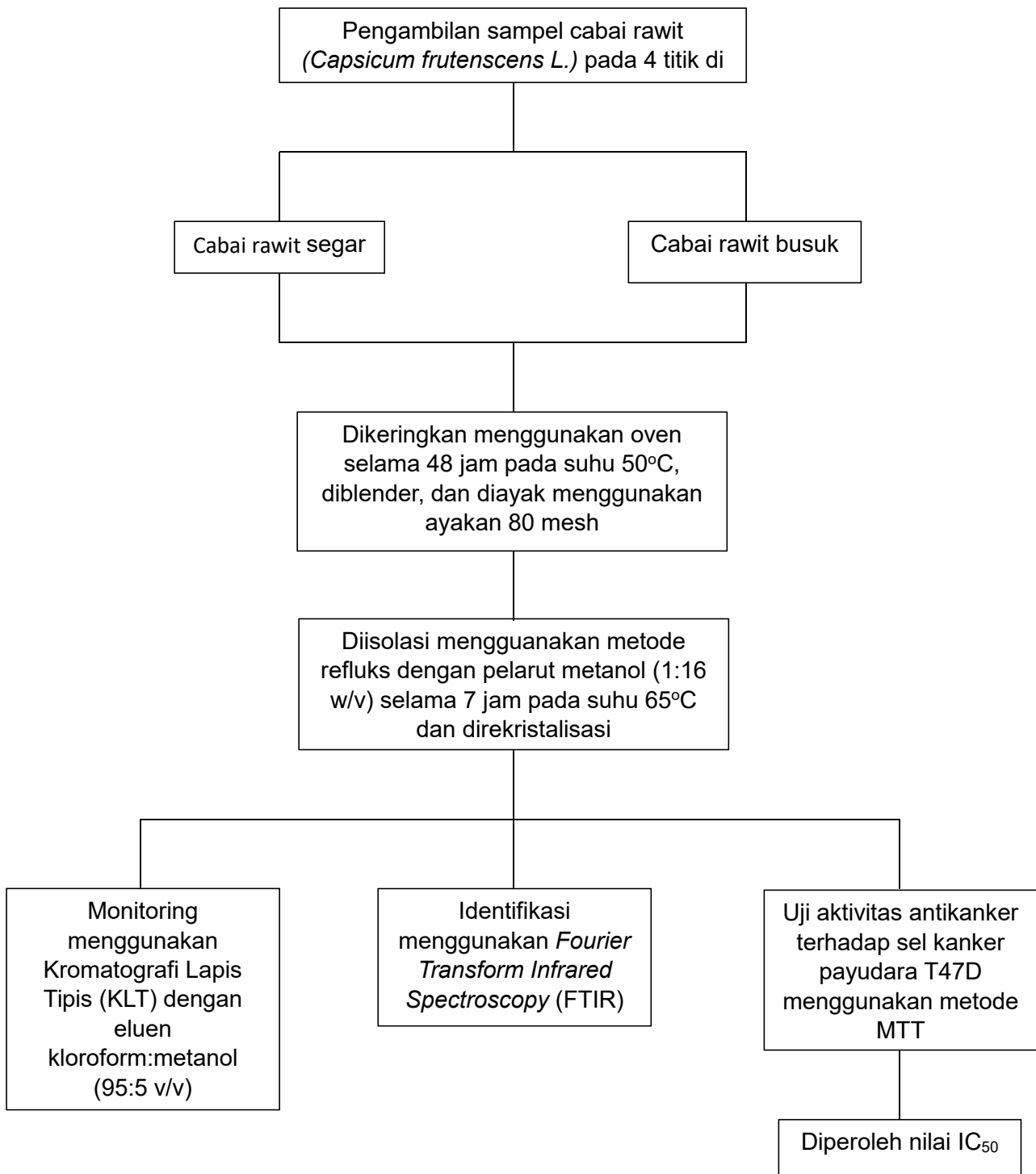


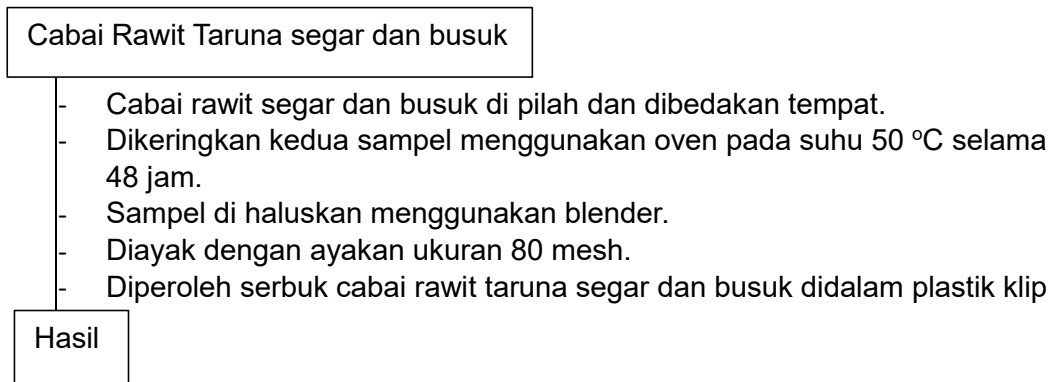
## LAMPIRAN

### Lampiran I. Rancangan