


## Lampiran 1. Hasil determinasi Tanaman Kluwak (*Pangium edule R.*).



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS DIPONEGORO  
FAKULTAS SAINS DAN MATEMATIKA LABORATORIUM  
EKOLOGI DAN BIOSISTEMATIK DEPARTEMEN BIOLOGI II Prof H. Soedarto SH  
Tembalang Semarang, 024 7474754 024 76480923

---

**SURAT KETERANGAN**


Yang bertanda tangan dibawah ini, menyatakan bahwa mahasiswa sbb :

Nama	: EKO HADI PRASETYO
NIM	: 145010164
Fakultas / Prodi	: FARMASI
Perguruan Tinggi	: UNIVERSITAS WAHID HASYIM SEMARANG
Judul Penelitian	: UJI AKTIVITAS SITOTOKSIK FRAKSI N-HEKSAN EKSTRAK ETANOL DAGING BIJI KLUWAK ( <i>Pangium edule R.</i> ) DENGAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK TERHADAP SEL KANKER SERVIKS HELA
Pembimbing	: Devi Nisa Hidayati, M.sc.,Apt Drs. Ibrahim Arifin, M.sc.,Apt

Telah melakukan determinasi / identifikasi satu sampel tumbuhan di Laboratorium Ekologi dan Biosistemik Departemen Biologi Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro. Hasil determinasi / identifikasi terlampir.


Demikian Surat Keterangan ini dibuat untuk dapat digunakan seperlunya.

Semarang, April 2017  
Laboratorium Ekologi Dan Biosistemik



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	: Magnoliopsida / Dicotyledoneae (berkeping dua)
Sub Kelas	:
Ordo	: Malpighiales
Famili	: Achariaceae
Genus	: <i>Pangium</i>
Spesies	: <i>Pangium edule</i> (Keluwak)

**DETERMINASI**

**DESKRIPSI**


Keluwak, keluak atau kepayang, (*Pangium edule* Reinw. ex Blume) suku Achariaceae, dulu dimasukkan dalam Flacourtiaceae, adalah pohon yang tumbuh liar atau setengah liar penghasil bahan bumbu masak sejumlah masakan Nusantara. Orang Sunda menyebutnya *picung* atau *pucung*, orang Jawa menyebutnya *pucung*, *kluwak*, atau *kluwek*, dan di Toraja disebut *pamarrasan*.

Biji keluak dipakai sebagai bumbu dapur masakan Indonesia yang memberi warna hitam pada rawon, daging bumbu keluak, brongkos, serta sup konro. Bijinya, yang memiliki salut biji yang dimanfaatkan, bila mentah sangat beracun karena mengandung asam sianida dalam konsentrasi tinggi. Bila dimakan dalam jumlah tertentu menyebabkan mabuk. Racun pada biji kepayang dapat digunakan sebagai racun untuk mata panah. Bijinya aman diolah untuk makanan bila telah direbus dan direndam terlebih dahulu. Untuk memunculkan warna hitam, biji yang telah direbus dan direndam akan dipendam dalam tanah (setelah dibungkus daun pisang) selama beberapa hari.

Ungkapan "mabuk kepayang" dalam bahasa Melayu maupun bahasa Indonesia digunakan untuk menggambarkan keadaan seseorang yang sedang jatuh cinta sehingga tidak mampu berpikir secara logis, seakan-akan habis memakan kepayang.

Pohon kluwek atau kepayang (*Pangium edule*) berbatang lurus yang tingginya mampu mencapai 60 meter dengan diameter batang mencapai 120 cm. Percabangannya tidak

## 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

---

terlalu rapat. Daunnya berbentuk jantung, dengan lebar 15 cm. dan panjang 20 cm. berwarna hijau gelap dan mengkilap di bagian atas, sementara bagian bawahnya agak keputihan dan sedikit berbulu.

Bunga kluwek (*Pangium edule*) tumbuh di pucuk ranting, berwarna putih kehijauan, mirip dengan bunga pepaya. Buah berbentuk lonjong dengan bagian ujung dan pangkal meruncing, berukuran panjang 30 cm dan lebar 20 cm. Warna kulit buah cokelat, dengan permukaan agak berbulu.

Daging buah putih dan lunak. Biji kepayang bertempurung, berbentuk asimetris, dengan ukuran 3 – 4 cm. Tempurung biji bertekstur dengan warna cokelat kehitaman. Ketebalan tempurung antara 3 sd. 4 mm. dan sangat keras. Daging biji berwarna sangat putih.

