

LAMPIRAN 1. PENATALAKSANAAN SEDIAAN HISTOPATOLOGI⁴⁴

1. Kontainer untuk menyimpan jaringan diisi cairan formalin buffer 10% , dengan volume lebih kurang 5 kali volume jaringan.
2. Jaringan dimasukkan dalam wadah secepat mungkin, kurang dari 30 menit setelah terminasi.
3. Pemilihan potong basah sediaan, dipilih jaringan yang representatif, dipotong setebal 3-4mm, dimasukkan dalam kaset.
4. Kaset berisi jaringan sediaan direndam dalam formalin buffer fosfat 10%, atau alkohol.
5. Wadah kaset dimasukkan dalam tissue processor untuk dilakukan processing jaringan, dengan tahapan sebagai berikut :
 - a. Formalin 10% selama 0 sampai 3 jam, bergantung pada kesempurnaan fixasi jaringan sebelumnya.
 - b. Tahap dehidrasi :
 - 1). Alkohol 70% 30 menit
 - 2). Alkohol 95% 30 menit
 - 3). Alkohol 100% 30 menit
 - 4). Alkohol 100% 60 menit
 - 5). Alkohol 100% 60 menit
 - 6). Alkohol 100% 60 menit
 - 7). Alkohol 100%/xylol 30 menit

- c. Tahap Clearing :
 - 1). Xylol 1 jam
 - 2). Xylol 2 jam
- d. Impregnasi :
 - 1). Parafin 2 ½ jam
 - 2). Parafin 4 jam
- 6. Pembuatan blok parafin :
 - a. Jaringan dimasukkan dalam base mould dan diisi parafin cair
 - b. Parafin dibiarkan membeku dan diletakkan pada lempeng pendingin dengan suhu 20-25°C.
- 7. Blok jaringan dipotong dengan mikrotom putar, dengan ketebalan 3-4 mikron.
- 8. Pita parafin hasil pemotongan , diletakkan pada floating bath dan ditempelkan pada kaca benda.
- 9. Kaca benda dengan pita parafin diletakkan pada lempeng penghangat dengan suhu 60°C.

LAMPIRAN 2. STANDART PENGECATAN RUTIN JARINGAN

(Staining Haematoxyllin-Eosin)⁴⁵

Sediaan yang telah diletakkan pada kaca benda, kemudian dicelupkan dalam reagen-reagen untuk proses pengecatan, sebagai berikut :

1. Xylol
2. Xylol
3. Etanol absolut
4. Etanol absolut
5. Etanol 95%
6. Etanol 95%
7. Etanol 80%
8. Cuci air 10-15 menit
9. Mayer's Haematoxyllin 15 menit
10. Air mengalir 15 menit
11. Etanol 80% 1-2 menit
12. Eosin 15 detik – 2 menit
13. Etanol 95% 2 menit
14. Etanol 95% 2 menit
15. Etanol absolut 2 menit
16. Etanol absolut 2 menit
17. Etanol absolut 2 menit
18. Xylol 2 menit
19. Xylol 2 menit
20. Xylol 2 menit
21. Setelah seluruh proses selesai, dilakukan *mounting* pada sediaan preparat dan ditutup *deck glass*.

LAMPIRAN 3. METODE PEMBUATAN SEDIAAN IMUNOHISTOKIMIA



1. Deparafinisasi/Rehidrasi
 - a. Sediaan prepat dimasukkan dalam xylol selama 3x5 menit (deparafinisasi),
 - b. Direhidrasi dalam etanol 100%, 100%, 95%, 80% masing-masing selama 3 menit, dan dibilas dengan air mengalir selama 5 menit.
 - c. Diinokulasi selama 10-20 menit dengan H₂O₂ 3%, dibilas air, dicuci PBS sebanyak 2-3x selama masing-masing 3-5 menit.
2. Antigen retrieval

Dilakukan Heat Induced Epitope Retrieval (HIER) :