Penelitian

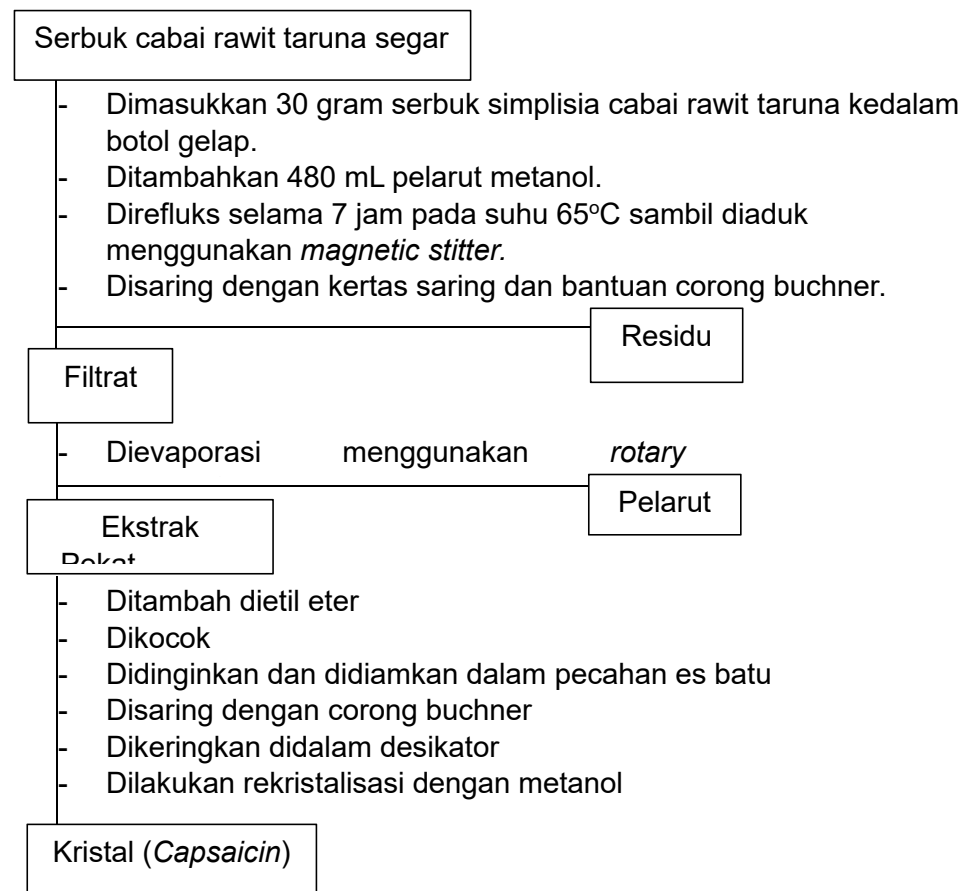


## Lampiran II. Diagram Alir

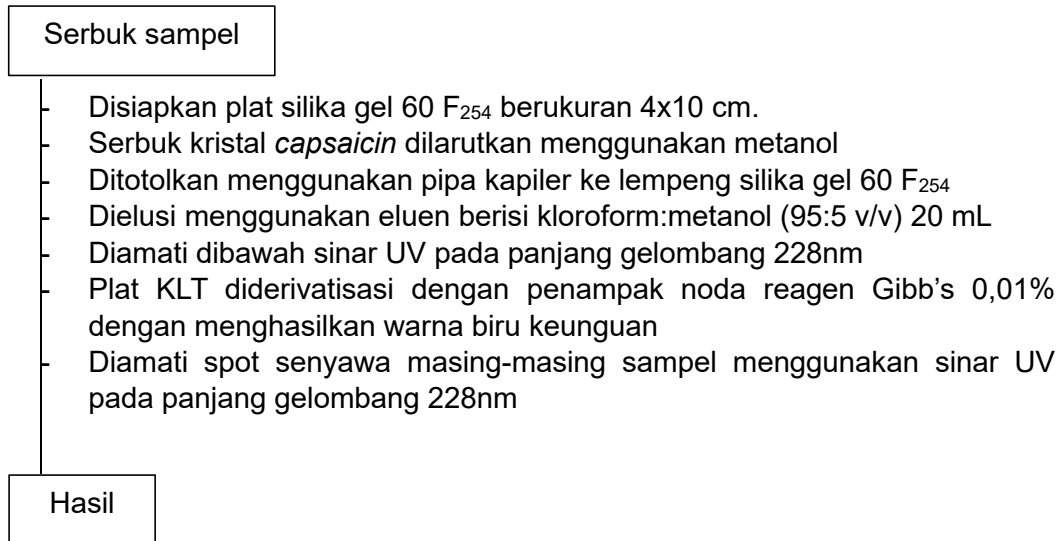
