

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Rimpang Temu Kunci(*Boesenbergia pandurata*)

	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	: ANITA SUSILOWATI
NIM	: 135011022
Fakultas / Prodi	: FARMASI
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Penelitian	: "Efek Ekstrak Etanolik Rimpang Temu Kunci (<i>Boesenbergia pandurata</i>) terhadap Aktivitas Sitotoksik Doksorubisin pada Sel Kanker Servix Hela"
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, Agustus 2017

Laboratorium Ekologi Dan Biosistemik

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 BIOSISTEMATIKA DEPARTEMEN 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 : Monocotyledoneae (berkeping satu)
Sub Kelas : -
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Genus : *Boesenbergia*
Spesies : *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecht. (Temu kunci).

DETERMINASI

1b, 2b, 3b, 4b, 12b, 13b, 14b, 17b, 18b, 19b, 20b, 21b, 22b, 23b, 24b, 25b, 26b, 27a, 28b, 29b, 30b, 31a, 32a, 33b, 34a, 35b, 37b, 38b, 39b, 41b, 42b, 44b, 45b, 46e, 50b, 51b, 53b, 54b, 56b, 57b, 58b, 59d, 72b, 73b, 74a, 75b, 76b, 333b, 334b, 335a, 336a, 337b, 338a, 339b, 340b Famili 207. Zingiberaceae 1a, 2b, 6b, 7b, 8b, 10b,
Genus 11 : *Boesenbergia* 1a, Spesies : *Boesenbergia pandurata* (Roxb.) Schlecht. (Temu kunci)

DESKRIPSI

Temu kunci berperawakan herba rendah, merayap di dalam tanah. Dalam satu tahun pertumbuhannya 0,3-0,9 cm. Batangnya merupakan batang asli di dalam tanah sebagai rimpang, berwarna kuning coklat, aromatik, menebal, berukuran 5-30 x 0,5-2 cm. Batang di atas tanah berupa batang semu (pelepah daun). Daun tanaman ini pada umumnya 2-7 helai, daun bawah berupa pelepah daun berwarna merah tanpa helaian daun. Tangkai daun tanaman ini beralur, tidak berambut, panjangnya 7-16 cm, lidah-lidah berbentuk segitiga melebar, menyerupai selaput, panjang 1-1,5 cm, pelepah daun sering sama panjang dengan tangkai daun; helai daunnya tegak, bentuk lanset lebar atau agak jorong, ujung daun runcing, permukaan halus tetapi bagian bawah agak berambut terutama sepanjang pertulangan, warna helai daun hijau muda, lebarnya 5-11 cm. Bunga tanaman ini berupa susunan bulir tidak terbatas, di ketiak daun, dilindungi oleh 2 spatula, panjang tangkai 41 cm, umumnya tangkai tersembunyi dalam 2 helai daun terujung. Kelopak bunganya 3 buah lepas, runcing. Mahkota bunganya 3 buah, warnanya merah muda atau kuning-putih, berbentuk tabung 50-52 mm, bagian atas tajuk berbelah-belah, berbentuk lanset dengan lebar 4 mm dan panjang 18 mm. Benang sarinya 1 fertil

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

besar, kepala sarinya bentuk garis membuka secara memanjang. Lainnya berupa bibir-bibir (staminodia) bulat telur terbalik tumpul, merah muda atau kuning lemon, gundul, 6 pertulangan, dan ukurannya 25×7 cm. Putik bunganya berupa bakal buah 3 ruang, banyak biji dalam setiap ruang.

Tanaman ini banyak tumbuh dari daerah tropis dataran rendah. Waktu berbunganya pada bulan Januari-Februari, April-Juni. Daerah distribusi dan habitat tanaman ini adalah tumbuh liar pada dataran rendah, di hutan-hutan jati. Tanaman ini tumbuh baik pada iklim panas dan lembab pada tanah yang relatif subur dengan pertukaran udara dan tata air yang baik. Pada tanah yang kurang baik tata airnya (sering tergenang air, atau becek pertumbuhan akan terganggu dan rimpang cepat busuk). Perbanyakannya temu kunci dapat dilakukan dengan pemotongan rimpang menjadi beberapa bagian (tiap bagian terdapat paling sedikit 2 mata tunas), penanaman dilakukan pada jarak tanam 3000 cm.

Secara umum, masyarakat menggunakan rimpang temu kunci sebagai peluruh dahak atau untuk menanggulangi batuk, peluruh kentut, penambah nafsu makan, menyembuhkan sariawan, bumbu masak, dan pemacu keluarnya Air Susu Ibu (ASI). Minyak atsiri rimpang temu kunci juga berefek pada pertumbuhan *Entamoeba coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*; selain itu dapat berefek pada pelarutan batu ginjal kalsium secara in vitro. Perasan dan infusa rimpang temu kunci memiliki daya analgetik dan antipiretik. Di samping itu dapat mempunyai efek abortivum, resorpsi dan berpengaruh pada berat janin tikus. Ekstrak rimpang yang larut dalam etanol dan aseton berefek sebagai antioksidan pada percobaan dengan minyak ikan sehingga mampu menghambat proses ketengikan.

PUSTAKA :

Backer, CA, RCB Van Den Brink, 1963. Flora of Java. Volume I (III). NV. Noordhoff, Groningen, The Netherlands.



Lampiran 2. Surat Keterangan *Ethical clearance*

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. 227/VIII/2017/Komisi Bioetik

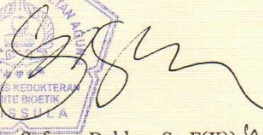
Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung Semarang, setelah melakukan pengkajian atas usulan penelitian yang berjudul :

**EFEK EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*)
 TERHADAP AKTIVITAS SITOTOKSIK DOKSORUBISIN PADA
 SEL KANKER SERVIKS HeLa**

Peneliti Utama : Anita Susilowati
 Pembimbing : Drs. Ibrahim Arifin, M.Sc., Apt
 Tempat Penelitian : Lab. Parasitologi FK Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

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, 10 Agustus 2017
 Komisi Bioetika Penelitian Kedokteran/Kesehatan
 Fakultas Kedokteran Unissula
 Ketua,


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

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



DEPARTEMEN PARASITOLOGI
FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS GADJAH MADA
 Gedung Prof. Drs. R. Radiopetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281.
 Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitfkugm@yahoo.com

SURAT KETERANGAN

No. UGM/KU/Prst/455/TL/04/03/09.17

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : ANITA SUSILOWATI
 Instansi : Fakultas Farmasi
 Universitas Wahid Hasyim Semarang
 NIM. : 135011022

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

“EFEK EKSTRAK ETANOLIK RIMPANG TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata*) TERHADAP AKTIVITAS SITOTOKSIK DOKSORUBISIN PADA SEL KANKER SERVIKS HeLa”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpPark.
 Waktu Penelitian: 28 Agustus 2017 sampai dengan 7 September 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, 7 September 2017

Kepala,


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

**Lampiran 4. 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.068/Lab. Biologi Farmasi/C.05/UWH/XI/2017

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

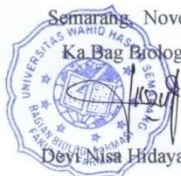
Yang bertandatangan di bawah ini, Kepala Bagian Biologi Farmasi Universitas Wahid Hasyim Semarang menerangkan bahwa:

Nama : Anita Susilowati
NIM : 135011022
Fakultas : Farmasi

Telah melakukan pembuatan ekstrak rimpang temu kunci dalam rangka penelitian dengan judul: "Efek Ekstrak Etanolik Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*) Terhadap Aktivitas Sitotoksik Doksorubisin Pada Sel Kanker Serviks Hela".

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, November 2017
Ka Bag Biologi Farmasi

Devi Nisa Hidayati, M.Sc, Apt

Lampiran 5. Perhitungan Rendemen Ekstrak Etanol Rimpang Temu Kunci

Diketahui : Bobot simplisia rimpang temu kunci = 1030 gram
Bobot ekstrak kental = 130 gram

Ditanya : Rendemen rimpang temu kunci ?

Jawab : Rendemen hasil = $\frac{\text{bobot ekstrak kental}}{\text{bobot simplisia}} \times 100 \%$
Rendemen hasil = $\frac{130 \text{ gram}}{1030 \text{ gram}} \times 100 \%$

Rendemen hasil = 12,6 %



Lampiran 6. Perhitungan Sel, Seri Konsentrasi EERTK, Doksorubisin Perlakuan Tunggal

1. Sel HeLa

Perhitungan Sel HeLa

Jumlah sel HeLa yang dihitung = 153×10^4 sel/ml

Jumlah sel HeLa yang diperlukan = $1 \times 10^4 \times 100$ sumuran

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

= $1 \times 10^4 \times 100$ sel

153×10^4 sel/ml

= 0,653 mL = 653 μ l ~ 650 μ l

Total volume yang diperlukan = 100 μ l x 100 sumuran

= 10.000 μ l ~ 10 mL

Jadi sel dipipet sebanyak 650 μ l + MK ad 10.000 μ l , transfer kedalam well plate 96 sebanyak 100 μ l persumuran.

