

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Talas (*Colocasia esculenta* L. Schott)



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

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :

Nama	: ADILA KHOIRUN NISA
NIM	: 135011063
Fakultas / Prodi	: FAKULTAS FARMASI
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Skripsi	: "Efek Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun Talas (<i>Colocasia esculenta</i> L. Schott.) Terhadap Sel Hela Melalui Induksi Apoptosis"

Telah melakukan determinasi / identifikasi sampel tumbuhan (satu jenis) di Laboratorium Ekologi dan Biosistematiكا Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika UNIVERSITAS DIPONEGORO. Hasil determinasi / identifikasi terlampir.

Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Semarang, Agustus 2017
Laboratorium Ekologi Dan Biosistematiكا
Kepala,



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 BIOSISTEMATI DEPARTEMEN BIOLOGI
 Jl. Prof. H. Soedarto SH Tembalang Semarang, 024 7474754. 024 76480923

HASIL DETERMINASI / IDENTIFIKASI

KLASIFIKASI

Kindom : Plantae
 Divisi : Magnoliophyta
 Class : Monocotiledoneae
 Ordo : Alismatales
 Famili : Araceae
 Genus : *Colocasia*
 Species : *Colocasia esculenta* (L.) Schott. (Talas)

DETERMINASI

1b, 2b, 3b, 4b, 6b, 7b, 9b, 10b, 11b, 12b, 13b, 14a, 15b,
 Golongan 9 : Tumbuhan dengan daun-daun majemuk tersebar
 197b, 208a, 209a, Famili : Araceae 1b, 2b, 3a, Genus 3 :
Colocasia Spesies : *Colocasia esculenta* L. Schott. (Talas).

DESKRIPSI

Colocasia esculenta, adalah tanaman berdaun lebar yang tumbuh di daerah tropis dari keluarga Araceae. Tanaman ini biasanya memiliki panjang daun 40 cm, tapi di tempat yang disukainya, ukuran daun bisa tumbuh lebih panjang dan lebih lebar lagi. Daun berwarna hijau terang, kadang hijau gelap,

Herba bergetah dengan batang berbentuk umbi, tinggi 0,4 – 1,5 m. Daun 2-5, tangkai daun hijau, bergaris-garis tua atau keungu-unguan, 23-150 cm, dengan pangkal berbentuk pelepah; helaian daun 6-60 kali 7-53 cm, bulat telur, ellips atau memanjang, dengan ujung meruncing; kadang-kadang ungu sekitar menancapnya tangkai; bagian bawah berkilin; taju pangkal membulat. Tongkol 2-3, dari ketiak daun, tangkai 15-60 cm. Seludang 10-30 cm panjangnya, oleh suatu penyempitan melintang dibagi menjadi 2 yang tidak sama besarnya; bagian bawah hijau, menggulung, tetap tinggal; bagian atas lebih panjang; kuning oranye, rontok. Bagian tongkol betina hijau, tercampur dengan bunga yang berkembang tak sempurna dan berwarna mentega, 1-4,5 kali lk 1 cm, di atasnya menyempit, warna mentega, dengan hanya bunga steril, bagian jantan berwarna mentega, panjang 3-6,5 cm, dengan kepala sari bersatu dalam kelompok; bagian ujung telanjang, panjang 2-5 cm. Bunga yang tumbuh tidak sempurna berbentuk gada persegi 3-5. Buah buni hijau, diameter lk 0,5 cm. Biji bentuk spul, beralur membujur. Des – Mei, Sept. Liar sampai 250 m, ditanam sampai 2.000 m; di tempat yang keadaannya lembab sampai rawa-rawa.

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

Daun berbentuk hati dengan urat yang jelas terlihat dari garis tengah bergerak ke tepi daun. Bunga berwarna putih kekuningan dan biasanya tersembunyi oleh daun, namun bunga jarang diproduksi. Di beberapa tempat, tanaman ini disebut "talas". Di daerah asalnya, Hawaii, tanaman ini ditanam secara komersial sebagai tanaman pangan. Lokasi yang paling disukai *Colocasia esculenta* "Black Magic" adalah tanah yang banyak mengandung humus, kaya organik, agak basah dan terkena sinar matahari. Di bawah sinar matahari semakin menampilkan warna terbaik bagi tanaman ini. *Colocasia* "Black Magic", juga bisa hidup di tempat yang berair, seperti kolam dan daerah yang digenangi air.