 - a. Sediaan dimasukkan dalam larutan buffer salin
 - b. Sampel dipanaskan dengan suhu 600°C selama 7 menit dan dilanjutkan dengan suhu 450°C sampai menit ke-20.
 - c. Sediaan didinginkan dalam buffer sitrat pada suhu ruangan selama 20-30 menit.
 - d. Sediaan dibilas PBS selama 3x 3-5 menit.
 - e. Sediaan ditetesi dengan normal serum selama 5 menit tanpa dicuci.
3. Antibodi Primer
 - a. Antibodi ditetesi pada jaringan sampai menutup seluruh permukaannya (~200µL).
 - b. Sediaan diletakkan pada ruangan yang lembab (25°C) untuk mengurangi penguapan reagen selama 30 menit.
 - c. Sediaan diinkubasi sesuai dengan waktu dan suhu yang ditentukan, kemudian dibilas dengan PBS selama 3x 3-5menit.
4. Antibody sekunder

Jaringan dilapisi dengan 4-5 tetes

LAMPIRAN 4. ETHICAL CLEARANCE

	<p>KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KEPK) FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO DAN RSUP dr KARIADI SEMARANG Sekretariat : Kantor Dekanat FK Undip Lt.3 Jl. Dr. Soetomo 18. Semarang Telp.024-8311523/Fax. 024-8446905</p>	
<p>ETHICAL CLEARANCE No.177 /EC/FK-RSDK/2014</p> <p>Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro/ RSUP. dr. Kariadi Semarang, setelah membaca dan menelaah Usulan Penelitian dengan judul :</p> <p style="text-align: center;">EKSPRESI PROTEIN p53 DAN Bcl2 PADA KARSINOMA MAMMAE MENCIT C3H YANG DIBERI EKSTRAK SALVIA MILTIORRHIZAE BUNGE</p> <p>Peneliti Utama : dr. Liza Suryani Dewi</p> <p>Pembimbing : 1. Prof. Dr. dr. Sarjadi, Sp.PA(K) 2. dr. Noor Wijayahadi, M.Kes, Sp.FK</p> <p>Penelitian : Dilaksanakan di Laboratorium Patologi Eksperimental Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia dan laboratorium Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Undip Semarang</p> <p>Setuju untuk dilaksanakan, dengan memperhatikan prinsip-prinsip yang dinyatakan dalam Deklarasi Helsinki 1975, yang diamended di Seoul 2008 dan Pedoman Nasional Etik Penelitian Kesehatan (PNEPK) Departemen Kesehatan RI 2011</p> <p>Pada laporan akhir peneliti harus melampirkan cara pemeliharaan & dekapitasi hewan coba dan melaporkan ke KEPK bahwa penelitian sudah selesai di lampiri Abstrak.</p> <p style="text-align: right;">Semarang, 16 APR 2014</p> <p style="text-align: right;">Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Undip/RSUP Dr. Kariadi Ketua,</p> <p style="text-align: right;">Prof.Dr.dr.Suprihati, M.Sc, Sp.THT-KL(K) NIP. 19500621197703 2 001</p>		

LAMPIRAN 5. SURAT IZIN PELAKSANAAN PENELITIAN



UNIVERSITAS INDONESIA
FAKULTAS KEDOKTERAN
DEPARTEMEN PATOLOGI ANATOMIK

Jl. Salemba Raya No. 6, Tromolpos 3225, Jakarta 10002
Telp. (021)3190 5888, Fax. : (021)3193 4465 E-mail : pakanoko@cbn.net.id

SURAT IZIN PELAKSANAAN PENELITIAN
(SIPP)

Dengan ini dinyatakan bahwa :

Nama	: dr. Liza Suryani Dewi
Tempat & Tanggal Lahir	: Magelang, 14 Oktober 1975
NIP	: 19751014 200604 2 009
Bagian/Instansi Asal	: Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang
Judul Penelitian	: Ekspresi Protein P53 dan Bcl2 pada Karsinoma Mammae Mencit C3H yang Diberi Ekstrak Salvia Miltiorrhizae Bunge

Telah memenuhi segala prasyarat administratif kerjasama/bantuan penelitian dengan Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo.