2. Perhitungan Seri Konsentrasi EERTK Perlakuan Tunggal.

a. Pembuatan larutan stok EERTK konsentrasi 100.000 μ g/mL.

Ditimbang EERTK sebanyak 18 mg, dilarutkan dalam DMSO 100% sebanyak 180 μ l.

Konsentrasi larutan stok EERTK = 18 mg/180 μ l

= 18.000 μ g/ 0.18 mL

= 100.000 μ g/mL.

Lampiran 6. Lanjutan

b. Pembuatan seri konsentrasi EERTK

Digunakan rumus $(V_1 \times N_1) = (V_2 \times N_2)$

$$\sim 750 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 2000 \mu\text{l} \times 750 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 100.000 \mu\text{g/mL.}$$

$$V_2 = 15 \mu\text{l} + 1985 \mu\text{l MK}$$

$$\sim 500 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 500 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 750 \mu\text{g/mL.}$$

$$V_2 = 667 \mu\text{l} + 333 \mu\text{l MK}$$

$$\sim 250 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 250 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 500 \mu\text{g/mL.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 125 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 125 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 250 \mu\text{g/mL.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 62,5 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 62,5 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 125 \mu\text{g/mL.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 31,25 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 31,25 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 62,5 \mu\text{g/mL.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 15,625 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 15,625 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 31,25 \mu\text{g/mL.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

Lampiran 6.Lanjutan

3. Perhitungan Seri Konsentrasi Dokсорubisin Perlakuan Tunggal.

a. Pembuatan Larutan stock Dokсорubisin

Sediaan Dosorubisin = 2 mg/mL injeksi/vial

BM Dokсорubisin = 579,9802 g/mol

Stok Dokсорubisin= 2 mg/mL ~ 2 g/L

$$= \frac{2 \text{ g/L}}{579,9802 \text{ g/mol}}$$

579,9802 g/mol

$$= 0,003448393 \text{ mol/L} \sim 0,003448393 \text{ M}$$

$$\sim 3.448,393 \text{ nM.}$$

Jadi Dokсорubisin 2 mg/mL ~ 3448,393 nM.

b. Pembuatan seri konsentrasi Dokсорubisin 100.000 nM

Digunakan rumus $(V_1 \times N_1) = (V_2 \times N_2)$

$$\begin{aligned} \text{Larutan Stok} &= 300 \mu\text{l} \times 100.000 \text{ nM} = V_2 \times 3.448,393 \\ &= 8,69 \mu\text{l} \sim 9 \mu\text{l} + 291 \mu\text{l MK} \end{aligned}$$

Sub Stok Konsentrasi 1.000 nM

Digunakan rumus $(V_1 \times N_1) = (V_2 \times N_2)$

$$\sim 1.000 \text{ nM} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 1000 \text{ nM} = V_2 \times 100.000 \text{ nM}$$

$$V_2 = 10 \mu\text{l} + 990 \mu\text{l MK}$$

$$\sim 100 \text{ nM} \Rightarrow 1.000 \mu\text{l} \times 100 \text{ nM} = V_2 \times 1.000 \text{ nM.}$$

$$V_2 = 100 \mu\text{l} + 900 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 50 \text{ nM} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 50 \text{ nM} = V_2 \times 100 \text{ nM.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 25 \text{ nM} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 25 \text{ nM} = V_2 \times 50 \text{ nM.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 12,5 \text{ nM} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 12,5 \text{ nM} = V_2 \times 25 \text{ nM.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 6,25 \text{ nM} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 6,25 \text{ nM} = 12,5 \text{ nM.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 3,125 \text{ nM} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 3,125 \text{ nM} = V_2 \times 6,25 \text{ nM.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 1,5625 \text{ nM} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 1,5625 \text{ nM} = V_2 \times 3,125 \text{ nM.}$$

$$V_2 = 500 \mu\text{l} + 500 \mu\text{l MK.}$$



Lampiran 7. Penentuan Nilai IC₅₀ EERTK dan Doksorubisin Pada Sel Kanker Serviks HeLa.

1. Penentuan Nilai IC₅₀ EERTK

EERTK	ABSORBANSI						RATA-RATA	%VIABILITAS SEL
	1	2	3	4	5	6		
750,000	0,119	0,108	0,113	0,109			0,112	6,288
500,000	0,181	0,180	0,181	0,182			0,181	15,841
250,000	0,279	0,275	0,279	0,277			0,278	29,250
125,000	0,368	0,375	0,373	0,384			0,375	42,798
62,500	0,477	0,473	0,476	0,480			0,477	56,901
31,250	0,527	0,562	0,546	0,558			0,548	66,871
15,625	0,654	0,629	0,634	0,559			0,619	76,702
KONTROL SEL	0,82	0,792	0,777	0,751	0,78	0,8	0,787	
KONTROL MEDIA	0,062	0,063	0,065	0,068	0,072	0,072	0,067	

Lampiran 7. Hasil Perhitungan IC₅₀ EERTK Perlakuan Tunggal terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Analisa Probit dengan SPSS 16 for Windows(Lanjutan)

1. Perhitungan % viabilitas EERTK Tunggal

Rumus

$$\% \text{ viab sel} = \frac{OD \text{ sel dengan perlakuan} - OD \text{ kontrol media}}{OD \text{ kontrol sel} - OD \text{ kontrol media}} \times 100$$

Cara perhitungan % viabilitas sel adalah sebagai berikut ;

~ konsentrasi 750 (µg/ml)

$$\begin{aligned} \% \text{ viab sel} &= \frac{0,112 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100 \\ &= 6,288 \end{aligned}$$

~ konsentrasi 500(µg/ml)

$$\begin{aligned} \% \text{ viab sel} &= \frac{0,181 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100 \\ &= 15,841 \end{aligned}$$

~ konsentrasi 250 (µg/ml)

$$\begin{aligned} \% \text{ viab sel} &= \frac{0,278 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100 \\ &= 29,250 \end{aligned}$$

~ konsentrasi 125(µg/ml)

$$\begin{aligned} \% \text{ viab sel} &= \frac{0,375 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100 \\ &= 42,798 \end{aligned}$$

~ konsentrasi 62,5(µg/ml)

$$\% \text{ viab sel} = \frac{0,477 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100$$

$$= 56,901$$

Lampiran 7. Hasil Perhitungan IC₅₀ EERTK Perlakuan Tunggal terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Analisa Probit dengan SPSS 16 for Windows(Lanjutan)

~ konsentrasi 31,25(µg/ml)

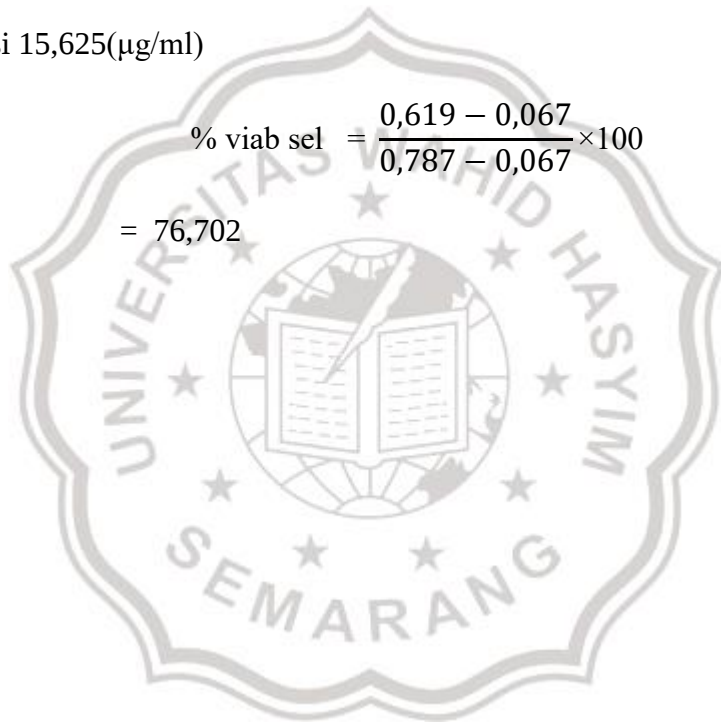
$$\% \text{ viab sel} = \frac{0,548 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100$$

$$= 66,871$$

~ konsentrasi 15,625(µg/ml)

$$\% \text{ viab sel} = \frac{0,619 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100$$

$$= 76,702$$



Lampiran 8. Hasil Probit EERTK

1. Data EERTK

Konsentrasi	Hambatan	Maksimal
750.0	6,288	100.0
500.0	15,841	100.0
250.0	29,250	100.0
125.0	42,798	100.0
62.5	56,901	100.0
31.25	66,871	100.0
15.625	76,702	100.0