PUSTAKA :

Backer and van den Brink (1968) Flora of Java, Vol. I – III, Wolters – Noordhoff NV – Groningen – The Netherlands.

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



Lampiran 2. Surat Keterangan telah Melaksanakan Penelitian di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim



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.041/Lab. Biologi Farmasi/C.05/UWH/IX/2017

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

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

Nama : Adila Khoirun Nisa
NIM : 135011063
Fakultas : Farmasi

Telah melakukan pembuatan ekstrak daun talas dalam rangka penelitian dengan judul: "Efek Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun Talas (*Colacasia esculenta* L. Schott) Terhadap Sel Hela Melalui Induksi Apoptosis".

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.



Semarang, 07 September 2017

Kepala Bagian Biologi Farmasi

Adila Khoirun Nisa Hidayati, M.Sc, Apt

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



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

SURAT KETERANGAN

No. UGM/KU/Prst/065/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 : ADILA KHOIRUN NISA
Instansi : Fakultas Farmasi
Universitas Wahid Hasyim
Semarang
NIM. : 135011063

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

“EFEK SITOTOKSIK EKSTRAK METANOL DAUN TALAS (*Colocasia esculenta L. Schott*) TERHADAP SEL HeLa MELALUI INDUKSI APOPTOSIS”

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 Baskoro T. Satoto, MSc, PhD.
NIP. 19580412 198601 1 001.

Lampiran 4. Perhitungan Rendemen Ekstrak

$$\text{Rendemen ekstrak} = \frac{\text{Bobot ekstrak kental}}{\text{Bobot simplisia kering}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen ekstrak} &= \frac{27,6 \text{ gram}}{140 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 19,71\% \end{aligned}$$



Lampiran 5. Perhitungan Uji Sitotoksitas

1. Perhitungan Sel

Jumlah sel terhitung = $76,75 \times 10^4$ sel/ml

$$= 0,76 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

2. Pembuatan Suspensi Sel

Sel MCF7 yang dibutuhkan untuk perlakuan = 1×10^4 sel/100 μ l

$$= 100.000 \text{ sel/1.000}\mu\text{l}$$

Sel yang ditransfer

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 76,75 \times 10^4 \text{ sel/ml} = 10 \text{ ml} \times 10^5 \text{ sel/ml}$$

$$V1 = \frac{10 \text{ ml} \times 10^5 \text{ sel/ml}}{76,75 \times 10^4 \text{ sel/ml}}$$

$$= \frac{10^6 \text{ sel/mL}}{76,75 \times 10^4 \text{ sel/mL}}$$

$$= 1,302 \text{ ml} + \text{MK ad } 10 \text{ ml}$$

Dimasukkan dalam setiap sumuran sebanyak 100 μ l

3. Pembuatan larutan stok (EMDT)

EMDT sebanyak 10 mg dilarutkan dengan 100 μ l DMSO di dalam eppendorf

Stok sampel = 10 mg/100 μ l DMSO

$$= 10.000 \mu\text{g/0,1 mL}$$

$$= 100.000 \mu\text{g/ml}$$

4. Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Uji

Seri konsentrasi EMDT (1000; 500;250; 125;62,5 $\mu\text{g/ml}$)

- Pembuatan Seri Konsentrasi 1000 $\mu\text{g/ml}$ dari stok 10⁵ $\mu\text{g/ml}$.

