
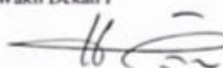
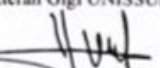


Lampiran 1. Surat *Ethical Clearance*

 KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG <small>Sekretariat: Fakultas Kedokteran Gigi UNISSULA Jl. Raya Kaligawa Km.04 Semarang 50112 Telp. (024) 4583584, Fax 024-4594366</small>	
KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK DESCRIPTION OF ETHICAL APPROVAL "ETHICAL APPROVAL" No. 179/BI-KEPK/SA-FKG/2020	
Protokol penelitian yang diusulkan oleh : <i>The research protocol proposed by</i>	
Peneliti utama <i>Principal In Investigator</i>	: RIZQA CITRA DEWI
Pembimbing <i>Supervisor</i>	: 1. Dr. drg. Sandy Christiono., Sp. KGA 2. drg. Rochman Mujayanto., Sp. PM
Nama Institusi <i>Name of the Institution</i>	: FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNISSULA
Tempat Penelitian <i>Research Place</i>	: 1. PERLAKUAN MENCIT : LABORATORIUM HEWAN COBA FAKULTAS KEDOKTERAN UNISSULA 2. PEMBUATAN HPA : LABORATORIUM HISTOLOGI FAKULTAS KEDOKTERAN UNISSULA 3. PEWARNAAN IMUNOHISTOMIA : UNIT MIKROSKOP ELEKTRON DAN LABORATORIUM TERPADU FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS AIRLANGGA 4. PEMBACAAN HASIL PENELITIAN: LABORATORIUM PATOLOGI ANATOMI RUMAH SAKIT ISLAM SULTAN AGUNG
Dengan Judul <i>Title</i>	: PENGARUH SUSU IBU HAMIL TERHADAP EKSPRESI PROTEIN AMELOGENIN PADA SEL AMELOBLAS DALAM TUMBUH KEMBANG GIGI Dinyatakan layak etik sesuai 7 (tujuh) Standar WHO 2011, yaitu: 1) Nilai Sosial, 2) Nilai Ilmiah, 3) Pemerataan Beban dan Manfaat, 4) Risiko, 5) Bujukan / Eksploitasi, 6) Kerahasiaan dan Privacy, dan 7) Persetujuan Setelah Penjelasan, yang merujuk pada Pedoman CIOMS 2016. Hal ini seperti yang ditunjukkan oleh terpenuhinya indikator setiap standar.
<i>Declared to be ethically appropriate in accordance to 7 (seven) WHO 2011 Standards : 1) Social Values, 2) Scientific Values, 3) Equitable Assessment and Benefits, 4) Risks, 5) Persuasion /</i>	
<i>Guidelines This is as indicated by the fulfillment of the indicators of each standard.</i>	
Pernyataan Laik Etik ini berlaku selama kurun waktu tanggal 1 Januari 2020 sampai dengan tanggal 1 Januari 2021. <i>This declaration of ethics applies during the period January 1, 2020 until January 1, 2021.</i>	
Mengetahui, Wakil Dekan I 	Semarang, 23 Januari 2020 Ketua Komisi Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Gigi UNISSULA 
Dr. drg. Yayun Siti Rochmah, Sp. BM NIK. 210100058	Dr. Drg. Sandy Christiono, Sp.KGA NIK. 211010012

Lampiran 2. Surat Telah Melakukan Penelitian Di *Integrated Biomedical Laboratory* (IBL)



UNIVERSITAS ISLAM SULTAN AGUNG (UNISSULA)

INTEGRATED BIOMEDICAL LABORATORY

FAKULTAS KEDOKTERAN

Jl. Raya Kaligawe KM.4, Semarang 50112

Tel. +62246583584, email: ibl@unissula.ac.id

Laboratorium Biomedik Terintegrasi

SURAT KETERANGAN KETERLIBATAN PENELITIAN

Nomor : 096 /IBL-K-SA/I/2020
Lampiran : -

Assalamu'alaikum wr. wb.

Yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama dan NIM : Salma Samia / 31101600631

Menerangkan bahwa Penelitian atas nama :

Nama : 1. Rizqa Citra Dewi

NIM : 31101600627

Judul : Pengaruh Susu Ibu Hamil Terhadap Ekspresi Protein Amilogenin Pada Sel Ameloblas Dalam Tumbuh Kembang Gigi

Nama : 2. Shintia Permata Ayuningtias

NIM : 31101600634

Judul : Pengaruh Susu Ibu Hamil Terhadap Ekspresi Kolagen Tipe 1 (COL1A1) Pada Sel Ameloblas Dalam Tumbuh Kembang Gigi

Merupakan bagian dari penelitian saya yang berjudul **Pengaruh Susu Ibu Hamil Terhadap Ekspresi Kalikrein Related Peptidases (KLK-4) Pada Sel Ameloblas Dalam Tumbuh Kembang Gigi**. Demikian surat keterangan ini saya sampaikan. Atas perhatiannya disampaikan terima kasih.

Wassalamu'alaikum wr. wb.

Semarang, 09 Januari 2020

Ketua Peneliti

Salma Samia / 31101600631

Lampiran 3. Surat Telah Melakukan Penelitian Di Unit Mikroskop Elektron dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIT MIKROSKOP ELEKTRON DAN LABORATORIUM TERPADU
Kampus A Jl. Mayjen. Prof. Dr. Moestopo No. 47. Surabaya 60131
Telp.031-5020251, 5030252-3 Faks.031-5022472 Website : <http://www.fk.unair.ac.id>

SURAT KETERANGAN

0002/UN3.1.1/KU/ME/2020

Yang bertanda tangan di bawah ini saya :

Nama : Prof. Dr. I Ketut Sudiana, MSi.
NIP. : 195507051980031005
Pangkat/Gol : Pembina Utama Muda / IVd
Jabatan : Ketua Unit Mikroskop Elektron dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga

menerangkan bahwa mahasiswa Program Studi Jenjang Doktor Ilmu Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga tersebut di bawah ini :

Nama : Rizqa Citra Dewi
NIM : 31101600627
Judul Penelitian : Pengaruh Susu Ibu Hamil Terhadap Ekspresi Protein Amilogenin pada Sel Ameloblas dalam Tumbuh Kembang Gigi

telah menggunakan fasilitas Unit Mikroskop Elektron dan Laboratorium Terpadu Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga mulai tanggal 14-21 Januari 2019 dalam rangka kegiatan penelitian skripsi sesuai judul tersebut di atas.

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Surabaya, 22 Januari 2020

Yang menerangkan,



Prof. Dr. I Ketut Sudiana, MSi.

NIP. 195507051980031005

Lampiran 4. Surat Telah Melakukan Penelitian Di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang



LABORATORIUM PATOLOGI ANATOMI

SURAT KETERANGAN

Yang bertanda tangan dibawah ini, Bagian Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang menerangkan bahwa mahasiswa di bawah ini :

Nama : Rizqa Citra Dewi
NIM : 3110 1600 627
Fakultas/Universitas : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Islam Sultan Agung Semarang
Judul Penelitian : Pengaruh Susu Ibu Hamil Terhadap Ekspresi Amelogenin Pada Sel Ameloblas Dalam Tumbuh Kembang Gigi

Telah melakukan prosesi jaringan dan pembacaan preparat di Laboratorium Patologi Anatomi Rumah Sakit Islam Sultan Agung Semarang pada bulan Desember 2019 dengan hasil terlampir

Demikian surat keterangan ini kami buat untuk digunakan sebagaimana perlunya.

Semarang, 23 Januari 2020

dr. Susiloni, Msi, Med, Sp PA

Lampiran 5. Datasheet Anti-Amelogenin

SANTA CRUZ BIOTECHNOLOGY, INC.

Amelogenin (F-11): sc-365284



The Power to Discover

BACKGROUND

Dental enamel is a highly mineralized tissue with most of its volume occupied by large, highly organized, hydroxyapatite crystals. This structure is thought to be controlled through the interaction of many organic matrix molecules including Amelogenin, Ameloblastin, Enamelin, Tuftsin and several other enzymes. All of these secreted proteins are involved in the mineralization and enamel matrix formation in developing tooth enamel. The gene AMELX which encodes for the protein Amelogenin, is encoded on the X-chromosome. Amelogenin, also designated AMO, AMOX or AMEX, is involved in biomineralization and organization of developing enamel. It functions by regulating crystallite formation during the secretory stage of enamel development. Amelogenin, which localizes to the extracellular matrix, is expressed by ameloblasts and is the predominant protein in developing dental enamel. Defects in the AMELX gene can cause amelogenesis imperfecta hypoplastic type 1 (AHI1) which is an X-linked disease that affects the formation of tooth enamel.