2. Analisa Probit EERTK

Parameter Estimates

Parameter		Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	KONSENTRASI	-1.232	.165	-7.478	.000	-1.555	-.909
	Intercept	2.312	.240	9.650	.000	2.072	2.551

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

Lampiran 8. Lanjutan

Chi-Square Tests

		Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT	Pearson Goodness-of-Fit Test	4.367	4	.359 ^b

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

b. Since the significance level is less than ,500, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

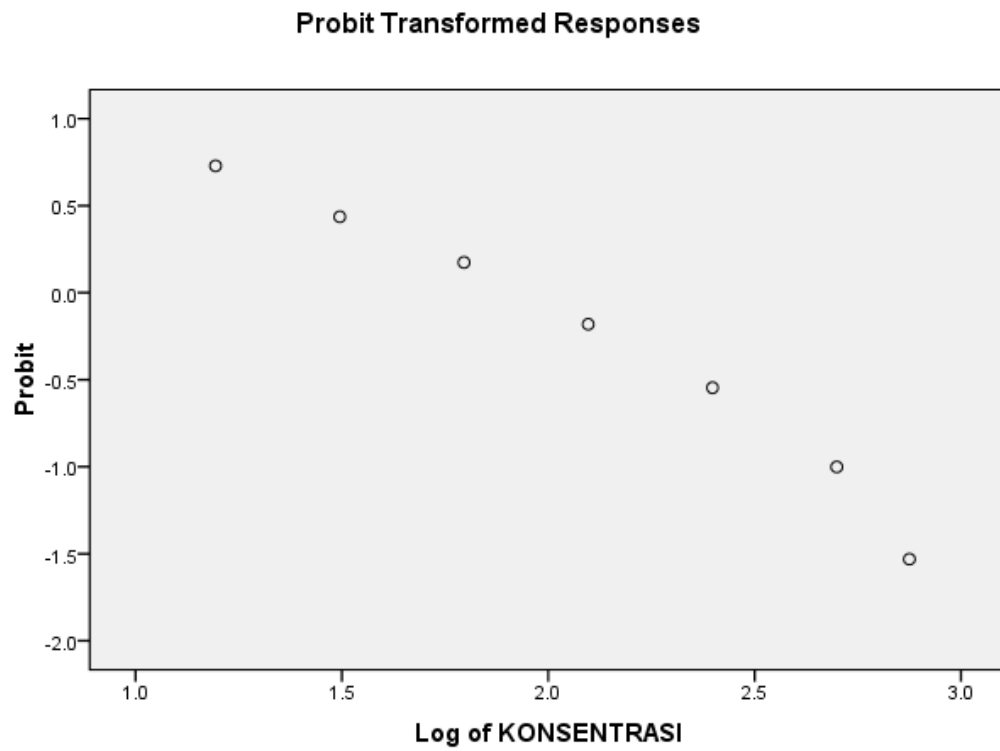
Cell Counts and Residuals

	Number	KONSENTRASI	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	2.875	100	6	10.905	-4.617	.109
	2	2.699	100	16	15.516	.325	.155
	3	2.398	100	29	25.993	3.257	.260
	4	2.097	100	43	39.259	3.539	.393
	5	1.796	100	57	53.921	2.980	.539
	6	1.495	100	67	68.062	-1.191	.681
	7	1.194	100	77	79.966	-3.264	.800

Lampiran 8. Lanjutan

	Probability	95% Confidence Limits for KONSENTRASI			95% Confidence Limits for log(KONSENTRASI) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	0.01	5799.352	1136.626	215619.836	3.763	3.056	5.334
	0.02	3484.888	782.701	94397.375	3.542	2.894	4.975
	0.03	2522.612	617.331	55929.182	3.402	2.791	4.748
	0.04	1978.242	516.180	37740.597	3.296	2.713	4.577
	0.05	1623.325	446.124	27414.556	3.210	2.649	4.438
	0.06	1371.871	393.944	20889.153	3.137	2.595	4.320
	0.07	1183.657	353.168	16462.378	3.073	2.548	4.216
	0.08	1037.153	320.196	13303.370	3.016	2.505	4.124
	0.09	919.720	292.843	10961.691	2.964	2.467	4.040
	0.1	823.412	269.695	9173.632	2.916	2.431	3.963
	0.15	520.865	191.445	4396.600	2.717	2.282	3.643
	0.2	361.952	145.421	2456.862	2.559	2.163	3.390
	0.25	264.874	114.573	1495.040	2.423	2.059	3.175
	0.3	200.103	92.244	959.574	2.301	1.965	2.982
	0.35	154.313	75.233	638.147	2.188	1.876	2.805
	0.4	120.592	61.786	434.839	2.081	1.791	2.638
	0.45	94.997	50.851	301.298	1.978	1.706	2.479
	0.5	75.119	41.755	211.122	1.876	1.621	2.325

Lampiran 8. Lanjutan



$$B = -1,232X$$

$$A = 2,312$$

$$R = < 0,9 \text{ *menggunakan probit dengan pers * } P = 2,312 - 1,232X$$

$$Ic_{50} \text{ EERTK} = 75,119 \text{ mcg/ml}$$

Lampiran 8. Hasil Perhitungan IC_{50} EERTK Perlakuan Tunggal terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Analisa Probit dengan SPSS 16 for Windows(Lanjutan)

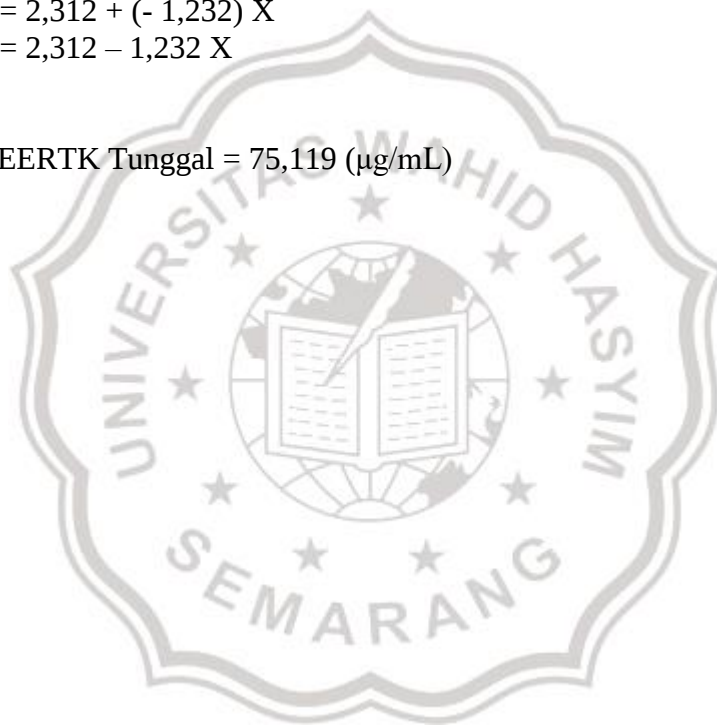
1. Hasil Nilai IC_{50} EERTK Perlakuan Tunggal melalui analisa probit

$$\begin{aligned} IC_{50} &= 75,119 (\mu\text{g/mL}) \rightarrow \text{dilihat dari tabel probit 0,5.} \\ A &= 2,312 (\text{Intercept}) \rightarrow \text{dilihat dari tabel Parameter Estimates} \\ B &= -1,232 \end{aligned}$$

Dari data Probit diperoleh persamaan

$$\begin{aligned} P &= \text{Intercept} + BX \\ &= 2,312 + (-1,232) X \\ &= 2,312 - 1,232 X \end{aligned}$$

$$IC_{50} \text{ EERTK Tunggal} = 75,119 (\mu\text{g/mL})$$



Lampiran 8. Hasil Perhitungan IC₅₀ Doksorubisin Perlakuan Tunggal terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Analisa Probit dengan SPSS 16 for Windows(Lanjutan)

2. Penentuan Nilai IC₅₀Doksorubisin

DOKSORUBISIN	ABSORBANSI						RATA-RATA	%VIABILITAS SEL
	1	2	3	4	5	6		
100,000	0,119	0,135	0,115	0,128			0,124	8,113
50,000	0,230	0,213	0,204	0,196			0,211	20,160
25,000	0,315	0,325	0,301	0,321			0,316	34,749
12,500	0,401	0,415	0,476	0,445			0,434	51,288
6,250	0,487	0,503	0,543	0,525			0,515	62,465
3,125	0,554	0,564	0,585	0,578			0,570	70,230
1,563	0,653	0,647	0,656	0,654			0,653	81,685
KONTROL SEL	0,820	0,792	0,777	0,751	0,780	0,800	0,784	
KONTROL MEDIA	0,062	0,063	0,065	0,068	0,072	0,072	0,066	

Lampiran 8. Hasil Perhitungan IC₅₀ Doksorubisin Perlakuan Tunggal terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Analisa Probit dengan SPSS 16 for Windows(Lanjutan)