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 100.000 \mu\text{g/ml} = 1000 \mu\text{l} \times 1000\mu\text{g/ml}$$

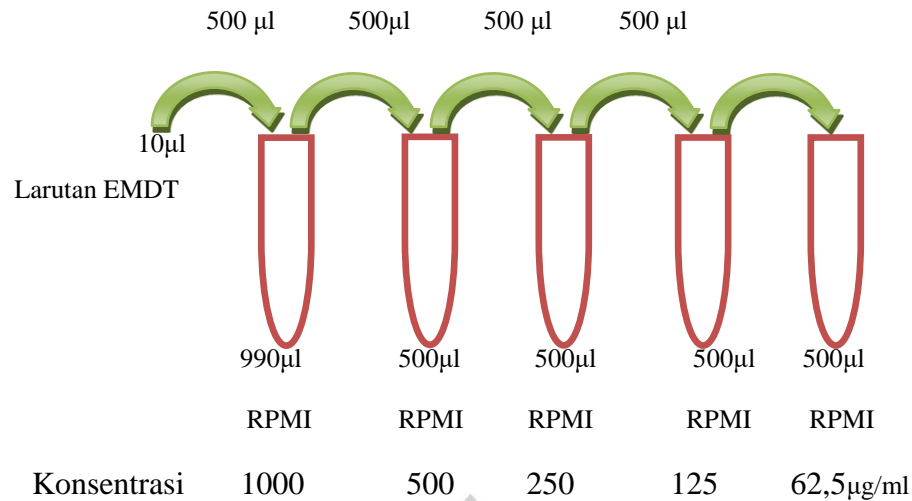
$$V1 = \frac{1000\mu\text{l} \times 1000\mu\text{g/ml}}{100.000 \mu\text{g/ml}}$$

= 10 μl diambil dari stok 100.000 $\mu\text{g/ml}$, di

+ MK990 μl dalam *conicaltube*

Pembuatan seri konsentrasi Ekstrak Metanol Daun Talas (EMDT)

No	Seri Konsentrasi	Volume
1	1000 $\mu\text{g/ml}$	10 μl EMDT + (1000 μl MK-10 μl MK)
2	500 $\mu\text{g/ml}$	500 μl dari 1000 $\mu\text{g/ml}$ + 500 μl MK
3	250 $\mu\text{g/ml}$	500 μl dari 500 $\mu\text{g/ml}$ + 500 μl MK
4	125 $\mu\text{g/ml}$	500 μl dari 250 $\mu\text{g/ml}$ + 500 μl MK
5	62,5 $\mu\text{g/ml}$	500 μl dari 125 $\mu\text{g/ml}$ + 500 μl MK



Setelah seri konsentrasi EMDT sudah siap kemudian 100 µl campuran tersebut dimasukkan dalam sumuran.

5. Pembuatan Stok Doksorubisin

Stok Doksorubisin dalam sediaan 10 mg/5 ml = 2 mg/ml = 2000 µg/ml.

BM doksorubisin 579,9802 g/mol

$$\frac{2 \text{ g/L}}{579,9802 \text{ g/mol}} = 0,003448393 \text{ mol/L} = 3.448.393 \text{ nM}$$

579,9802 g/mol

$$2 \text{ mg/ml doksorubisin} = 3.448.393 \text{ nM}$$

□□□□□ Pembuatan Seri Konsentrasi Doksorubisin

Seri konsentrasi doksorubisin (100; 50; 25; 12,5; 6,25 µg/ml)

- Pembuatan Seri Konsentrasi 100 µg/ml (172419,65 nM)

$$V_1 \times 3.3448.393 \text{ nM} = 1000 \text{ µl} \times 172419,65 \text{ nM}$$

