

LAMPIRAN

Lampiran 1. Keterangan laik etik penelitian



**KOMISI ETIK PENELITIAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"**

No: 779-KEP-UB

**KOMISI ETIK PENELITIAN (ANIMAL CARE AND USE COMMITTEE)
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
TELAH MEMPELAJARI SECARA SEKSAMA RANCANGAN PENELITIAN YANG
DIUSULKAN, MAKA DENGAN INI MENYATAKAN BAHWA:**

PENELITIAN BERJUDUL : PENGARUH EKSTRAK LEMON (*Citrus limon*)
TERHADAP PROFIL SEL-SEL IMUNOKOMPETEN PADA
MENCIT BETINA (*Mus musculus*) Model Kanker
Payudara Injeksi DMBA (*7,12 dimethylbenz(a)anthracene*)

PENELITI : MUHAIMIN RIFA'I

UNIT/LEMBAGA/TEMPAT : UNIVERSITAS BRAWIJAYA

DINYATAKAN : LAIK ETIK

Malang, 24 Mei 2017
Ketua Komisi Etik Penelitian
Universitas Brawijaya

Prof.Dr.drh. Aulanni'am, DES.
NIP. 19600903 198802 2 001

LG11. Sertifikat laik etik penelitian dari KEP-UB

Lampiran 2. Perhitungan konversi dosis DMBA

Dosis DMBA yang diinjeksikan pada mencit dihitung dengan perhitungan konversi dosis sebagai berikut:

Dosis DMBA (Jayakumar dkk., 2014) yaitu 7,5 mg/kg BB.

Perhitungan konversi dosis DMBA yang akan digunakan:

$7,5 \text{ mg/kg} \times 0,16 = 1,2 \text{ mg/kg}$ konversi dosis dari tikus ke manusia.

$1,2 \text{ mg/kg} : 0,08 = 15 \text{ mg/kg} = 0,015 \text{ mg/g}$ BB konversi dosis dari manusia ke mencit.

Lampiran 3. Perhitungan volume injeksi subkutan DMBA

Volume DMBA yang diinjeksikan secara subkutan pada masing-masing mencit dihitung dengan rumus berikut:

$$\text{Volume injeksi (mL)} = \frac{\text{BB mencit}}{\text{BB rata-rata mencit}} \times V \text{ (mL)}$$

Keterangan:

Volume injeksi (mL) = volume DMBA yang akan diinjeksikan pada masing-masing mencit.

BB mencit (g) = berat badan masing-masing mencit.

BB rata-rata (g) = berat badan rata-rata mencit yang akan diberi perlakuan.

V (mL) = volume acuan untuk injeksi subkutan pada mencit (100 μ L atau 0,1 mL).

Lampiran 4. Perhitungan dosis ekstrak lemon

Konsentrasi ekstrak lemon setiap dosis yang dilarutkan dengan akuades, ditentukan dengan rumus sebagai berikut:

Dosis 1 (50 mg/kg BB)

Dosis 2 (200 mg/kg BB)

$$\text{Konsentrasi (mg/mL)} = \frac{\text{Dosis (mg/kg BB)} \times \text{BB rata-rata (kg)}}{V \text{ (mL)}}$$

Keterangan:

Konsentrasi (mg/mL) = konsentrasi ekstrak lemon yang akan dilarutkan dengan per 1 mL larutan akuades.

Dosis (mg/kg BB) = dosis yang digunakan dalam perlakuan.
 BB (kg) = berat badan rata-rata mencit yang akan diberi perlakuan.
 V (mL) = volume acuan lambung mencit (500 μ L atau 0,5 mL).

Lampiran 5. Perhitungan volume sonde ekstrak lemon

Volume ekstrak lemon yang akan diberikan secara oral (teknik sonde) pada masing-masing mencit perlakuan dihitung dengan rumus:

$$\text{Volume sonde (mL)} = \frac{\text{BB mencit}}{\text{BB rata-rata mencit}} \times V \text{ (mL)}$$

Keterangan:

Volume sonde (mL) = volume ekstrak lemon yang akan diberikan secara oral (teknik sonde) pada masing-masing mencit perlakuan.
 BB mencit (g) = berat badan masing-masing mencit.
 BB rata-rata (g) = berat badan rata-rata mencit yang akan diberi perlakuan.
 V (mL) = volume acuan lambung mencit (500 μ L atau 0,5 mL).