1. Perhitungan % viabilitas Doksorubisin Tunggal

Rumus

$$\% \text{ viab sel} = \frac{OD \text{ sel dengan perlakuan} - OD \text{ kontrol media}}{OD \text{ kontrol sel} - OD \text{ kontrol media}} \times 100$$

Cara perhitungan % viabilitas sel adalah sebagai berikut ;

~ konsentrasi 100 (µg/ml)

$$\begin{aligned} \% \text{ viab sel} &= \frac{0,223 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100 \\ &= 21,607 \end{aligned}$$

~ konsentrasi 50(µg/ml)

$$\begin{aligned} \% \text{ viab sel} &= \frac{0,302 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100 \\ &= 32,619 \end{aligned}$$

~ konsentrasi 25(µg/ml)

$$\begin{aligned} \% \text{ viab sel} &= \frac{0,498 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100 \\ &= 59,819 \end{aligned}$$

~ konsentrasi 12,5(µg/ml)

$$\begin{aligned} \% \text{ viab sel} &= \frac{0,649 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100 \\ &= 80,871 \end{aligned}$$

~ konsentrasi 6,25(µg/ml)

$$\% \text{ viab sel} = \frac{0,754 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100$$

$$= 95,461$$

Lampiran 8. Hasil Perhitungan IC_{50} Doksorubisin Perlakuan Tunggal terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Analisa Probit dengan SPSS 16 for Windows(Lanjutan)

~ konsentrasi 3,125(μ g/ml)

$$\% \text{ viab sel} = \frac{0,733 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100$$

$$= 92,473$$

~ konsentrasi 1,5625(μ g/ml)

$$\% \text{ viab sel} = \frac{0,718 - 0,067}{0,787 - 0,067} \times 100$$

$$= 90,389$$

3. Data Doksorubisin

Konsentrasi	Hambatan	Maksimal
100,000	8,113	100.0
50,000	20,160	100.0
25,000	34,749	100.0
12,500	51,288	100.0
6,250	62,465	100.0
3,125	70,230	100.0
1,563	81,685	100.0

Lampiran 8. Hasil Perhitungan IC₅₀ Doksorubisin Perlakuan Tunggal terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Analisa Probit dengan SPSS 16 for Windows(Lanjutan)

4. Analisa Probit Doksorubisin

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Std. Error	Z	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a KONSENTRASI	-1.201	.157	-7.666	.000	-1.508	-.894
Intercept	1.216	.112	10.872	.000	1.104	1.328

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

Lampiran 8.Lanjutan

Chi-Square Tests

	Chi-Square	df ^a	Sig.
PROBIT Pearson Goodness-of-Fit Test	3.736	4	.443 ^b

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

b. Since the significance level is less than ,500, a heterogeneity factor is used in the calculation of confidence limits.

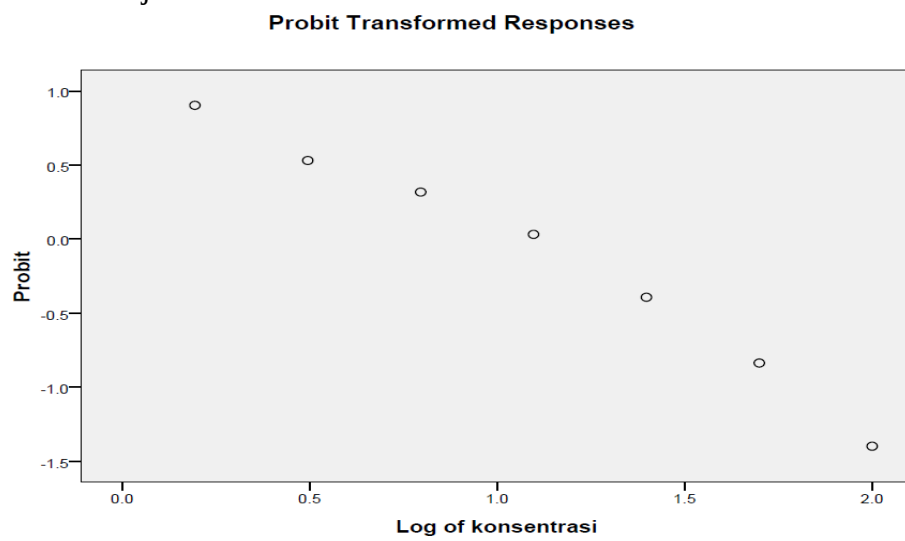
Cell Counts and Residuals

	Number	KONSENTRASI	Number of Subjects	Observed Responses	Expected Responses	Residual	Probability
PROBIT	1	2.000	100	8	11.777	-3.664	.118
	2	1.699	100	20	20.478	-.318	.205
	3	1.398	100	35	32.164	2.585	.322
	4	1.097	100	51	45.954	5.334	.460
	5	.796	100	62	60.254	2.211	.603
	6	.495	100	70	73.285	-3.055	.733
	7	.194	100	82	83.724	-2.039	.837

Lampiran 8.Lanjutan

Confidence Limits							
	Probability	95% Confidence Limits for KONSENTRASI			95% Confidence Limits for log(KONSENTRASI) ^b		
		Estimate	Lower Bound	Upper Bound	Estimate	Lower Bound	Upper Bound
PROBIT ^a	0.09	134.493	43.039	1309.635	2.129	1.634	3.117
	0.1	120.061	39.478	1102.301	2.079	1.596	3.042
	0.15	75.042	27.569	540.791	1.875	1.440	2.733
	0.2	51.653	20.682	307.713	1.713	1.316	2.488
	0.25	37.491	16.129	190.076	1.574	1.208	2.279
	0.3	28.116	12.875	123.579	1.449	1.110	2.092
	0.35	21.535	10.425	83.113	1.333	1.018	1.920
	0.4	16.721	8.510	57.193	1.223	.930	1.757
	0.45	13.090	6.971	39.963	1.117	.843	1.602
	0.5	10.288	5.706	28.194	1.012	.756	1.450
	0.55	8.085	4.646	19.993	.908	.667	1.301
	0.6	6.329	3.745	14.197	.801	.573	1.152
	0.65	4.914	2.968	10.061	.691	.473	1.003
	0.7	3.764	2.292	7.096	.576	.360	.851
	0.75	2.823	1.700	4.965	.451	.230	.696
	0.8	2.049	1.185	3.431	.312	.074	.535
	0.85	1.410	.749	3.431	.149	-.125	.365
	0.9	.882	.401	2.316	-.055	-.397	.171
	0.91	.787	.343	1.482	-.104	-.465	.127
	0.92	.696	.289	1.338	-.158	-.540	.079
	0.93	.607	.238	1.201	-.217	-.623	.028
	0.94	.522	.192	1.068	-.282	-.717	-.027
	0.95	.439	.150	.939	-.357	-.825	-.090
	0.96	.359	.111	.813	-.445	-.954	-.162
	0.97	.279	.077	.562	-.554	-1.113	-.250
	0.98	.201	.047	.432	-.698	-1.327	-.365
	0.99	.119	.022	.287	-.925	-1.667	-.542

Lampiran 8.Lanjutan

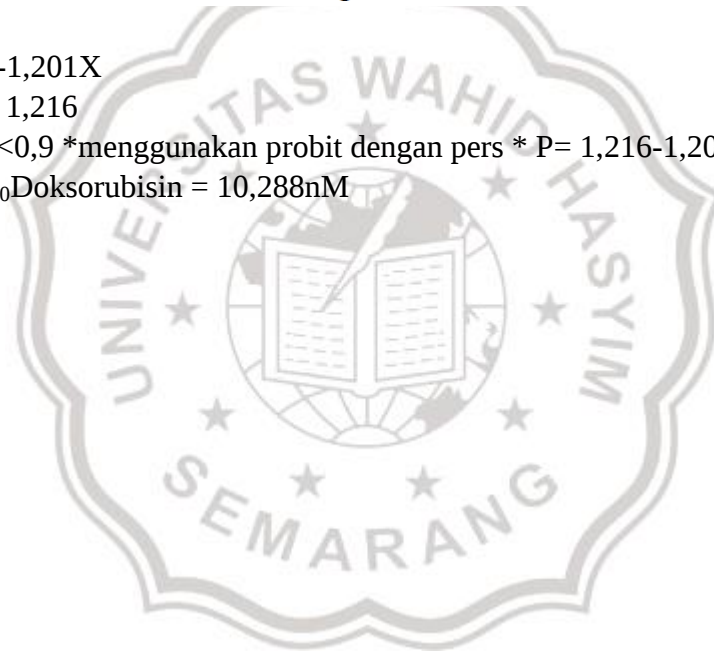


$B = -1,201X$

$A = 1,216$

$R = < 0,9$ *menggunakan probit dengan pers * $P = 1,216 - 1,201X$

$IC_{50} \text{Doksorubisin} = 10,288 \text{nM}$



Lampiran 8. Hasil Perhitungan IC_{50} Doksorubisin Perlakuan Tunggal terhadap Sel Kanker Serviks HeLa melalui Analisa Probit dengan SPSS 16 for Windows(Lanjutan)

5. Hasil Nilai IC_{50} Doksorubicin Perlakuan Tunggal melalui analisa probit

$IC_{50} = 10,288(\mu\text{g/mL}) \rightarrow$ dilihat dari tabel probit 0,5.