Tanaman ini tumbuh di hutan hujan tropika basah dan merupakan tanaman asli yang tumbuh mulai dari Asia Tenggara hingga Pasifik Barat, termasuk di Indonesia. Keluwak mampu tumbuh di daerah dataran rendah hingga ketinggian 1.500 m dpl.

Seperti namanya, tanaman ini mampu membuat orang menjadi kepayang (mabuk atau pusing). Hal ini dikarenakan, terutama bijinya, mengandung asam sianida dalam konsentrasi tinggi. Selain asam sianida, beberapa kandungan kimia lainnya yang terdapat pada buah antara lain vitamin C, ion besi, betakaroten, asam hidnokarpat, asam khaulmograt, asam glorat, dan tanin.


Berbagai kandungan zat tersebut menjadikan tanaman kepayang, kluwek, picung atau *Pangium edule* memiliki berbagai macam manfaat dan kegunaan, seperti; bahan batang korek api (batang), obat cacung (daun), antiseptik, penghilang kutu, bahan pengawet, dan bahan pembuat minyak (biji).

Manfaat yang tidak kalah pentingnya adalah buahnya yang sering kali digunakan sebagai bumbu dapur masakan Indonesia seperti rawon. Bijinya pun dapat dimakan langsung setelah menjalani proses pemeraman untuk menghilangkan zat asam sianida yang dikandungnya. Meskipun demikian bila dimakan dalam jumlah tertentu apalagi bagi yang kurang tahan dapat mengakibatkan efek pusing (mabuk).

Selain itu, kayu kepayang juga cukup baik dan kuat sebagai bahan pertukangan. Dan lagi, tumbuhan asli Indonesia ini memiliki perakaran yang kuat sehingga cocok digunakan sebagai pohon pelindung dan penghijauan di daerah aliran sungai.

Untuk menghilangkan kandungan asam sianida, buah kepayang atau kluwek (*Pangium edule*) yang telah matang dan jatuh dari pohon dikumpulkan dalam satu karung dan dibiarkan basah oleh air hujan atau malah direndam dalam air dalam waktu 10-14 hari. Dengan begitu, selain kulit atau sabutnya lebih mudah dikupas juga dapat menghilangkan racun asam sianida yang terdapat pada bijinya.

## 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

Meskipun bukan termasuk tanaman langka, namun nyatanya pohon kepayang kini mulai jarang ditemukan. Sayang, padahal buah yang disebut kepayang, kluwek, keluwek, kluak, keluak, picung, pucung, atau pohon lunglai, dan panarassan ini unik, mampu membuat kita mabuk kepayang.

PUSTAKA :


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

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  
Parasitologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.**


**UNIVERSITAS GADJAH MADA**  
 FAKULTAS KEDOKTERAN  
 DEPARTEMEN PARASITOLOGI

**SURAT KETERANGAN**  
No. UGM/KU/Prst/032/TL/04/03/01.18

Yang bertanda tangan di bawah ini,

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

Nama : EKO HADI PRASETYO  
 Instansi : Fakultas Farmasi  
 Universitas Wahid Hasyim  
 Semarang  
 NIM. : 145010164

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


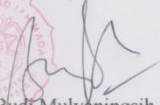
“PENGARUH PERBEDAAN METODE EKSTRAKSI ULTRASONIK DAN MASERASI TERHADAP AKTIVITAS SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAGING BIJI KELUWAK (*Pongium edele* Reinw.) TERHADAP SEL KANKER SERVIKS (*HeLa cell*)”

Dibawah supervisi laboratorium: Prof. dr. Supargiyono, DTM&H., SU., PhD., SpParK.  
 Waktu Penelitian: 5 Juni 2017 sampai dengan 6 Juli 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, 23 Januari 2018  
 a.n. Kepala,  
 Sekretaris

  
  
 Dr. Budi Mulyaningsih, Apt, MS..  
 NIP. 19560912 198303 2 002.

Gedung Prof. Drs. R. Radiopoetro Lt. IV Sayap Timur, Sekip, Yogyakarta 55281  
 Telp. (0274) 546215. Fax. 546215. E-mail : parasitfkgm@yahoo.com

**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.082/Lab. Biologi Farmasi/C.05/UWH/I/2018

Assalamu'alaikum Wr. Wb.