### L.2.1 Preparasi Sampel



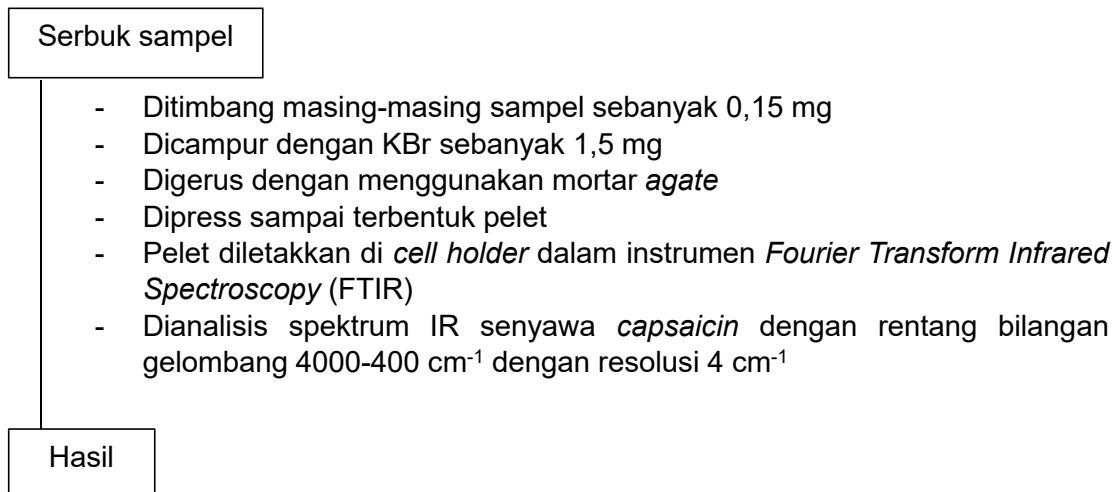
### L.2.2 Isolasi Metode Refluks dengan Pelarut Metanol