A = 1,216 (Intercept) $\rightarrow$ dilihat dari tabel Parameter Estimates

B = -1,201X

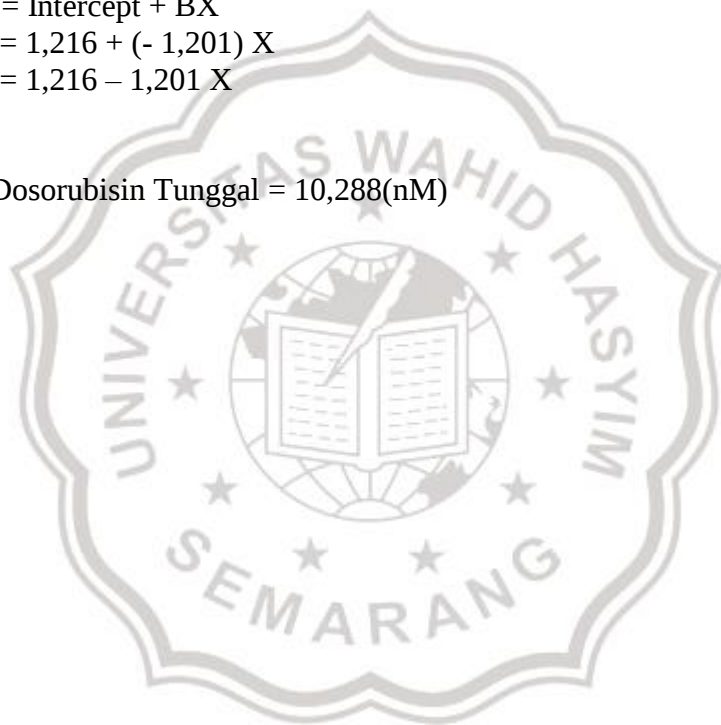
Dari data Probit diperoleh persamaan

P = Intercept + BX

= 1,216 + (- 1,201) X

= 1,216 – 1,201 X

IC_{50} Dosorubisin Tunggal = 10,288(nM)



Lampiran 9. Perhitungan Sel , Seri Konsentrasi EERTK Dan Doksorubisin Uji Sitotoksik Perlakuan Kombinasi.

1. Sel HeLa

Perhitungan Sel HeLa

Jumlah sel HeLa yang dihitung = 156×10^4 sel/ml

Jumlah sel HeLa yang diperlukan = $1 \times 10^4 \times 90$ sumuran

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

= $\frac{1 \times 10^4 \times 90 \text{ sumuran}}{156 \times 10^4 \text{ sel/ml}}$

= 0,577 mL = 577 μ l.

Total volume yang diperlukan = 100 μ l x 90 sumuran

= 9000 μ l ~ 9 mL

Jadi sel dipipet sebanyak 577 μ l + MK ad 9000 μ l , transfer kedalam well plate 96 sebanyak 100 μ l per sumuran, disisakan 18 sumuran untuk blank 12 sumuran dan kontrol media 6 sumuran.

2. Perhitungan Seri Konsentrasi EERTK Perlakuan Kombinasi.

a. Pembuatan larutan stok EERTK konsentrasi 100.000 μ g/mL.

Ditimbang EERTK sebanyak 18 mg, dilarutkan dalam DMSO 100% sebanyak 180 μ l.

Konsentrasi larutan stok EERTK = 18 mg/180 μ l

= 18.000 μ g/ 0.18 mL

= 100.000 μ g/mL

Lampiran 9.Lanjutan

- b. Perhitungan dari perbandingan IC_{50} .

$$IC_{50} \text{ EERTK} = 75,119 \mu\text{g/mL}$$

$$\frac{1}{2} \times 75,119 \mu\text{g/mL} = 37,560 \mu\text{g/mL} \times 2 = 75,119 \mu\text{g/mL}.$$

$$\frac{1}{4} \times 75,119 \mu\text{g/mL} = 18,780 \mu\text{g/mL} \times 2 = 37,560 \mu\text{g/mL}.$$

$$\frac{1}{6} \times 75,119 \mu\text{g/mL} = 12,520 \mu\text{g/mL} \times 2 = 25,040 \mu\text{g/mL}.$$

$$\frac{1}{8} \times 75,119 \mu\text{g/mL} = 9,390 \mu\text{g/mL} \times 2 = 18,780 \mu\text{g/mL}.$$

- c. Pembuatan seri konsentrasi EERTK

$$\text{Digunakan rumus } (V_1 \times N_1) = (V_2 \times N_2)$$

$$\sim 1000 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1000 \mu\text{l} \times 1000 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 100.000 \mu\text{g/mL}.$$

$$V_2 = 10 \mu\text{l} + 990 \mu\text{l MK}.$$

$$\sim 37,560 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1500 \mu\text{l} \times 37,560 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 1000 \mu\text{g/mL}.$$

$$(75,119 \mu\text{g/mL}) \quad V_2 = 112,70 \mu\text{l} \sim 113 \mu\text{l} + 1387 \mu\text{l MK}.$$

$$\sim 18,780 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1500 \mu\text{l} \times 18,780 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 1000 \mu\text{g/mL}.$$

$$(37,560 \mu\text{g/mL}) \quad V_2 = 56,34 \mu\text{l} \sim 56 \mu\text{l} + 1444 \mu\text{l MK}.$$

$$\sim 12,520 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1500 \mu\text{l} \times 12,520 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 1000 \mu\text{g/mL}.$$

$$(25,040 \mu\text{g/mL}) \quad V_2 = 37,56 \mu\text{l} \sim 38 \mu\text{l} + 1462 \mu\text{l MK}.$$

$$\sim 9,390 \mu\text{g/mL} \Rightarrow 1500 \mu\text{l} \times 9,390 \mu\text{g/mL} = V_2 \times 1000 \mu\text{g/mL}.$$

$$(18,780 \mu\text{g/mL}) \quad V_2 = 28,17 \mu\text{l} \sim 28 \mu\text{l} + 1472 \mu\text{l MK}.$$

Lampiran 9.Lanjutan

d. Pembuatan Larutan stock Doksorubiin

Sediaan Dosorubisin = 2 mg/mL injeksi/vial

BM Doksorubisin = 579,9802 g/mol

Stok Doksorubisin= 2 mg/mL ~ 2 g/L

$$= \frac{2 \text{ g/L}}{579,9802 \text{ g/mol}}$$

$$= 0,003448393 \text{ mol/L} \sim 0,003448393 \text{ M}$$

$$\sim 3448,393 \text{ nM.}$$

Jadi Doksorubisin 2 mg/mL ~ 3448,393 nM.

e. Perhitungan dari perbandingan IC₅₀.

IC₅₀ Doksorubiin = 10,288 nM

$$\frac{1}{2} \times 10,288 \text{ nM} = 5,144 \text{ nM} \times 2 = 10,288 \text{ nM.}$$

$$\frac{1}{4} \times 10,288 \text{ nM} = 2,572 \text{ nM} \times 2 = 5,144 \text{ nM.}$$

$$\frac{1}{6} \times 10,288 \text{ nM} = 1,7146 \text{ nM} \times 2 = 3,429 \text{ nM.}$$

$$\frac{1}{8} \times 10,288 \text{ nM} = 1,286 \text{ nM} \times 2 = 2,5722 \text{ nM.}$$

f. Pembuatan seri konsentrasi Doksorubisin

Digunakan rumus ($V_1 \times N_1$) = ($V_2 \times N_2$)

$$\text{Larutan Stok} = 300 \mu\text{l} \times 100.000 \text{ nM} = V_2 \times 3448,393$$

$$= 8,69 \mu\text{l} \sim 9 \mu\text{l} + 291 \mu\text{l}$$

Sub Stok Konsentrasi 1000 nM

Digunakan rumus ($V_1 \times N_1$) = ($V_2 \times N_2$)

$$V_1 \times 100.000 \text{ nM} = 1000 \mu\text{l} \times 1000 \text{ nM}$$

$$V_1 = 10 \mu\text{l} + 990 \mu\text{l}$$

$$\sim 5,144 \text{ nM} \Rightarrow 2000 \mu\text{l} \times 10,288 \text{ nM} = V_2 \times 1000 \text{ nM.}$$

$$(10,288 \text{ nM}) \quad V_2 = 20,288 \mu\text{l} \sim 20 \mu\text{l} + 1980 \text{ MK.}$$