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

Nama : Eko Hadi Prasetyo  
NIM : 145010164  
Fakultas : Farmasi

Telah melakukan pembuatan ekstrak daging biji kluwak dalam rangka penelitian dengan judul: "Uji Aktivitas Sitotoksik Fraksi N-Heksan Ekstrak Etanol Daging Biji Kluwak (*Pangium edule* R.) Terhadap Sel Kanker Serviks Hela".

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan semestinya.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Semarang, Januari 2018  
Kepala Bagian Biologi Farmasi



Nisa Hidayati, M.Sc, Apt

**Lampiran 4.** Perhitungan nilai factor retensi fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak.

$$\text{Nilai Faktor Retensi} = \frac{\text{jarak tempuh substansi}}{\text{jarak tempuh fase gerak}}$$

1. Pembanding tokoferol

Jarak tempuh tokoferol = 4,5 cm

Jarak tempuh fase gerak = 8 cm

$$R_f = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

2. Fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak

Jarak tempuh tokoferol = 4,5 cm

Jarak tempuh fase gerak = 8 cm

$$R_f = \frac{4,5 \text{ cm}}{8 \text{ cm}} = 0,56$$

Nilai  $R_f$  FNEEDBK sama dengan pembanding Tokoferol

**Lampiran 5.** Perhitungan sel dan seri konsentrasi fraksi n-heksan ekstrak etanol daging biji kluwak.

1. Sel HeLa

a. Perhitungan sel

Jumlah sel terhitung = 132 sel

$$\text{Jumlah sel dalam stok} = \frac{132 \times 10^4}{1} = 1,32 \times 10^6 \text{ sel/ml}$$

b. Pembuatan Suspensi Sel (Stok)

Sel HeLa Untuk perlakuan =  $1 \times 10^4$  sel/sumuran

Jumlah sel yang di tanam dalam setiap sumuran adalah 10.000 sel

$$\text{Volume yang di ambil} = \frac{100 \times 10^4}{1,32 \times 10^6} = 0,75 \text{ ml} + \text{MK ad 10 ml}$$

2. Seri konsentrasi FNEEDBK

a. Pembuatan larutan stok konsentrasi 100.000  $\mu\text{g/ml}$

Sebanyak 12,2 mg FNEEDBK dilarutkan dalam 122  $\mu\text{l}$  DMSO (10 x Bobot ekstrak yang di timbang) Kemudian di vortex hingga homogeny.

$$\frac{12,2 \text{ mg}}{122 \mu\text{l}} \rightarrow \frac{12200 \mu\text{g}}{122 \mu\text{l}} \rightarrow 100.000 \mu\text{g/ml}$$

b. Pembuatan seri konsentrasi 1000  $\mu\text{g/ml}$

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

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

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

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



$$= 10 \mu\text{l FNEEDBK dari } 100.000 \mu\text{g/ml}$$

ditambah MK ad 1000  $\mu\text{l}$

dalam *conical tube* di resuspensi.

c. Pembuatan seri konsentrasi 750  $\mu\text{g/ml}$

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_3$$

$$V_1 \times 1000 \mu\text{g/ml} = 400 \mu\text{l} \times 750 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 750 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}}$$

$$= 300 \mu\text{l FNEEDBK dari } 1000 \mu\text{g/ml}$$

ditambah MK 100  $\mu\text{l}$

dalam *conical tube* di resuspensi,

kemudian 100  $\mu\text{l}$  campuran tersebut

diambil untuk dimasukkan dalam sumuran

dan di replikasi tiga kali

d. Pembuatan seri konsentrasi 500  $\mu\text{g/ml}$

$$V_1 \times C_1 = V_2 \times C_3$$

$$V_1 \times 1000 \mu\text{g/ml} = 400 \mu\text{l} \times 500 \mu\text{g/ml}$$

$$V_1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 500 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}}$$

$$= 200 \mu\text{l FNEEDBK dari } 1000 \mu\text{g/ml}$$

$$= 200 \mu\text{l FNEEDBK dari } 1000 \mu\text{g/ml}$$

ditambah MK 200  $\mu\text{l}$

dalam *conical tube* di resuspensi,

kemudian 100  $\mu\text{l}$  campuran tersebut

diambil untuk dimasukkan dalam sumuran  
dan di replikasi tiga kali

- e. Pembuatan seri konsentrasi 400  $\mu\text{g/ml}$

$$V1 \times C1 = V2 \times C3$$

$$V1 \times 1000 \mu\text{g/ml} = 400 \mu\text{l} \times 400 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 400 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}}$$

$$1000 \mu\text{g/ml}$$

$$= 160 \mu\text{l FNEEDBK dari } 1000 \mu\text{g/ml}$$

ditambah MK 240  $\mu\text{l}$

dalam *conical tube* di resuspensi,  
kemudian 100  $\mu\text{l}$  campuran tersebut  
diambil untuk dimasukkan dalam sumuran  
dan di replikasi tiga kali