Untuk itu kepada peneliti tersebut di atas diberi izin untuk memulai pelaksanaan kegiatan penelitian di Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSUPN Dr. Cipto Mangunkusumo dengan jenis pekerjaan administratif/laboratorik berupa :

Biaya Pemeliharaan 35 Ekor Selama 31 Hari, Pembuatan Blok Parafin 31 Kasus


Selama kegiatan penelitian, peneliti akan didampingi oleh Staf Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia : -

Teknisi yang membantu :

- Teknisi Laboratorium Eksperimental (Sdr. Slamet H.)

Rincian Biaya digabung (No. Kwitansi : S. 111306)

Jakarta, 10 Maret 2014
Koordinator Penelitian
Departemen Patologi Anatomi FKUI/RSCM



dr. Maria Francisca Ham, PhD., SpPA
NIP. 19670920 199803 2 001

Tindakan :

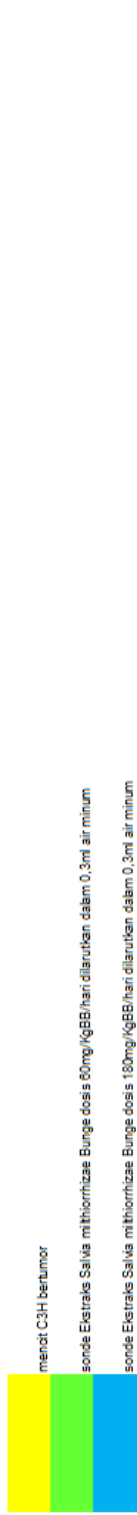
1. Peneliti Pendamping
2. Kepala Laboratorium
3. Teknisi Laboratorium

LAMPIRAN 6. KALENDER PENELITIAN

KALENDER PENELITIAN

Hari	Senin	Selasa	Rabu	Kamis	Jumat	Sabtu	Minggu	Senin	Selasa	Rabu	Kamis	Jumat	Sabtu	Minggu	Senin	Selasa	Rabu	Kamis	Jumat	Sabtu	Minggu	Senin									
hari pelaksanaan	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31
TANGGAL	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31									
KONTROL																															
P1 60 MG/KGBB																															
P2 180 MG/KGBB																															

terminasi 1 ekor mencit untuk melihat jenis keganasannya
 mencit C3H bertumor
 sonda Ekstraks Saliva mithionizase Bunge dosis 60mg/KgBB/hari dilarutkan dalam 0,3ml air minum
 sonda Ekstraks Saliva mithionizase Bunge dosis 180mg/KgBB/hari dilarutkan dalam 0,3ml air minum



LAMPIRAN 7. DATA HASIL PENELITIAN ALLRED SCORE

	Kelompok	Bcl2_1	Bcl2_2	p53_1	p53_2
1	1,00	7,00	7,00	3,00	3,00
2	1,00	7,00	7,00	3,00	3,00
3	1,00	7,00	7,00	3,00	3,00
4	1,00	7,00	7,00	3,00	3,00
5	1,00	7,00	7,00	4,00	4,00
6	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
7	1,00	6,00	6,00	4,00	4,00
8	1,00	7,00	7,00	3,00	3,00
9	1,00	7,00	7,00	3,00	3,00
10	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
11	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
12	1,00	6,00	6,00	4,00	4,00
13	1,00	6,00	6,00	4,00	4,00
14	1,00	6,00	6,00	4,00	4,00
15	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
16	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
17	1,00	7,00	7,00	3,00	3,00
18	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
19	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
20	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
21	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
22	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
23	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
24	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
25	1,00	6,00	6,00	3,00	3,00
26	1,00	6,00	6,00	4,00	4,00
27	1,00	6,00	6,00	6,00	6,00
28	1,00	7,00	7,00	3,00	3,00
29	1,00	6,00	6,00	4,00	4,00
30	1,00	6,00	6,00	4,00	4,00
31	2,00	6,00	6,00	4,00	4,00
32	2,00	6,00	6,00	3,00	3,00
33	2,00	5,00	6,00	4,00	4,00
34	2,00	6,00	6,00	5,00	5,00
35	2,00	5,00	6,00	5,00	5,00
36	2,00	6,00	6,00	5,00	5,00
37	2,00	6,00	6,00	4,00	4,00
38	2,00	6,00	6,00	4,00	4,00
39	2,00	6,00	6,00	4,00	4,00
40	2,00	6,00	6,00	4,00	4,00
41	2,00	5,00	5,00	3,00	3,00
42	2,00	4,00	4,00	3,00	3,00
43	2,00	4,00	4,00	4,00	3,00
44	2,00	4,00	5,00	4,00	4,00