Lampiran 9. Lanjutan

$$\sim 5,144 \text{ nM} \Rightarrow 2000 \mu\text{l} \times 5,144 \text{ nM} = V_2 \times 1000 \text{ nM.}$$

$$(2,572 \text{ nM}) \quad V_2 = 10,288 \mu\text{l} \sim 10 \mu\text{l} + 1990 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 3,429 \text{ nM} \Rightarrow 2000 \mu\text{l} \times 3,429 \text{ nM} = V_2 \times 1000 \text{ nM.}$$

$$(1,7146 \text{ nM}) \quad V_2 = 6,858 \mu\text{l} \sim 7 \mu\text{l} + 1993 \mu\text{l MK.}$$

$$\sim 2,5722 \text{ nM} \Rightarrow 2000 \mu\text{l} \times 2,5722 \text{ nM} = V_2 \times 1000 \text{ nM}$$

$$(1,286 \text{ nM}) \quad V_2 = 5,144 \mu\text{l} \sim 5 \mu\text{l} + 1995 \mu\text{l MK.}$$



**Lampiran 9. Perhitungan Sel, Seri Konsentrasi EERTK dengan
Doksorubisin Uji Sitotoksitas Perlakuan Kombinasi
(Lanjutan)**

a. Perbandingan Konsentrasi kombinasi EERTK dan Doksorubisin

EERTK($\mu\text{g/mL}$)	DOKSORUBISIN (nM)			
	1/2(5,144)	1/4(2,572)	1/6(1,714)	1/8(1,286)
1/2(37,56)	1/2:1/2	1/2:1/4	1/2:1/6	1/2:1/8
1/4(18,78)	1/4:1/2	1/4:1/4	1/4:1/6	1/4:1/8
1/6(12,52)	1/6:1/2	1/6:1/4	1/6:1/6	1/6:1/8
1/8(9,39)	1/8:1/2	1/8:1/4	1/8:1/6	1/8:1/8

Contoh perhitungan kombinasi dalam sumuran :

- Kombinasi 1/2 IC_{50} EERTK dan 1/2 IC_{50} Doksorubisin

50 μl EERTK konsentrasi (37,56 $\mu\text{g/mL}$) + 50 μl konsentrasi doksorubisin(5,144nM) kemudian dimasukkan dalam satu sumuran (total per sumuran 100 μl) dan replikasi 3x.

Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK Dan Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa

EERTK	DOKSORUBISIN											
	1/2 (5,144)			1/4 (2,572)			1/6 (1,715)			1/8 (1,286)		
1/2(37,56)	0,366	0,386	0,370	0,426	0,252	0,325	0,332	0,285	0,343	0,339	0,304	0,292
1/4(18,78)	0,221	0,239	0,274	0,305	0,323	0,322	0,341	0,328	0,330	0,280	0,396	0,384
1/6(12,52)	0,259	0,286	0,272	0,305	0,383	0,379	0,316	0,366	0,264	0,332	0,241	0,350
1/8 (9,39)	0,264	0,295	0,339	0,394	0,360	0,316	0,287	0,297	0,280	0,252	0,281	0,268

KONTROL	ABSORBANSI						RATA-RATA
	1	2	3	4	5	6	
SEL	0,789	0,770	0,732	0,735	0,734	0,754	0,752
MEDIA	0,079	0,078	0,080	0,073	0,074	0,075	0,077

VIABILITAS SEL KOMBINASI												
EERTK	DOKSORUBISIN											
	1/2 (5,144)			1/4 (2,572)			1/6 (1,715)			1/8 (1,286)		
1/2 (37,56)	42,836	45,795	43,428	51,714	25,968	36,769	37,805	30,851	39,433	38,841	33,662	31,887
1/4 (18,78)	21,381	24,044	29,223	33,810	36,473	36,326	39,137	37,213	37,509	30,111	47,275	45,499
1/6 (12,52)	27,004	30,999	28,927	33,810	45,351	44,760	35,438	42,836	27,744	37,805	24,340	40,469
1/8 (9,39)	27,744	32,330	38,841	46,979	41,948	35,438	31,147	32,626	30,111	25,968	30,259	28,335

**Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan
Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)**

1. Rata – rata viabilitas sel perlakuan kombinasi

EERTK(µg/mL)	DOKSORUBISIN (nM)			
	1/2 (5,144)	1/4 (2,572)	1/6 (1,715)	1/8 (1,286)
1/2 (37,560)	44,020	38,150	36,030	34,797
1/4(18,780)	24,883	35,536	37,953	40,962
1/6(12,520)	28,977	41,307	35,339	34,205
1/8(9,390)	32,972	41,455	31,295	28,187

2. Konsentrasi senyawa EERTK yang memiliki efek sama dengan kombinasi

EERTK (µg/mL)	DOKSORUBISIN (nM)			
	1/2 (5,144)	1/4 (2,572)	1/6 (1,715)	1/8 (1,286)
1/2 (37,560)	35,640	30,753	28,987	27,960
1/4(18,780)	19,706	28,576	30,589	33,094
1/6(12,520)	23,115	33,381	28,412	27,468
1/8(9,390)	26,441	33,505	25,045	22,457

Cara perhitungan nilai DX adalah sebagai berikut :

Kombinasi dilakukan pada konsentrasi 1/2; 1/4; 1/6 dan 1/8 dari nilai IC₅₀

IC₅₀EERTK = 75,119 µg/ml

Persamaan probit EERTK = 2,312 – 1,232 X

- Kombinasi EERTK 1/2 IC₅₀ (37,56µg/ml) dan Doksorubisin 1/2 IC₅₀ (5,144nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 44,020 %.

EERTK :

$$44,020 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 35,640$$

- Kombinasi EERTK 1/4 IC₅₀ (18,78µg/ml) dan Doksorubisin 1/2 IC₅₀ (5,144nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 24,883 %.

EERTK :

$$24,883 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 19,706$$

- Kombinasi EERTK 1/6 IC₅₀ (12,52µg/ml) dan Doksorubisin 1/2 IC₅₀ (5,144nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 28,977 %.

EERTK :

$$28,977 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 23,115$$

- Kombinasi EERTK 1/8 IC₅₀ (9,39µg/ml) dan Doksorubisin 1/2 IC₅₀ (5,144nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 32,972 %.

EERTK :

$$32,972 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 26,441$$

- Kombinasi EERTK 1/2 IC₅₀ (37,56µg/ml) dan Doksorubisin 1/4 IC₅₀ (2,572nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 38,150 %.

EERTK :

$$38,150 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 30,753$$

- Kombinasi EERTK 1/4 IC₅₀ (18,78µg/ml) dan Doksorubisin 1/4 IC₅₀ (2,572nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 35,536%.

EERTK :

$$35,536 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 28,576$$

- Kombinasi EERTK 1/6 IC₅₀ (12,52 µg/ml) dan Doksorubisin 1/4 IC₅₀ (2,572nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 41,307 %.

EERTK :

$$41,307 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 33,381$$

- Kombinasi EERTK 1/8 IC₅₀ (9,39 µg/ml) dan Doksorubisin 1/4 IC₅₀ (2,572nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 41,455 %.

EERTK :

$$41,455 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 33,381$$

- Kombinasi EERTK 1/2 IC₅₀ (37,56 µg/ml) dan Doksorubisin 1/6 IC₅₀ (1,714nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 36,030 %.

EERTK :

$$36,030 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 28,987$$

Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)

- Kombinasi EERTK 1/4 IC₅₀ (18,78 µg/ml) dan Doksorubisin 1/6 IC₅₀ (1,714 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 37,953%.
EERTK :

$$37,953 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 30,589$$
- Kombinasi EERTK 1/6 IC₅₀ (12,52 µg/ml) dan Doksorubisin 1/6 IC₅₀ (1,714 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 35,339 %.
EERTK :

$$35,339 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 28,412$$
- Kombinasi EERTK 1/8 IC₅₀ (9,39 µg/ml) dan Doksorubisin 1/6 IC₅₀ (1,714 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 31,295 %.
EERTK :

$$31,295 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 25,045$$
- Kombinasi EERTK 1/2 IC₅₀ (37,56 µg/ml) dan Doksorubisin 1/8 IC₅₀ (1,286 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 34,797%.
EERTK :

$$34,797 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 27,960$$
- Kombinasi EERTK 1/4 IC₅₀ (18,78 µg/ml) dan Doksorubisin 1/8 IC₅₀ (1,286 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 40,962%.
EERTK :

$$40,962 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 33,094$$
- Kombinasi EERTK 1/6 IC₅₀ (12,52 µg/ml) dan Doksorubisin 1/8 IC₅₀ (1,286 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 34,205 %.
EERTK :

$$34,205 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 27,468$$
- Kombinasi EERTK 1/8 IC₅₀ (9,39 µg/ml) dan Doksorubisin 1/8 IC₅₀ (1,286 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 28,187 %.
EERTK :

$$28,187 = 2,312 - 1,232 X$$

$$X = 22,457$$

**Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan
Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)
3. Konsentrasi senyawa Doksorubisin yang memiliki efek sama
dengan kombinasi**