- f. Pembuatan seri konsentrasi 300  $\mu\text{g/ml}$

$$V1 \times C1 = V2 \times C3$$

$$V1 \times 1000 \mu\text{g/ml} = 400 \mu\text{l} \times 300 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 300 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}}$$

$$1000 \mu\text{g/ml}$$

$$= 120 \mu\text{l FNEEDBK dari } 1000 \mu\text{g/ml}$$

ditambah MK 280  $\mu\text{l}$

dalam *conical tube* di resuspensi,  
kemudian 100  $\mu\text{l}$  campuran tersebut

diambil untuk dimasukkan dalam sumuran  
dan di replikasi tiga kali

g. Pembuatan seri konsentrasi 250  $\mu\text{g/ml}$

$$V1 \times C1 = V2 \times C3$$

$$V1 \times 1000 \mu\text{g/ml} = 400 \mu\text{l} \times 250 \mu\text{g/ml}$$

$$V1 = \frac{400 \mu\text{l} \times 250 \mu\text{g/ml}}{1000 \mu\text{g/ml}}$$

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

$$= 100 \mu\text{l FNEEDBK dari } 1000 \mu\text{g/ml}$$

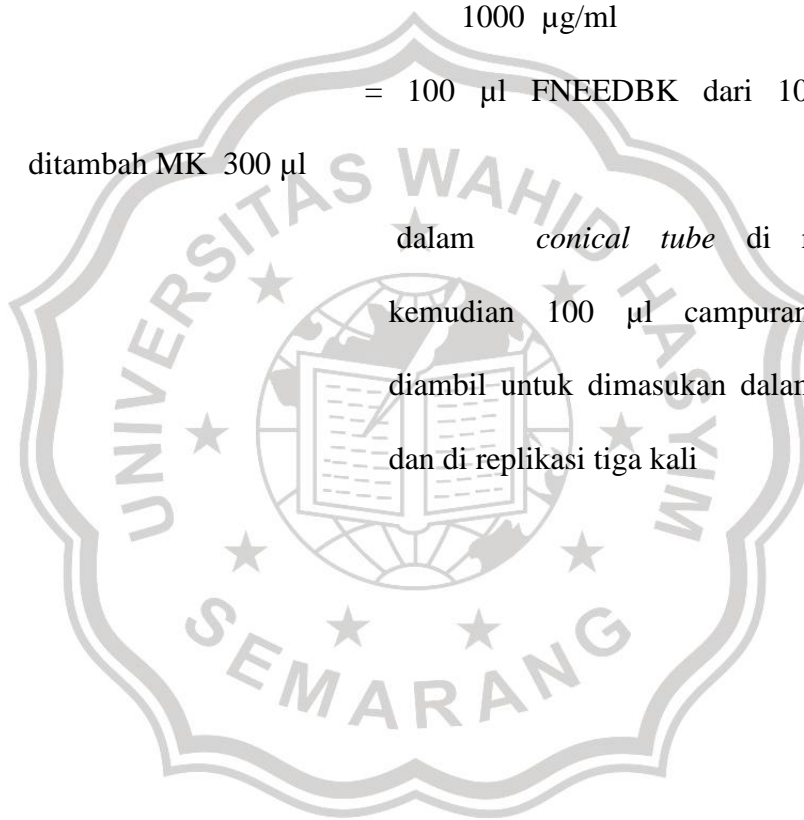
ditambah MK 300  $\mu\text{l}$

dalam *conical tube* di resuspensi,

kemudian 100  $\mu\text{l}$  campuran tersebut

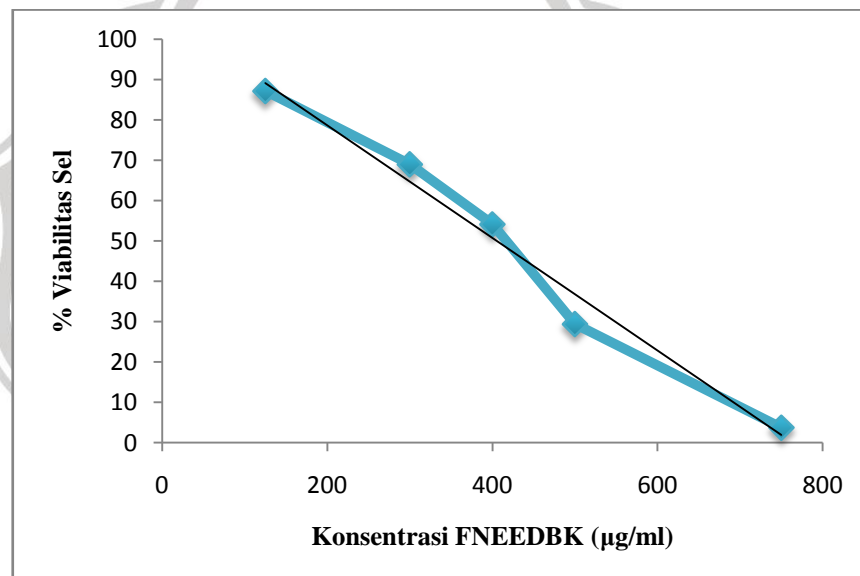
diambil untuk dimasukkan dalam sumuran

dan di replikasi tiga kali



**Lampiran 6.** Penentuan IC<sub>50</sub> FNEEDBK pada kanker serviks HeLa.

Konsentrasi FNEEDBK (µg/ml)	Absorbansi			Rerata	% Viabilitas Sel
