	6,96	14,48	17,23

Konsentrasi EEDS Tunggal yang Mampu Menghasilkan Respon yang Sama dengan Perlakuan Kombinasi

Konsentrasi Doksorubisin (nM)	Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (µg/ml)			
	49,86	33,24	24,93	16,62
59,46	819,57	721,51	568,99	373,51
39,64	810,13	680,91	635,18	518,63
29,73	811,70	584,58	514,64	509,69
19,82	813,26	690,17	492,28	435,06

Konsentrasi Doksorubisin Tunggal yang Mampu Menghasilkan Respon yang Sama dengan Perlakuan Kombinasi

Konsentrasi Doksorubisin (nM)	Konsentrasi Ekstrak Etanolik Daun Sirsak (µg/ml)			
	49,86	33,24	24,93	16,62
59,46	384,91	358,51	314,04	248,35
39,64	382,43	347,11	333,92	298,23
29,73	382,84	318,81	296,94	295,35
19,82	383,25	349,74	289,68	270,39

Perolehan Skor *Combination Index* (CI) Uji Sitotoksitas Kombinasi EEDS-Doksorubisin Pada Sel Kanker Serviks HeLa

Skor CI				
Konsentrasi Doksorubisin (nM)	Konsentrasi EEDS (µg/ml)			
	49,857	33,238	24,928	16,619
59,46	0,2	0,2	0,2	0,3
39,64	0,2	0,2	0,2	0,2
29,73	0,1	0,2	0,2	0,1
19,82	0,1	0,1	0,1	0,1