EERTK ($\mu\text{g/mL}$)	Doksorubisin (nM)			
	1/2 (5,144)	1/4 (2,572)	1/6 (1,714)	1/8 (1,286)
1/2 (37,560)	33,854	29,090	27,368	26,367
1/4 (18,780)	18,325	26,968	28,930	31,372
1/6 (12,520)	21,643	31,652	26,808	25,887
1/8 (9,390)	24,886	31,772	23,525	21,003

Cara perhitungan nilai DX adalah sebagai berikut :

Kombinasi dilakukan pada konsentrasi 1/2; 1/4; 1/6 dan 1/8 dari nilai IC_{50}

$\text{IC}_{50}\text{Doksorubisin} = 10,288\text{nM}$

Persamaan probit Doksorubicin = $1,216 - 1,201 X$

- Kombinasi EERTK 1/2 IC_{50} (37,56 $\mu\text{g/ml}$) dan Doksorubisin 1/2 IC_{50} (5,144nM), diperoleh viabilitas sel sebesar 44,020 %.
Doksorubisin :
 $44,020 = 1,216 - 1,201 X$
 $X = 33,854$
- Kombinasi EERTK 1/4 IC_{50} (18,78 $\mu\text{g/ml}$) dan Doksorubisin 1/2 IC_{50} (5,144nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 24,883 %.
Doksorubisin:
 $24,883 = 1,216 - 1,201X$
 $X = 18,321$
- Kombinasi EERTK 1/6 IC_{50} (12,52 $\mu\text{g/ml}$) dan Doksorubisin 1/2 IC_{50} (5,144nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 28,977 %.
Doksorubisin :
 $28,977 = 1,216 - 1,201X$
 $X = 21,643$
- Kombinasi EERTK 1/8 IC_{50} (9,39 $\mu\text{g/ml}$) dan Doksorubisin 1/2 IC_{50} (5,144nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 32,972 %.
Doksorubisin :
 $32,972 = 1,216 - 1,201X$
 $X = 24,886$

**Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan
Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)**

- Kombinasi EERTK 1/2 IC₅₀ (37,56 µg/ml) dan Doksorubisin 1/4 IC₅₀ (2,572 nM), diperoleh viabilitas sel sebesar 38,150 %.

Doksorubisin :

$$38,150 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 29,090$$

- Kombinasi EERTK 1/4 IC₅₀ (18,78 µg/ml) dan Doksorubisin 1/4 IC₅₀ (2,572 nM), diperoleh viabilitas sel sebesar 35,536%.

Doksorubisin :

$$35,536 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 26,968$$

- Kombinasi EERTK 1/6 IC₅₀ (12,52 µg/ml) dan Doksorubisin 1/4 IC₅₀ (2,572 nM), diperoleh viabilitas sel sebesar 41,307 %.

Doksorubisin :

$$41,307 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 31,652$$

- Kombinasi EERTK 1/8 IC₅₀ (9,39 µg/ml) dan Doksorubisin 1/4 IC₅₀ (2,572 nM), diperoleh viabilitas sel sebesar 41,455 %.

Doksorubisin :

$$41,455 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 31,772$$

- Kombinasi EERTK 1/2 IC₅₀ (37,56 µg/ml) dan Doksorubisin 1/6 IC₅₀ (1,714 nM), diperoleh viabilitas sel sebesar 36,030 %.

Doksorubisin :

$$36,030 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 27,368$$

- Kombinasi EERTK 1/4 IC₅₀ (18,78 µg/ml) dan Doksorubisin 1/6 IC₅₀ (1,714 nM), diperoleh viabilitas sel sebesar 37,953%.

Doksorubisin :

$$37,953 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 28,930$$

- Kombinasi EERTK 1/6 IC₅₀ (12,52 µg/ml) dan Doksorubisin 1/6 IC₅₀ (1,714 nM), diperoleh viabilitas sel sebesar 35,339 %.

Doksorubisin :

$$35,339 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 26,808$$

**Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan
Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)**

- Kombinasi EERTK 1/8 IC₅₀ (9,39 µg/ml) dan Doksorubisin 1/6 IC₅₀ (1,714 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 31,295 %.

Doksorubisin :

$$31,295 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 23,525$$

- Kombinasi EERTK 1/2 IC₅₀ (37,56 µg/ml) dan Doksorubisin 1/8 IC₅₀ (1,286 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 34,797%.

Doksorubisin :

$$34,797 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 26,367$$

- Kombinasi EERTK 1/4 IC₅₀ (18,78 µg/ml) dan Doksorubisin 1/8 IC₅₀ (1,286 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 40,962%.

Doksorubisin :

$$40,962 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 31,372$$

- Kombinasi EERTK 1/6 IC₅₀ (12,52 µg/ml) dan Doksorubisin 1/8 IC₅₀ (1,286 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 34,205 %.

Doksorubisin :

$$34,205 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 25,887$$

- Kombinasi EERTK 1/8 IC₅₀ (9,39 µg/ml) dan Doksorubisin 1/8 IC₅₀ (1,286 nM) , diperoleh viabilitas sel sebesar 28,187 %.

Doksorubisin :

$$28,187 = 1,216 - 1,201X$$

$$X = 21,003$$

**Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan
Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)**
4. Skor *Combination Index* (CI)

EERTK ($\mu\text{g/mL}$)	DOKSORUBISIN (nM)			
	1/2 (5,144)	1/4 (2,752)	1/6 (1,714)	1/8 (1,286)
1/2 (37,560)	1,274	1,307	1,514	1,537
1/4(18,780)	1,437	0,850	0,740	0,660
1/6(12,520)	0,930	0,503	0,555	0,553
1/8(9,390)	0,500	0,395	0,495	0,530

Perhitungan *Combination Index* menggunakan rumus sebagai berikut :

$$CI = \frac{D1}{Dx1} + \frac{D2}{Dx2} + \frac{(D1 \cdot D2)}{(Dx1 \cdot Dx2)}$$

Data nilai DX EERTK

EERTK ($\mu\text{g/mL}$)	DOKSORUBISIN (nM)			
	1/2 (5,144)	1/4 (2,572)	1/6 (1,714)	1/8 (1,286)
1/2 (37,560)	35,640	30,753	28,987	27,960
1/4(18,780)	19,706	28,576	30,589	33,094
1/6(12,520)	23,115	33,381	28,412	27,468
1/8(9,390)	26,441	33,381	25,045	22,457

Data nilai DX Doksorubisin

EERTK ($\mu\text{g/mL}$)	DOKSORUBISIN (nM)			
	1/2 (5,144)	1/4 (2,572)	1/6 (1,714)	1/8 (1,286)
1/2 (37,560)	33,854	29,090	27,368	26,367
1/4(18,780)	18,321	26,968	28,930	31,372
1/6(12,520)	21,643	31,652	26,808	25,887
1/8(9,390)	24,886	31,772	23,525	21,003

Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)

- Kombinasi 1/2 IC₅₀ EERTK dan 1/2 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{37,560}{35,640} + \frac{5,144}{33,854} + \frac{(37,56 \cdot 5,144)}{(35,640 \cdot 33,854)}$$

$$= 1,274 (1,2)$$

- Kombinasi 1/2 IC₅₀ EERTK dan 1/4 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{37,560}{30,753} + \frac{2,572}{29,090} + \frac{(37,560 \cdot 2,572)}{(30,753 \cdot 29,090)}$$

$$= 1,307 (1,3)$$

- Kombinasi 1/2 IC₅₀ EERTK dan 1/6 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{37,560}{28,987} + \frac{1,714}{27,368} + \frac{(37,560 \cdot 1,714)}{(28,987 \cdot 27,368)}$$

$$= 1,514 (1,5)$$

- Kombinasi 1/2 IC₅₀ EERTK dan 1/8 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{37,560}{27,960} + \frac{1,286}{26,367} + \frac{(37,560 \cdot 1,286)}{(27,960 \cdot 26,367)}$$

$$= 1,537 (1,5)$$

- Kombinasi 1/4 IC₅₀ EERTK dan 1/2 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{18,780}{19,706} + \frac{5,144}{18,321} + \frac{(18,780 \cdot 5,144)}{(19,706 \cdot 18,321)}$$

$$= 1,437 (1,4)$$

Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)