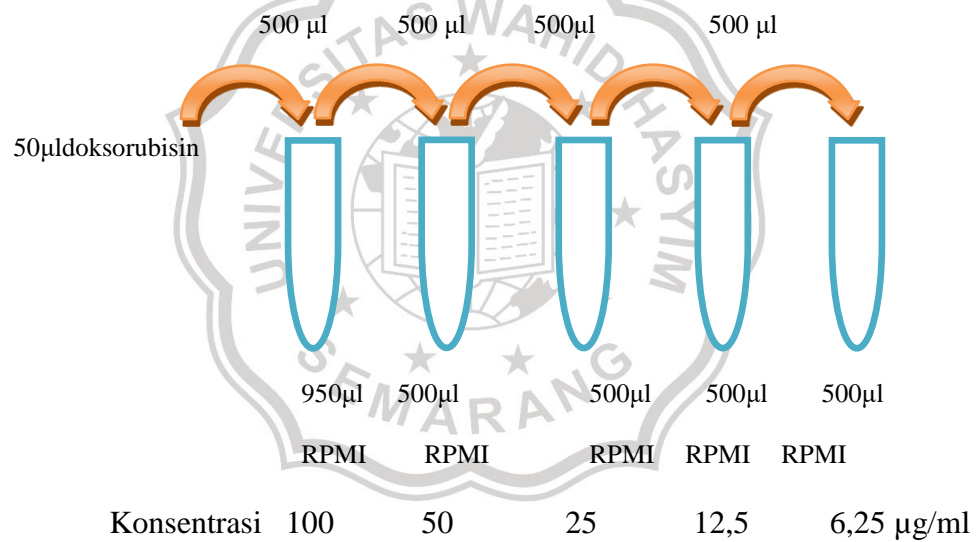
$V_1 = 50 \text{ µl}$ doksorubisin diambil dari stok

Sampel 2000 µg/ml, di + MK µl 950

Dalam *conical tube*.

Pembuatan seri konsentrasi doksorubisin.

No	Seri Konsentrasi	Volume
1	100 μ g/ml	50 μ l + (1000 μ l MK- 50 μ l MK)
2	50 μ g/ml	500 μ l dari 100 μ g/ml + 500 μ l MK
3	25 μ g/ml	500 μ l dari 50 μ g/ml + 500 μ l MK
4	12,5 μ g/ml	500 μ l dari 25 μ g/ml + 500 μ l MK
5	6,25 μ g/ml	500 μ l dari 12,5 μ g/ml + 500 μ l MK



Setelah seri konsentrasi doksorubisin sudah siap kemudian 100 μ l campuran tersebut dimasukkan dalam sumuran.

Lampiran 6. Perhitungan Uji Apoptosis

1. Perhitungan Sel

$$\begin{aligned} \text{Jumlah sel terhitung} &= 76,75 \times 10^4 \text{ sel/ml} \\ &= 0,76 \times 10^6 \text{ sel/ml} \end{aligned}$$

2. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

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

Sel yang ditransfer

$$\begin{aligned} V_1 \times N_1 &= V_2 \times N_2 \\ V_1 \times 76,75 \times 10^4 \text{ sel/ml} &= 3 \text{ ml} \times 5 \times 10^4 \text{ sel/ml} \\ V_1 &= \frac{3 \text{ ml} \times 5 \times 10^4 \text{ sel/ml}}{76,75 \times 10^4 \text{ sel/ml}} \\ &= 0,1954 \text{ ml sel} \\ &= 1954 \mu\text{l sel} + \text{MK ad } 3 \text{ ml} \end{aligned}$$

3. Pembuatan Larutan Uji

EMDT sebanyak 14,1 mg dilarutkan dengan 141 μl DMSO di dalam eppendrof

$$\begin{aligned} \text{Stok sampel} &= 14,1 \text{ mg} / 141 \mu\text{l DMSO} \\ &= 14.100 \mu\text{g} / 0,141 \text{ ml} \\ &= 100.000 \mu\text{g/ml} \end{aligned}$$

