


CANCER CHEMOPREVENTION RESEARCH CENTER FAKULTAS FARMASI UGM

Dokumen nomor :	Tanggal :
Mengganti nomor :	Tanggal :

URAIAN	DIBUAT OLEH	DIPERIKSA OLEH	DIPERIKSA OLEH	DISETUJU OLEH
Jabatan	Peneliti CCRC	Staf CCRC	Supervisor CCRC	Pimpinan CCRC
Paraf				
Nama	Larasati	Adam Hermawan	Muthi' Ikawati	Edy Meiyanto
Tanggal				

PROSEDUR TETAP
PENGECATAN AgNOR
DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	HALAMAN
1. TUJUAN	2
2. PENDAHULUAN	2
3. OPERASIONAL	2



CANCER CHEMOPREVENTION RESEARCH CENTER FAKULTAS FARMASI UGM

Dokumen nomor :	Tanggal :
Mengganti nomor :	Tanggal :

A. TUJUAN

Mengatur standar kerja pengecatan preparat AgNOR (*Argyrophillic Nucleolar Organizer Regions*) pada penelitian laboratorium CCRC.

B. PENDAHULUAN

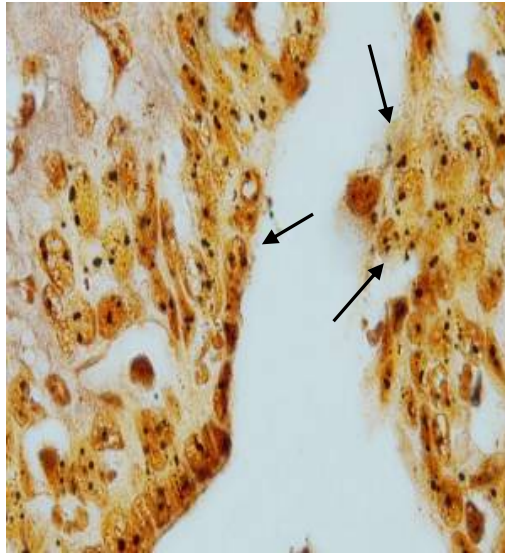
Salah satu ciri sel kanker adalah terjadinya proliferasi sel yang tidak terkendali, sehingga untuk melihat aktivitas suatu sel kanker dapat ditentukan dengan tingkat proliferasi selnya. Penentuan prognosis penyakit kanker melalui proliferasi sel dapat dilakukan dengan metode pengecatan AgNOR (*Argyrophillic Nucleolar Organizer Regions*). NOR (*Nucleolar Organizer Region*) merupakan *loop* DNA ribosomal (rDNA) pada *short arms* 5 kromosom akrosentrik (13, 14, 15, 21, dan 22) yang terdapat di dalam nukleus. NOR dapat divisualisasikan dengan pengecatan perak (AgNOR) menggunakan larutan perak nitrat pada kondisi tertentu. Protein yang berhubungan dengan AgNOR berikatan dengan *organizer region* dan bersifat argirofilik sehingga dapat dikenali sebagai *blackdots* dengan teknik pewarnaan perak.

Terdapat 2 macam parameter AgNOR, yaitu mAgNOR dan pAgNOR. Metode mAgNOR dilakukan dengan penghitungan jumlah seluruh *blackdots* pada minimal 100 sel kemudian dirata-rata dengan cara membagi jumlah seluruh *blackdots* dengan jumlah sel yang diamati. Metode pAgNOR dilakukan penghitungan dengan cara menentukan jumlah sel yang memiliki *blackdots* kurang dari 5 dan yang memiliki *blackdots* lebih dari 5 pada minimal 100 sel.

C. OPERASIONAL

No	Prosedur Kerja	Perhatian
1.	Lakukan deparafinasi preparat (blok parafin) dengan <i>xylene</i> sebanyak 3 kali masing-masing 3 menit.	
2.	Rehidrasi preparat dengan menggunakan etanol 100%, etanol 95 % dan etanol 70% masing-masing selama dua menit, dua menit, satu menit dan terakhir dengan air selama satu menit	
3.	Imersikan preparat dalam bufer natrium sitrat (pH 6,0).	
4.	Inkubasi preparat di dalam autoklaf pada suhu 120°C (tekanan 1,1-1,2 bar) selama 20 menit.	
5.	Dinginkan preparat sampai suhu 37°C.	
6.	Imersikan preparat ke dalam larutan pengecatan perak yang terdiri dari : <ul style="list-style-type: none"> • 1 bagian volume gelatin 2% dalam asam formiat 1% • 2 bagian larutan perak nitrat 25% dalam suhu 37°C, selama 11 menit 	
7.	Hentikan reaksi pengecatan dengan mencuci slide preparat menggunakan aqua bidestilata untuk menghilangkan presipitat perak non-spesifik.	
8.	Dehidrasi preparat menggunakan etanol dengan konsentrasi yang dinaikkan secara bertingkat (50%, 70%, 95%)	
9.	Bersihkan preparat dengan <i>xylene</i>	
10.	Tutup preparat dengan <i>coverslip</i>	
11.	Amati jumlah <i>blackdots</i> tiap sel menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 1000x. Parameter kuantitatif AgNOR : <ul style="list-style-type: none"> • mAgNOR : hitung rata-rata <i>blackdots</i> pada minimal 100 sel yang diamati (Gambar 1). • pAgNOR : hitung jumlah sel yang memiliki <i>blackdots</i> kurang dari 5 dan yang memiliki <i>blackdots</i> lebih dari 5 pada minimal 100 sel yang diamati. 	
12.	Dokumentasi setiap pengamatan	Lakukan pemotretan tiap preparat

Contoh hasil pengamatan preparat AgNOR



Gambar 1. Preparat mAgNOR sel epitel kelenjar payudara tikus yang diinduksi 7,12 dimetilbenz[*a*]antrasen. Pengamatan tingkat proliferasi sel dilakukan dengan pewarnaan AgNOR. Aktivitas proliferasi ditunjukkan oleh jumlah *blackdots* yang terdapat di setiap sel yang diamati mikroskop dengan perbesaran 1000x. Preparasi dilakukan di dalam buffer natrium sitrat pH 6,0, kemudian diinkubasi dalam autoklaf pada suhu 120 °C tekanan 1,1-1,2.

→ : menunjukkan *blackdot* dalam sel epitel kelenjar payudara

Jika ada sesuatu dalam SOP ini tidak bisa dilakukan atau tidak sesuai dengan kenyataan dilapangan, segera laporkan kepada Staff/Supervisor CCRC