- Kombinasi 1/4 IC₅₀ EERTK dan 1/4 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{18,780}{28,576} + \frac{2,572}{26,968} + \frac{(18,780 \cdot 2,572)}{(28,576 \cdot 26,968)}$$

$$= 0,85 (0,8)$$

- Kombinasi 1/4 IC₅₀ EERTK dan 1/6 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{18,780}{30,589} + \frac{1,714}{28,930} + \frac{(18,780 \cdot 1,714)}{(30,589 \cdot 28,930)}$$

$$= 0,74 (0,7)$$

- Kombinasi 1/4 IC₅₀ EERTK dan 1/8 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{18,780}{33,094} + \frac{1,286}{31,372} + \frac{(18,780 \cdot 1,286)}{(33,094 \cdot 31,372)}$$

$$= 0,66 (0,6)$$

- Kombinasi 1/6 IC₅₀ EERTK dan 1/2 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{12,520}{23,115} + \frac{5,144}{21,643} + \frac{(12,520 \cdot 5,144)}{(23,115 \cdot 21,643)}$$

$$= 0,93 (0,9)$$

- Kombinasi 1/6 IC₅₀ EERTK dan 1/4 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{12,520}{33,381} + \frac{2,572}{31,652} + \frac{(12,520 \cdot 2,572)}{(33,381 \cdot 31,652)}$$

$$= 0,503 (0,5)$$

- Kombinasi 1/6 IC₅₀ EERTK dan 1/6 IC₅₀Doksorubisin

$$CI = \frac{12,520}{28,412} + \frac{1,714}{26,808} + \frac{(12,520 \cdot 1,714)}{(28,412 \cdot 26,808)}$$

$$= 0,55 (0,5)$$

**Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan
Doksorubisin Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)**

- Kombinasi 1/6 IC₅₀ EERTK dan 1/8 IC₅₀ Doksorubisin

$$CI = \frac{12,520}{27,468} + \frac{1,286}{25,887} + \frac{(12,520 \cdot 1,286)}{(27,468 \cdot 25,887)}$$

$$= 0,55 (0,5)$$

- Kombinasi 1/8 IC₅₀ EERTK dan 1/2 IC₅₀ Doksorubisin

$$CI = \frac{9,390}{26,441} + \frac{5,144}{24,886} + \frac{(9,390 \cdot 5,144)}{(26,441 \cdot 24,886)}$$

$$= 0,5 (0,5)$$

- Kombinasi 1/8 IC₅₀ EERTK dan 1/4 IC₅₀ Doksorubisin

$$CI = \frac{9,390}{33,381} + \frac{2,572}{31,772} + \frac{(9,390 \cdot 2,572)}{(33,381 \cdot 31,772)}$$

$$= 0,39 (0,3)$$

- Kombinasi 1/8 IC₅₀ EERTK dan 1/6 IC₅₀ Doksorubisin

$$CI = \frac{9,390}{25,045} + \frac{1,714}{23,525} + \frac{(9,390 \cdot 1,714)}{(25,045 \cdot 23,525)}$$

$$= 0,49 (0,4)$$

- Kombinasi 1/8 IC₅₀ EERTK dan 1/8 IC₅₀ Doksorubisin

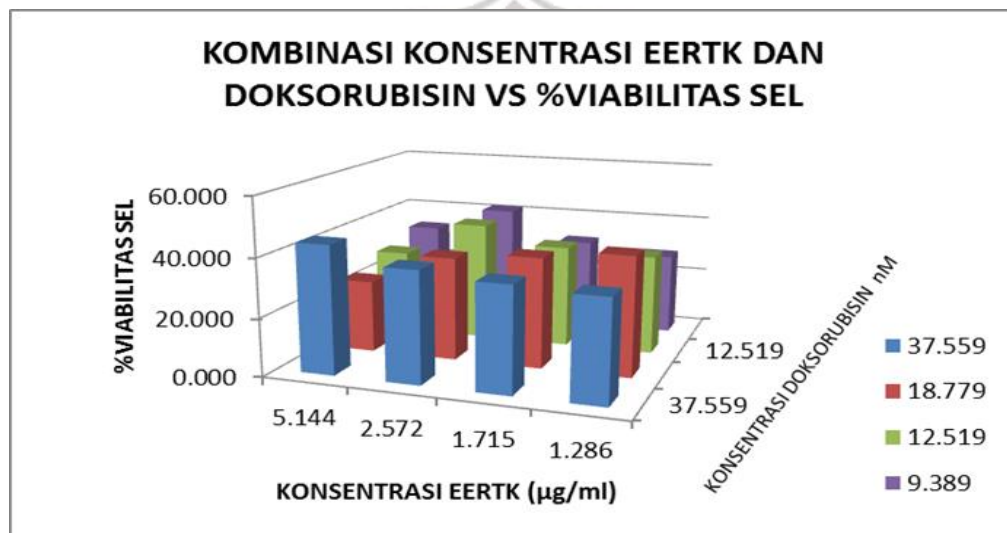
$$CI = \frac{9,390}{22,457} + \frac{1,286}{21,003} + \frac{(9,390 \cdot 1,286)}{(22,452 \cdot 21,003)}$$

$$= 0,53 (0,5)$$

**Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan
Doksorubisin terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)**

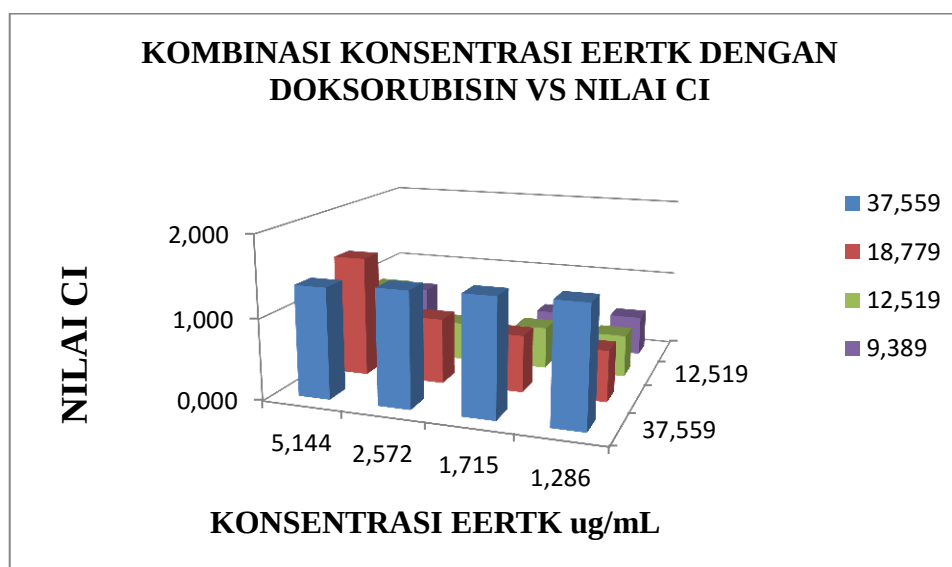
5. Grafik Viabilitas Sel

EERTK($\mu\text{g/mL}$)	DOKSORUBISIN (nM)			
	1/2 (16,745)	1/4 (8,373)	1/6 (5,582)	1/8 (4,186)
1/2 (37,560)	39,200	54,406	38,312	39,595
1/4(18,780)	47,692	60,232	53,567	53,616
1/6(12,520)	59,886	67,490	67,144	68,674
1/8(9,390)	59,146	71,291	90,052	87,139



**Lampiran 10. Hasil Uji Sitotoksitas Kombinasi EERTK dengan
Doksorubisin terhadap Sel Kanker Serviks HeLa (Lanjutan)**
6. Grafik Nilai CI

EERTK($\mu\text{g/mL}$)	DOKSORUBISIN (nM)			
	1/2 (16,745)	1/4 (8,373)	1/6 (5,582)	1/8 (4,186)
1/2 (37,560)	1,4	1,4	1,4	1,5
1/4(18,780)	1,5	0,8	0,7	0,6
1/6(12,520)	0,9	0,5	0,5	0,5
1/8(9,390)	0,6	0,4	0,5	0,5



Lampiran 11. Dokumentasi Penelitian



Tempat pengambilan



Proses sortasi basah



Proses perajangan



Proses Pennimbangan Bahan



Proses pengeringan menggunakan oven



Proses pembuatan serbuk



Pengecekan kadar air



Penimbangan serbuk



Proses perendaman maserasi



Proses pengentalan ekstrak



Penimbangan ekstrak kental

Dokumentasi . Lanjutan

Alat dan bahan kimia untuk uji sitotoksitas

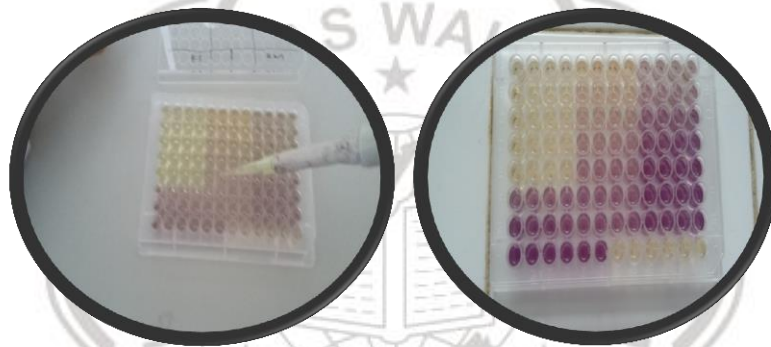


Dokumentasi . Lanjutan

Proses perlakuan uji sitotoksik di LAF



Proses pemipetan kedalam well plate 96



Proses perlakuan dengan reagen MTT
Perlakuan tunggal

Dokumentasi . Lanjutan



Dokumentasi . Lanjutan