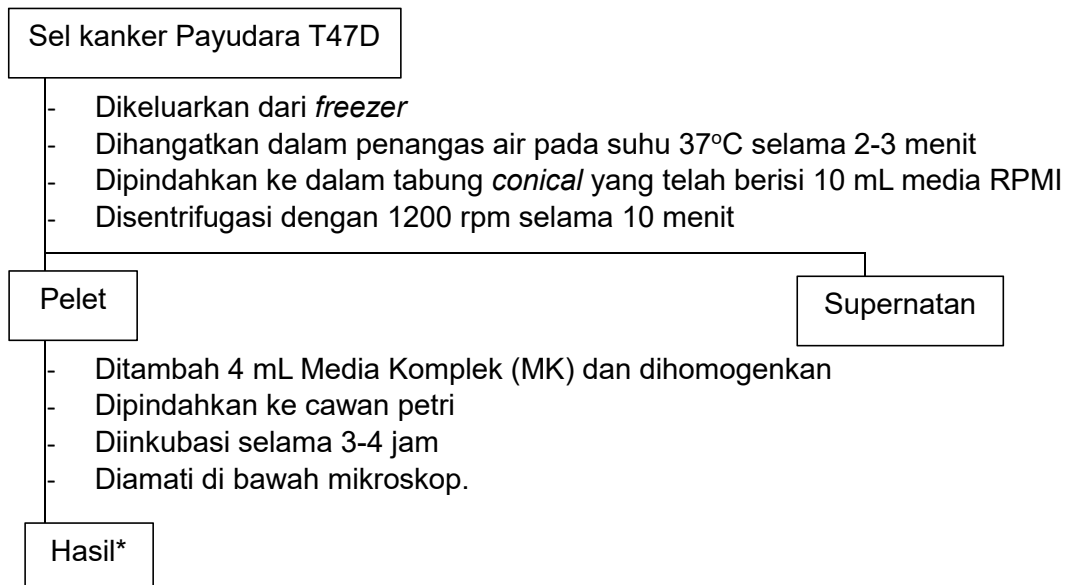
### L.2.3 Monitoring Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)



### L.2.4 Identifikasi Menggunakan *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (FTIR)

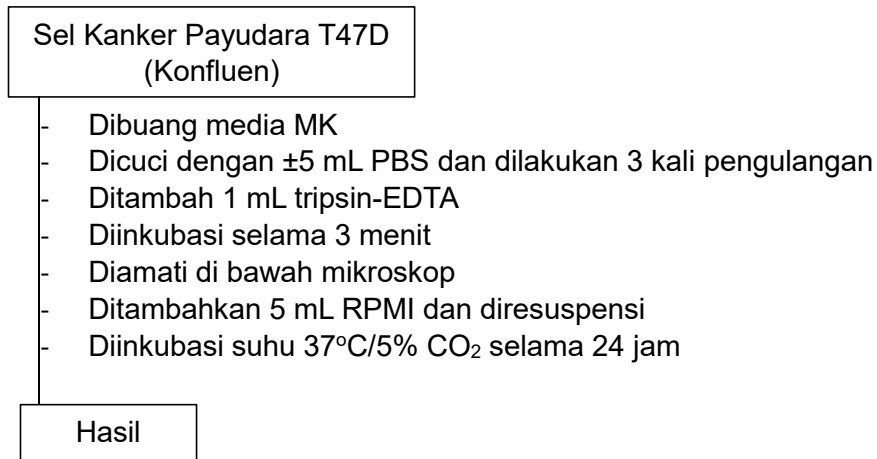


### L.2.5 Penyiapan Sel

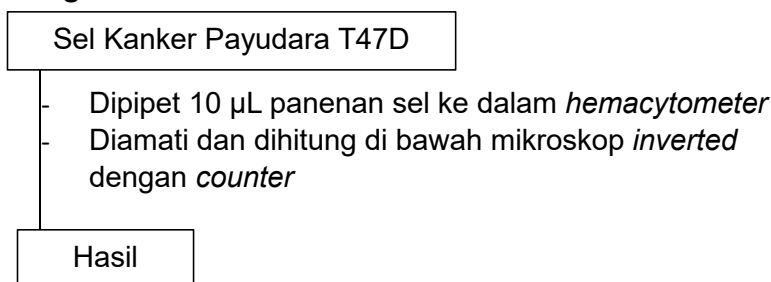


\*Apabila jumlah sel di dalam cawan petri telah konfluen maka dilakukan panen sel.