REFERENCES

- Nakahori, Y. et al. 1991. A human X-Y homologous region encodes Amelogenin. *Genomics* 9: 284-288.
- Catalano-Sherman, J. et al. 1993. Amino acid sequence of a major human Amelogenin protein employing Edman degradation and cDNA sequencing. *J. Dent. Res.* 72: 1568-1572.

CHROMOSOMAL LOCATION

Genetic locus: AMELX (human) mapping to Xp22.2; Amelx (mouse) mapping to X FS.

SOURCE

Amelogenin (F-11) is a mouse monoclonal antibody raised against amino acids 1-191 representing full length Amelogenin X isoform of human origin.

PRODUCT

Each vial contains 200 µg IgG₁ kappa light chain in 1.0 ml of PBS with < 0.1% sodium azide and 0.1% gelatin.

Amelogenin (F-11) is available conjugated to agarose (sc-365284 AC), 500 µg/0.25 ml agarose in 1 ml, for IP; to HRP (sc-365284 HRP), 200 µg/ml, for WB, IHCp and ELISA; to either phycoerythrin (sc-365284 PE), fluorescein (sc-365284 FITC), Alexa Fluor® 488 (sc-365284 AF488), Alexa Fluor® 546 (sc-365284 AF546), Alexa Fluor® 594 (sc-365284 AF594) or Alexa Fluor® 647 (sc-365284 AF647), 200 µg/ml, for WB (90B), IF, IHCp and FCM; and to either Alexa Fluor® 680 (sc-365284 AF680) or Alexa Fluor® 790 (sc-365284 AF790), 200 µg/ml, for Near-Infrared (NIR) WB, IF and FCM.

Alexa Fluor® is a trademark of Molecular Probes, Inc., Oregon, USA.

STORAGE

Store at 4° C. ****DO NOT FREEZE****. Stable for one year from the date of shipment. Non-hazardous. No MSDS required.

APPLICATIONS

Amelogenin (F-11) is recommended for detection of Amelogenin X and Amelogenin Y isoforms of mouse, rat and human origin by Western Blotting (starting dilution 1:100, dilution range 1:100-1:1000), immunoprecipitation (1-2 µg per 100-500 µg of total protein (1 ml of cell lysate)), immunofluorescence (starting dilution 1:50, dilution range 1:50-1:500), immunohistochemistry (including paraffin-embedded sections) (starting dilution 1:50, dilution range 1:50-1:500) and solid phase ELISA (starting dilution 1:30, dilution range 1:30-1:3000).

Suitable for use as control antibody for Amelogenin siRNA (h): sc-44845, Amelogenin siRNA (m): sc-44846, Amelogenin shRNA Plasmid (h): sc-44845-SH, Amelogenin shRNA Plasmid (m): sc-44846-SH, Amelogenin shRNA (h) Lentiviral Particles: sc-44845-V and Amelogenin shRNA (m) Lentiviral Particles: sc-44846-V.

Molecular Weight of Amelogenin: 24 kDa.

Positive Controls: P19 cell lysate: sc-24780, NIH/3T3 whole cell lysate: sc-2219 or LADMAC whole cell lysate: sc-364188.

DATA



Amelogenin (F-11) sc-365284. Western blot analysis of Amelogenin expression in P19 (A), NIH/3T3 (B) and LADMAC (C) whole cell lysates.



Amelogenin (F-11) sc-365284. Immunofluorescence staining of methanol-fixed HeLa cells showing cytoplasmic localization (A). Immunohistochemical staining of formalin-fixed, paraffin-embedded human parotid tissue showing cytoplasmic and nuclear staining of ductal and Langhans ameloblastic cells (B).

SELECT PRODUCT CITATIONS

- Fukada, T., et al. 2013. Identification of novel Amelogenin-binding proteins by proteomics analysis. *PLoS ONE* 8: e578129.
- Qi, S., et al. 2018. Role of protein 6 homolog 1 in the proliferation and differentiation of ameloblasts. *Mol. Med. Rep.* 17: 3537-3544.
- Park, S.J., et al. 2018. Dentin sialophosphoprotein expression in enamel is regulated by Copine-7, a preameloblast-derived factor. *Arch. Oral Biol.* 89: 131-137.
- Jiang, B., et al. 2018. The inhibition of glycosaminoglycan incorporation influences the cell proliferation and cytodifferentiation in cultured embryonic mouse molars. *J. Mol. Histol.* 50: 11-19.
- Mikami, T., et al. 2018. Pathogenesis of perinatal odontogenic tumour based on tumorigenesis and odontogenesis. *Oral Dis.* 24: 1226-1234.