	Kelompok	Bcl2_1	Bcl2_2	p53_1	p53_2
45	2,00	4,00	5,00	5,00	5,00
46	2,00	5,00	6,00	4,00	4,00
47	2,00	6,00	6,00	5,00	5,00
48	2,00	4,00	4,00	4,00	3,00
49	2,00	5,00	5,00	5,00	5,00
50	2,00	4,00	4,00	4,00	5,00
51	2,00	5,00	5,00	4,00	4,00
52	2,00	5,00	5,00	3,00	4,00
53	2,00	6,00	6,00	4,00	4,00
54	2,00	6,00	6,00	3,00	4,00
55	2,00	5,00	5,00	3,00	4,00
56	2,00	6,00	6,00	3,00	4,00
57	2,00	6,00	6,00	3,00	4,00
58	2,00	6,00	6,00	3,00	4,00
59	2,00	6,00	6,00	3,00	4,00
60	2,00	6,00	6,00	3,00	3,00
61	3,00	4,00	4,00	6,00	6,00
62	3,00	4,00	4,00	5,00	5,00
63	3,00	4,00	5,00	5,00	5,00
64	3,00	5,00	5,00	5,00	5,00
65	3,00	5,00	6,00	5,00	5,00
66	3,00	4,00	4,00	6,00	6,00
67	3,00	4,00	4,00	6,00	6,00
68	3,00	4,00	5,00	6,00	6,00
69	3,00	6,00	5,00	4,00	6,00
70	3,00	6,00	6,00	6,00	6,00
71	3,00	4,00	4,00	6,00	5,00
72	3,00	4,00	4,00	6,00	6,00
73	3,00	4,00	4,00	6,00	5,00
74	3,00	3,00	4,00	6,00	6,00
75	3,00	3,00	3,00	5,00	5,00
76	3,00	3,00	3,00	3,00	3,00
77	3,00	4,00	4,00	4,00	4,00
78	3,00	4,00	4,00	3,00	4,00
79	3,00	4,00	4,00	3,00	4,00
80	3,00	4,00	4,00	3,00	3,00
81	3,00	4,00	4,00	4,00	3,00
82	3,00	5,00	5,00	5,00	5,00
83	3,00	4,00	4,00	4,00	6,00
84	3,00	4,00	4,00	4,00	5,00
85	3,00	4,00	4,00	5,00	5,00
86	3,00	6,00	6,00	4,00	5,00
87	3,00	6,00	6,00	5,00	5,00
88	3,00	6,00	6,00	5,00	5,00

	Kelompok	Bcl2_1	Bcl2_2	p53_1	p53_2
89	3,00	6,00	6,00	4,00	4,00
90	3,00	6,00	6,00	5,00	5,00

Lampiran 8. Foto-foto Penelitian

Persiapan Obat



Persiapan Mencit C3H





Persiapan Pemeliharaan





Cara Sonde obat per oral per hari



Persiapan Terminasi



Cara terminasi



Pengambilan jaringan tumor mencit C3H





Alat-alat prosesi jaringan



Alat pemotong blok parafin



Persiapan Staining Jaringan