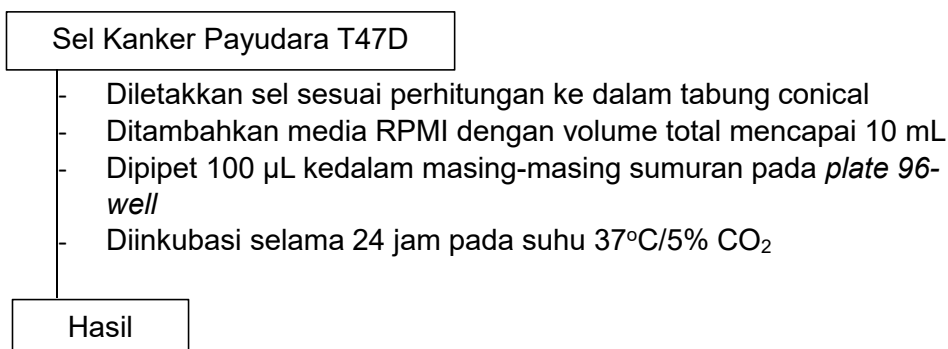
### L.2.6 Panen Sel



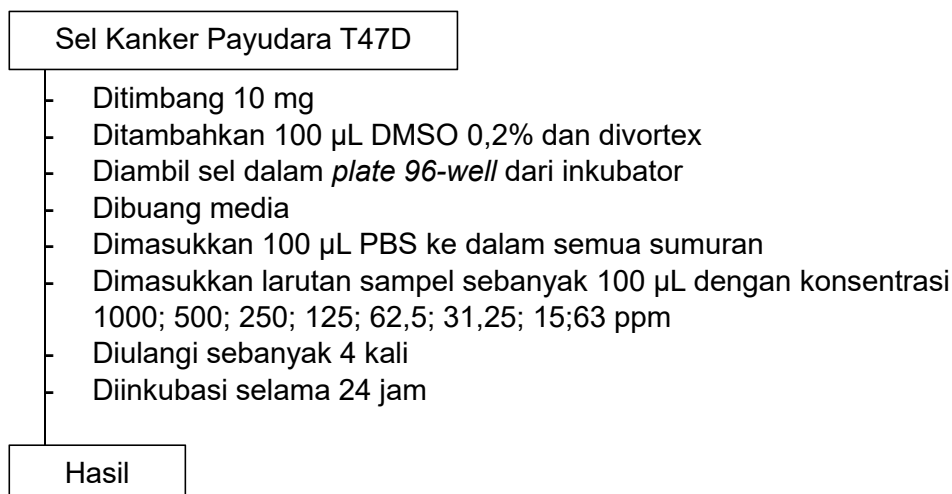
### L.2.7 Perhitungan Sel Kanker



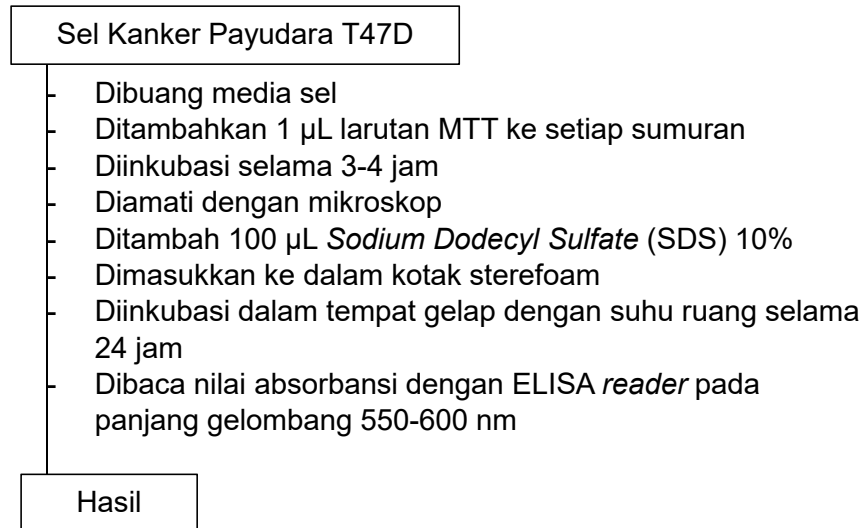
### L.2.8 Peletakan Sel pada Plate



### L.2.9 Pembuatan Larutan Sampel dan Pemberian Larutan Sampel pada *Plate*



### L.2.10 Pemberian Larutan *Methylthiazol Tetrazolium* (MTT)



### L.3 Perhitungan

#### L.3.1 Pembuatan Eluen Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pembuatan fase gerak (eluen) pada Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menggunakan kloroform:metanol (95:5 v/v) dalam 20mL.