Lampiran 6. Hasil analisis ragam ANOVA dengan uji lanjutan Tukey HSD menggunakan program SPSS 16.0 *for Windows*

LT2. Hasil uji normalitas jumlah relatif sel CD68⁺IL17⁺, sel NK dan sel Gr-1 pada masing-masing perlakuan

	Perlakuan	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	Df	Sig.	Statistic	df	Sig.
CD68_IL17	N	0.175	3	.	1.000	3	1.000
	D	0.175	3	.	1.000	3	0.998
	DL50	0.175	3	.	1.000	3	1.000
	DL200	0.175	3	.	1.000	3	0.997
NK	N	0.178	3	.	0.999	3	0.956
	D	0.175	3	.	1.000	3	1.000
	DL50	0.175	3	.	1.000	3	1.000
	DL200	0.175	3	.	1.000	3	1.000
Gr1	N	0.175	3	.	1.000	3	0.997
	D	0.175	3	.	1.000	3	1.000
	DL50	0.175	3	.	1.000	3	1.000
	DL200	0.175	3	.	1.000	3	1.000

LT3. Hasil uji homogenitas jumlah relatif sel CD68⁺IL17⁺, sel NK dan sel Gr-1 pada masing-masing perlakuan

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
CD68_IL17	1.304	3	8	0.338
NK	1.01	3	8	0.437
Gr1	0.898	3	8	0.483

LT4. Hasil uji ANOVA jumlah relatif sel CD68⁺IL17⁺, sel NK dan sel Gr-1 pada masing-masing perlakuan

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CD68_IL17	Between Groups	120.489	3	40.163	17.052	0.001
	Within Groups	18.843	8	2.355		
	Total	139.332	11			
NK	Between Groups	14.703	3	4.901	19.49	0
	Within Groups	2.012	8	0.251		
	Total	16.715	11			
Gr1	Between Groups	411.314	3	137.105	26.198	0
	Within Groups	41.867	8	5.233		
	Total	453.18	11			

LT5. Hasil uji Tukey jumlah relatif sel CD68⁺IL17⁺ pada masing-masing perlakuan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
N	3	5.06	
DL200	3	5.5567	
DL50	3		11.34
D	3		11.9067
Sig.		0.977	0.967

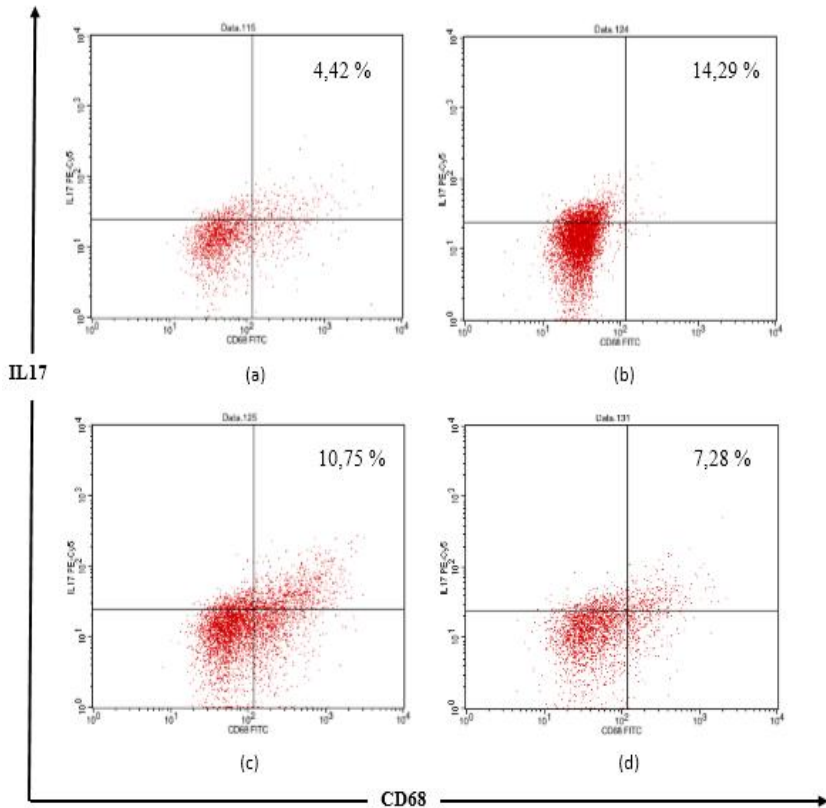
LT6. Hasil uji Tukey jumlah relatif sel NK pada masing-masing perlakuan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
N	3	0.4567	
DL200	3	1.32	
DL50	3		2.85
D	3		3.16
Sig.		0.229	0.871