Volume ekstrak yang akan dimasukkan

$$V1 \times N1 = V2 \times N2$$

$$V1 \times 100.000 \mu\text{g/ml} = 1 \text{ ml} \times 2,156\mu\text{g/ml}$$

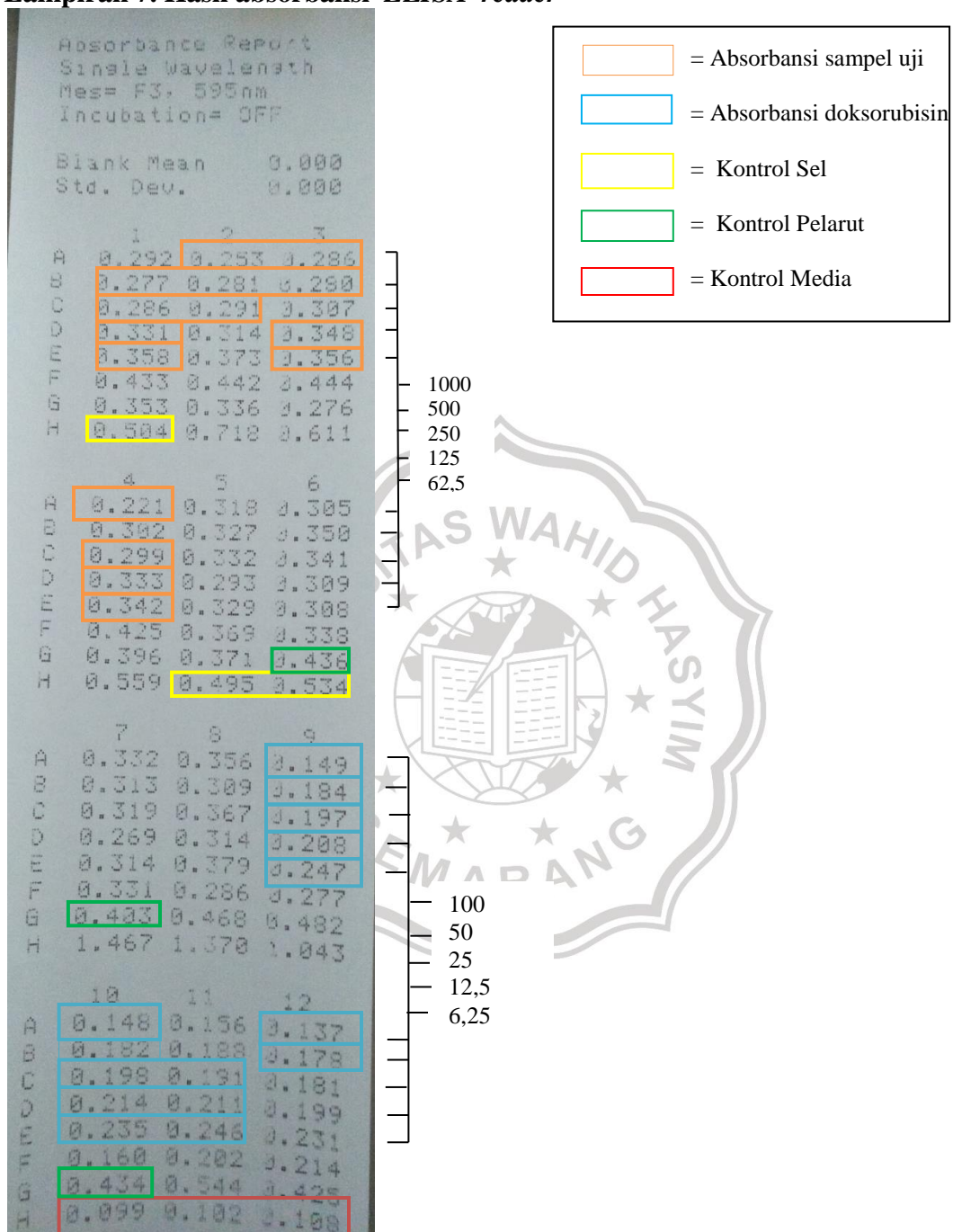
$$V1 = \frac{1 \text{ ml} \times 223,312\mu\text{g/ml}}{100.000 \mu\text{g/ml}}$$

$$= 0.223312 \text{ ml}$$

$$= 223.312\mu\text{l} + \text{MK ad } 1000 \mu\text{l}$$



Lampiran 7. Hasil absorbansi *ELISA reader*



Lampiran 8. Tabel Absorbansi Ekstrak Metanol Daun Talas dan Doxorubisin

No	Konsentrasi	Absorbansi ekstrak			Rata-rata	Kontrol media	Kontrol pelarut	Kontrol sel	% sel hidup
1	1000 μ g/ml	0,221	0,253	0,286	0,253	0,099	0,495	0,434	45.372
2	500 μ g/ml	0,28	0,281	0,277	0,279	0,102	0,504	0,436	53.220
3	250 μ g/ml	0, 299	0,291	0,307	0,299	0,108	0,534	0,43	59.155
4	125 μ g/ml	0,333	0,314	0,348	0,331	Rata-rata			69.014
5	62,5 μ g/ml	0,356	0,350	0,342	0,352	0,103	0,511	0,434	75.151