$$\text{Kloroform} = \frac{95 \text{ mL}}{100 \%} \times 20\text{mL} = 19 \text{ mL}$$

$$\text{Metanol} = \frac{5 \text{ mL}}{100 \%} \times 20\text{mL} = 1 \text{ mL}$$

#### L.3.2 Pembuatan Larutan *Sodium Dodecyl Sulfate* (SDS) 10% (b/v)

$$\text{SDS } 10\% = \frac{1 \text{ g}}{10 \text{ mL}}$$

SDS (*Sodium Dodecyl Sulfate*) ditimbang sebanyak 1 g. Kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 mL. Akuades ditambahkan sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

#### L.3.3 Pembuatan Larutan Stok *Methylthiazol Tetrazolium* (MTT) (5 mg/mL)

Serbuk *Methylthiazol Tetrazolium* (MTT) ditimbang sebanyak 50 mg. Kemudian dilarutkan dalam 10 mL *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dan diaduk dengan vortex.

#### L.3.4 Pembuatan Larutan Dimetil sulfoksida (DMSO) 0,1%

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$99\% \times V_1 = 0,1\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,01 \text{ mL} = 10\mu\text{L}$$

Larutan Dimetil sulfoksida (DMSO) 99% diambil sebanyak 10 $\mu$ L dengan mikropipet. Kemudian dimasukkan dalam labu ukur 10 mL. Akuades ditambahkan sampai tanda batas dan dikocok hingga homogen.

#### L.3.5 Pembuatan Larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS)

Larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dapat dibuat dari 0,1 gram Kalium Klorida (KCl); 0,1 gram Kalium dihidrogen Fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>); 4 gram Natrium Klorida (NaCl) dan 1,08 gram NaHPO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O yang dilarutkan dalam 250 mL aquades steril. Kemudian dihomogenkan dalam beaker glas 500 mL dengan menggunakan *magnetic stirrer*, pH larutan diatur hingga mencapai 7,2 $\pm$ 0,2 dengan penambahan Hidrogen Klorida (HCl) 0,1 N atau dengan NaOH 0,1 N. Selanjutnya, larutan dipindahkan ke dalam labu ukur 500 mL, ditambahkan aquades steril hingga tanda batas dan dihomogenkan.

#### L.3.6 Pembuatan Media Kompleks

*Fetal Bovine Serume* (FBS) 10% dan pinisilin-streptomisin dicairkan pada suhu kamar, disiapkan botol duran 100 mL. Diambil 10 mL *Fetal Bovine Serume* (FBS) dengan menggunakan pipet volume 10 mL kemudian dimasukkan ke dalam botol duran. Pinisilin-streptomisin diambil 1 mL dengan pipet ukur dan dimasukkan ke dalam botol duran. Ditambahkan fungizon 0,5 mL dan media cair (RPMI) sampai 100 mL.

#### L.3.7 Pembuatan Larutan Stok Masing-Masing Sampel

Masing-masing ekstrak ditimbang sebanyak 10 mg dan dilarutkan ke dalam Dimetil sulfoksida (DMSO) 100 $\mu$ L (0,0100g/100  $\mu$ L)

$$\frac{0,0100 \text{ g}}{100/1000} \rightarrow 0,0100 \times \frac{1000}{100} \text{ mL} = 0,0100 \text{ g} \times 10 \text{ mL} = 0,100 \text{ g/mL}$$

Hasil dikonversikan ke  $\mu\text{g/mL}$

$$0,100 \text{ g/mL} \times 1000000 = 100000 \mu\text{g/mL}$$

### L.3.8 Pembuatan Kontrol Positif

$$\text{Stok doxorubicin} = 2 \text{ mg/mL}$$

$$\text{BM} = 543,52$$

$$\text{Larutan Stok} \frac{2 \text{ mg}}{543,52} \times \frac{1000}{1 \text{ mL}} = 3679720 \text{ nM}$$