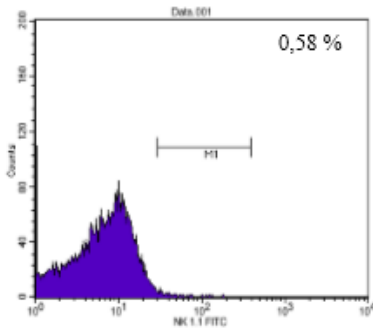
LT7. Hasil uji Tukey jumlah relatif sel Gr-1 pada masing-masing perlakuan

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
N	3	10.1067	
DL200	3	13.11	
DL50	3		22.33
D	3		23.82
Sig.		0.426	0.854

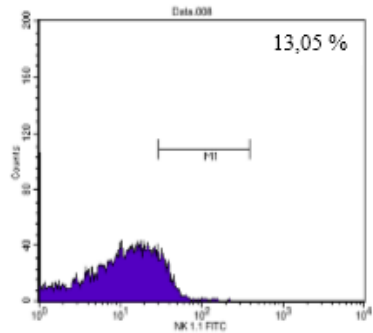
Lampiran 7. Hasil running flowcytometry



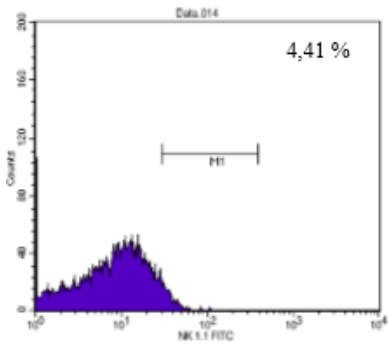
LG12. Persentase jumlah relatif sel CD68⁺IL17⁺, (a) Mencit Normal (N), (b) Mencit DMBA (D), (c) Mencit DMBA + EL 50 mg/kg BB (DL50), (d) Mencit DMBA + EL 200 mg/kg BB (DL200)



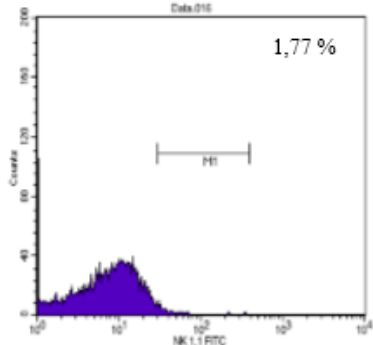
(a)



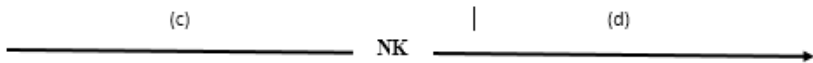
(b)



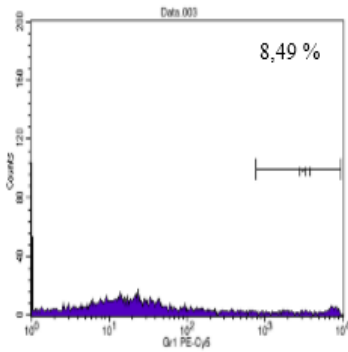
(c)



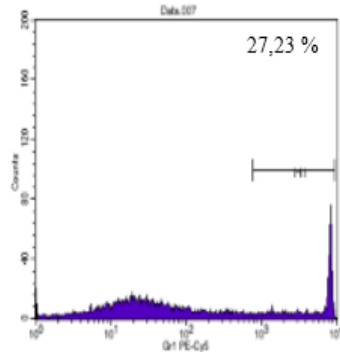
(d)



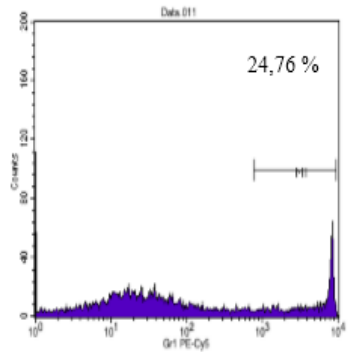
LG13. Persentase jumlah relatif sel NK, (a) Mencit Normal (N), (b) Mencit DMBA (D), (c) Mencit DMBA + EL 50 mg/kg BB (DL50), (d) Mencit DMBA + EL 200 mg/kg BB (DL200)