RESEARCH USE

For research use only, not for use in diagnostic procedures.

Santa Cruz Biotechnology, Inc. 1-800-657-3801 951-457-3800 fax 951-457-3801 Europe +35300 4573 8000 49-4231 0403-0 www.scbt.com

Lampiran 6. Hasil Uji Statistika

Case Processing Summary

		Cases					
		Valid		Missing		Total	
		N	Percent	N	Percent	N	Percent
Amelogenin	Nutrisiibuhamil						
	Aquades	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%
	susu ibu hamil	5	100.0%	0	0.0%	5	100.0%

Tests of Normality

		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	Df	Sig.
Amelogenin	Nutrisiibuhamil						
	Aquades	.307	5	.139	.834	5	.150
	susu ibu hamil	.300	5	.161	.842	5	.170

Group Statistics

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
Amelogenin	Nutrisiibuhamil				
	Aquades	5	78.7000	11.57368	5.17591
	susu ibu hamil	5	48.0000	10.70047	4.78539

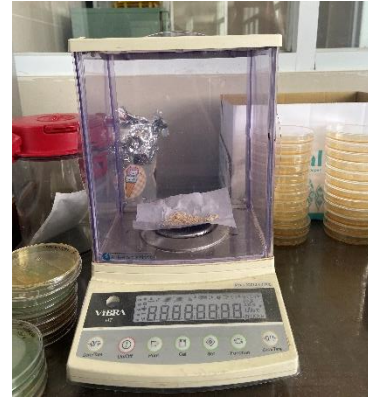
Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	Df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Amelogenin	Equal variances assumed	4.447	.061	3.430	10	.006	71.91667	20.96760	25.19794	118.63539
	Equal variances not assumed			3.430	6.648	.012	71.91667	20.9670	21.79913	122.03421

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian



Gambar 1.
3 mencit betina dan 2 mencit jantan disatukan
untuk proses pembuahan



Gambar 2.
Penimbangan susu ibu hamil
dengan neraca analitik



Gambar 3.
Bubuk susu dilarutkan dengan aquades



Gambar 4.
Pemberian susu ibu hami kepada mencit
kelompok perlakuan



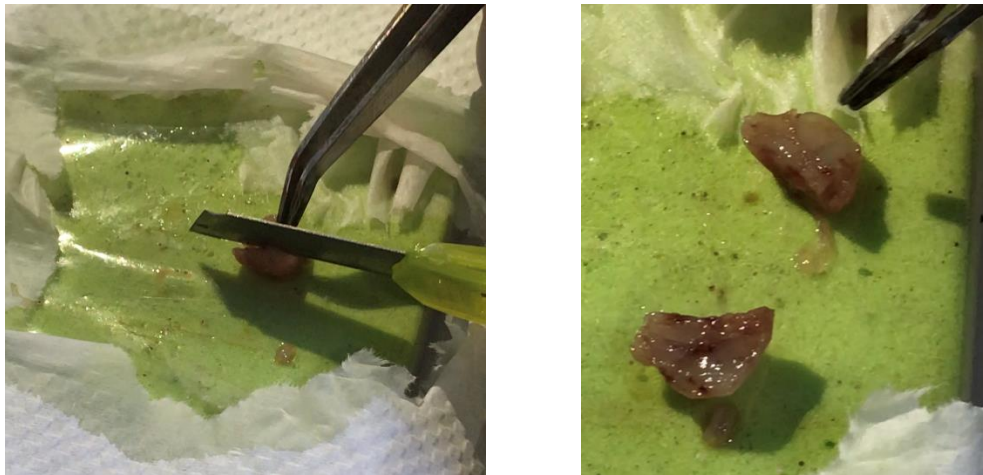
Gambar 5.
Mencit betina kebuntingan hari ke-18



Gambar 6.
Pengambilan janin mencit melalui pembedahan



Gambar 7.
Janin diletakkan pada tabung organ berisi formalin



Gambar 8.
Pembedahan secara sagital pada bagian kepala janin menci



Gambar 9.
Sampel diletakkan pada tabung organ
berisi formalin



Gambar 10.
Sampel diproses dalam *automatic tissue processor*



Gambar 11.
Sampel ditanam dalam paraffin



Gambar 12.
Parafin dipotong dengan mesin *microtome*



Gambar 12.
Waterbath



Gambar 13.
Antibodi monoclonal anti-amelogenin