Tabel Absorbansi Doxoubisin

No	Konsentrasi	Absorbansi doxo			Rata-rata	Kontrol media	Kontrol pelarut	Kontrol sel	% sel hidup
1	100 μ g/ml	0,149	0,148	0,137	0,145	0,099	0,495	0,434	12,575
2	50 μ g/ml	0,184	0,182	0,178	0,287	0,102	0,504	0,436	23,642
3	25 μ g/ml	0, 191	0,197	0,198	0,195	0,108	0,534	0,43	27,867
4	12,5 μ g/ml	0,208	0,211	0,214	0,211	Rata-rata			32,595
5	6,25 μ g/ml	0,214	0,277	0,202	0,231	0,103	0,511	0,434	40,644

Lampiran 9. Tabel Analisis Probit Ekstrak Metanol Daun Talas dan Doxorubisin

No	Konsentrasi ekstrak	Persenselhidup (%)
1	1000 μ g/ml	45.372
2	500 μ g/ml	53.220
3	250 μ g/ml	59.155
4	125 μ g/ml	69.014
5	62,5 μ g/ml	75.151

No	Konsentrasi Doxo	Persensel hidup (%)
1	100 μ g/ml	12,575
2	50 μ g/ml	23,642
3	25 μ g/ml	27,867
4	12,5 μ g/ml	32,595
5	6,25 μ g/ml	40,644

Lampiran 10. Hasil Analisis Probit Ekstrak Metanol Daun Talas

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a konsentrasi	-.847	.920	-.921	.357	-2.650	.956
Intercept	1.990	.941	2.116	.034	1.049	2.931

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + BX$ (Covariates X are transformed using the base 10,000 logarithm.)

Chi-Square Tests

	Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	.115	2	.944 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is greater than ,500, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.



Cell Counts and Residuals

	Number	konsentrasi	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	3.000	100	45	45.487	-.115	.455
	2	2.699	100	53	52.617	.603	.526
	3	2.398	100	59	60.304	-1.149	.603
	4	2.097	100	69	68.073	.941	.681
	5	1.796	100	75	75.432	-.281	.754

Lampiran 10. Lanjutan.

Confidence Limits

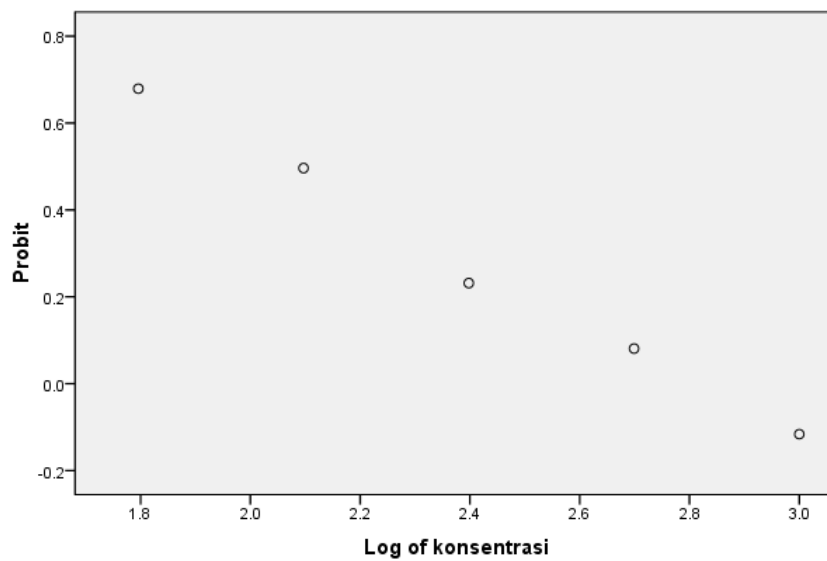
	Proba bility	95% Confidence Limits for konsentrasi			95% Confidence Limits for log(konsentrasi) ^a		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	1.244E5	.	.	5.095	.	.
	0.02	59313.571	.	.	4.773	.	.
	0.03	37067.899	.	.	4.569	.	.
	0.04	26026.711	.	.	4.415	.	.
	0.05	19520.677	.	.	4.290	.	.
	0.06	15281.451	.	.	4.184	.	.
	0.07	12329.167	.	.	4.091	.	.
	0.08	10173.177	.	.	4.007	.	.
	0.09	8541.566	.	.	3.932	.	.
	0.1	7271.999	.	.	3.862	.	.
	0.15	3735.225	.	.	3.572	.	.
	0.2	2199.687	.	.	3.342	.	.
	0.25	1396.623	.	.	3.145	.	.
	0.3	928.783	.	.	2.968	.	.
	0.35	636.421	.	.	2.804	.	.
	0.4	444.594	.	.	2.648	.	.
	0.45	314.227	.	.	2.497	.	.
	0.5	223.312	.	.	2.349	.	.
	0.55	158.702	.	.	2.201	.	.
	0.6	112.166	.	.	2.050	.	.
	0.65	78.358	.	.	1.894	.	.
	0.7	53.692	.	.	1.730	.	.
	0.75	35.706	.	.	1.553	.	.