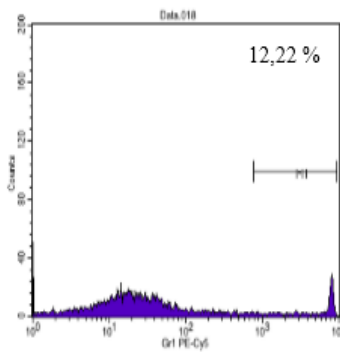
(a)



(b)



(c)

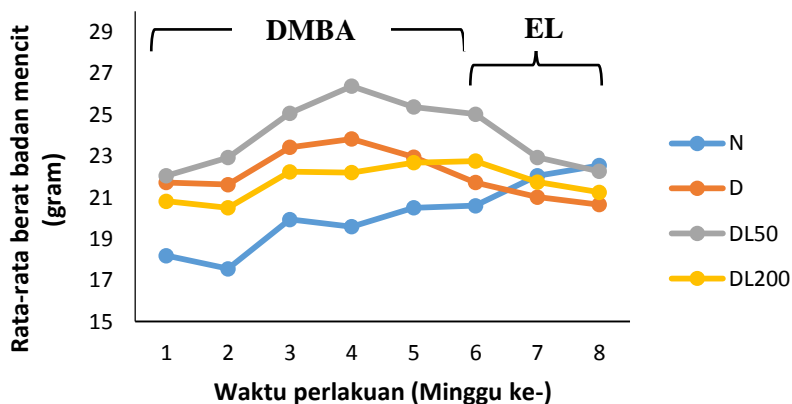


(d)

————— Gr-1 —————>

LG14. Persentase jumlah relatif sel Gr-1, (a) Mencit Normal (N), (b) Mencit DMBA (D), (c) Mencit DMBA + EL 50 mg/kg BB (DL50), (d) Mencit DMBA + EL 200 mg/kg BB (DL200)

Lampiran 8. Berat badan mencit



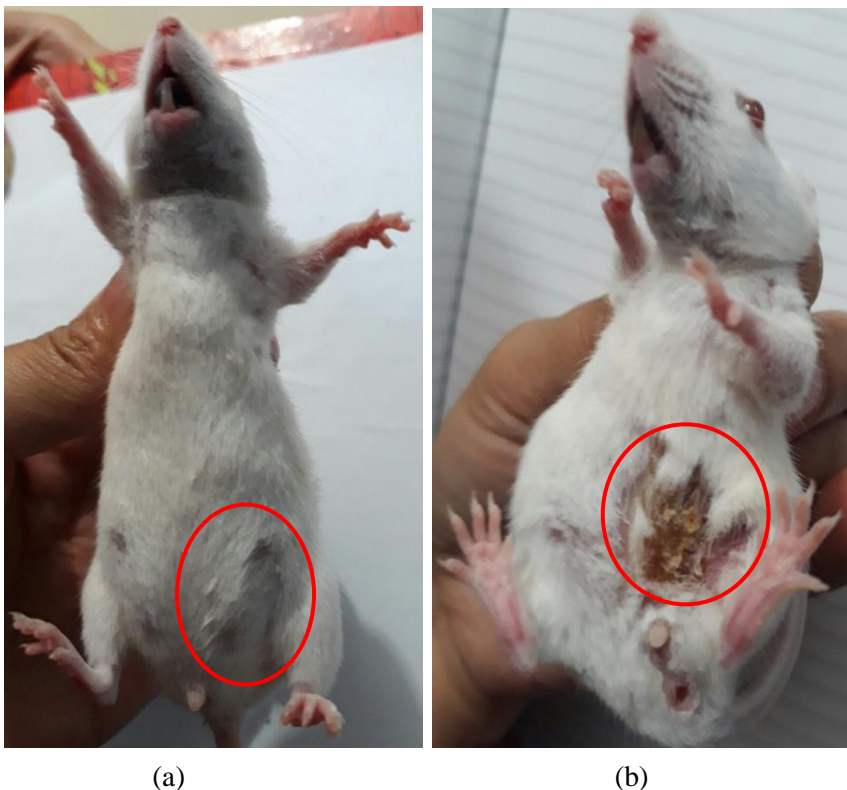
LG15. Berat Badan Mencit selama Perlakuan. Minggu ke 1-6 = Perlakuan injeksi DMBA secara subkutan pada mencit D, DL50 dan DL200. Minggu ke 6-8 = Perlakuan pemberian EL secara oral pada mencit DL50 dan DL200