	1	2	3		
750	0,119	0,116	0,121	0,118	3,732
500	0,416	0,413	0,228	0,352	29,381
400	0,538	0,623	0,572	0,577	54,116
300	0,681	0,729	0,729	0,713	68,971
250	0,908	0,912	0,815	0,878	87,120
Kontrol Sel	1,103	0,983	0,901	0,995	
Kontrol Media	0,086	0,084	0,084	0,084	



**Grafik Hubungan Kadar FNEEDBK vs % Viabilitas Sel.**

**Analisis Regresi Linier dengan Ms Excel 2007**

$$y = -0.139x + 106.5$$

$$R^2 = 0.978$$

Mencari IC<sub>50</sub> Sehingga Y =50

$$50 = -0.139x + 106.5$$

$$X = \frac{(106.5 - 50)}{-0.139} = 406,474$$

Sehingga diperoleh IC<sub>50</sub> FNEEDBK 406,474 µg/ml

**Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.**

Sortasi daging biji kluwak



Perajangan daging biji kluwak



Penimbangan daging biji kluwak



Pengeringan daging biji kluwak



Penyerbukan



Cek kadar air



## Lampiran 7. Lanjutan.



Penimbangan serbuk



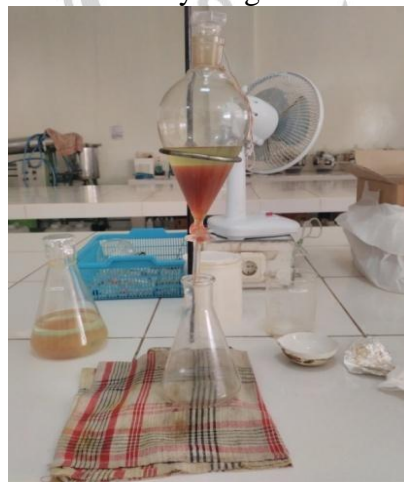
Ultrasonifikasi



Penyaringan



Rotary evaporator



Fraksinasi



Penimbangan fraksi kental

**Lampiran 7. Lanjutan.**

Penambahan DMSO



Vortex



Mikroskop inverted



Pembuatan seri konsentrasi



Treatment Ekstrak

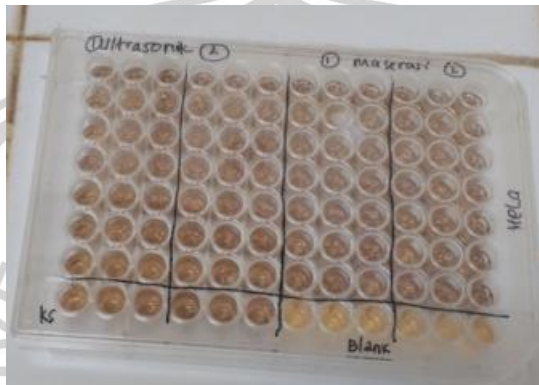
Inkubator CO<sub>2</sub>

**Lampiran 7. Lanjutan.**

LAF



Elisa Reader



96 Well Plate