LAMPIRAN 10. LANJUTAN

0.8	22.671		1.355
0.85	13.351		1.126
0.9	6.858		.836
0.91	5.838		.766
0.92	4.902		.690
0.93	4.045		.607
0.94	3.263		.514
0.95	2.555		.407
0.96	1.916		.282
0.97	1.345		.129
0.98	.841		-.075
0.99	.401		-.397

a. Logarithm base = 10.

Probit Transformed Responses



Lampiran 11. Hasil Analisis Probit doksorubisin.

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a konsentrasi	-.672	.396	-1.698	.090	-1.448	.104
Intercept	.316	.211	1.498	.134	.105	.527

a. PROBIT model: $\text{PROBIT}(p) = \text{Intercept} + \text{BX}$ (Covariates X are transformed using the base 10,000 logarithm.)

Chi-Square Tests

	Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	1.310	2	.520 ^b

a. Statistics based on individual cases differ from statistics based on aggregated cases.

b. Since the significance level is greater than ,500, no heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.



Cell Counts and Residuals

	Number	konsentrasi	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	2.000	100	13	15.191	-2.616	.152
	2	1.699	100	24	20.441	3.201	.204
	3	1.398	100	28	26.642	1.225	.266
	4	1.097	100	33	33.674	-1.079	.337
	5	.796	100	41	41.330	-.686	.413

LAMPIRAN 11. LANJUTAN

	Probabil ity	95% Confidence Limits for $k_{0050202021}$			95% Confidence Limits for log $k_{0050202021}^P$		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT	0.01	8542.999			3.932		
	0.02	3357.146			3.526		
	0.03	1856.114			3.269		
	0.04	1188.498			3.075		
	0.05	827.017			2.918		
	0.06	607.399			2.783		
	0.07	463.389			2.666		
	0.08	363.670			2.561		
	0.09	291.744			2.465		
	0.1	238.179			2.377		
	0.15	102.839			2.012		
	0.2	52.759			1.722		
	0.25	29.756			1.474		
	0.3	17.792			1.250		
	0.35	11.048			1.043		
	0.4	7.029			.847		
	0.45	4.538			.657		
	0.5	2.950			.470		
	0.55	1.918			.283		
	0.6	1.239			.093		
	0.65	.788			-.103		
	0.7	.489			-.310		
	0.75	.293			-.534		
	0.8	.169			-.782		

LAMPIRAN 11 LANJUTAN

0.85	.085			-1.072	
0.9	.037			-1.437	
0.91	.030			-1.525	
0.92	.024			-1.621	
0.93	.019			-1.726	
0.94	.014			-1.844	
0.95	.011			-1.978	
0.96	.007			-2.135	
0.97	.005			-2.329	
0.98	.003			-2.586	
0.99	.001			-2.992	

a. Logarithm base = 10.