Lampiran 9. Tabel konversi FDA (*Food Drug Administration*)

LT8. Konversi dosis

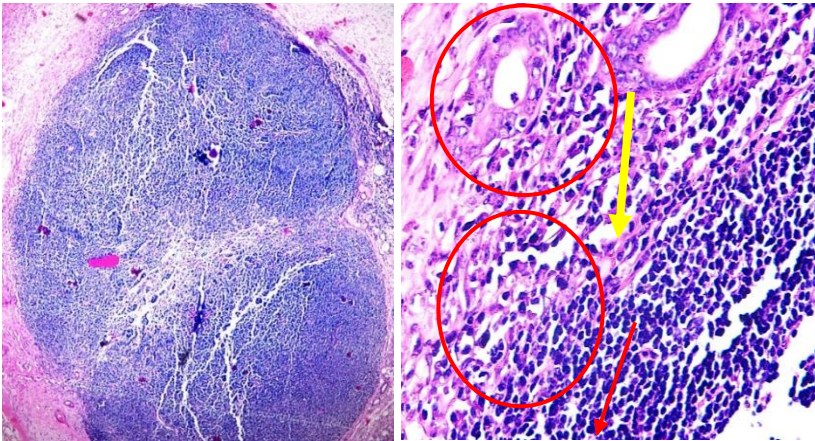
Species	To Convert Animal Dose in mg/kg to Dose in mg/m ² , Multiply by _{km}	To Convert Animal Dose in mg/kg to HED ^a in mg/kg, Either:	
		Divide Animal Dose By	Multiply Animal Dose By
Human	37	---	---
Child (20 kg) ^b	25	---	---
Mouse	3	12.3	0.08
Hamster	5	7.4	0.13
Rat	6	6.2	0.16
Ferret	7	5.3	0.19
Guinea pig	8	4.6	0.22
Rabbit	12	3.1	0.32
Dog	20	1.8	0.54
Primates:			
Monkeys ^c	12	3.1	0.32
Marmoset	6	6.2	0.16
Squirrel monkey	7	5.3	0.19
Baboon	20	1.8	0.54
Micro-pig	27	1.4	0.73
Mini-pig	35	1.1	0.95

Lampiran 10. Foto pengamatan pada mammae mencit



LG16. Hasil pengamatan tampak luar dengan metode palpasi bagian mammae mencit. Keterangan: (a) Mencit normal, (b) Mencit yang diinduksi dengan DMBA secara subkutan

Bagian dengan lingkaran merah merupakan bagian mammae mencit normal dan mencit yang diinduksi DMBA secara subkutan. Berdasarkan hasil pengamatan (LG16), mencit yang diinduksi DMBA diduga telah mengalami kanker payudara karena terdapat beberapa tanda-tanda meliputi: jika diraba terdapat benjolan pada bagian mammae mencit dan rambut disekitar mammae mencit terlihat rontok. Kulit disekitar mammae mencit mengalami kerutan serta nekrosis.



(a)

(b)

LG17. Hasil preparat histologi kanker payudara pada bagian mammae mencit yang diinduksi dengan DMBA. Keterangan: (a) Perbesaran 40x, (b) Perbesaran 400x

Gambar 17 (a) merupakan bagian duktus dari mammae mencit dengan pengamatan dibawah mikroskop perbesaran 40x. Gambar 17 (b) merupakan bagian duktus dari mammae mencit dengan pengamatan dibawah mikroskop perbesaran 400x sehingga tampak bagian inti sel (ditunjukkan anak panah berwarna merah) dan sitoplasma (ditunjukkan anak panah berwarna kuning). Pada gambar dapat diamati bahwa inti sel invasif keluar menyebar tidak beraturan (ditunjukkan lingkaran berwarna merah). Hal tersebut dapat menunjukkan jika mencit telah mengalami kanker pada bagian payudara.