

Jurnal
ENTROPI

Inovasi Penelitian, Pendidikan dan Pembelajaran Sains



Diterbitkan oleh :
Jurusan Pendidikan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo

VOLUME
IX

NOMOR
1

HALAMAN
721 - 840

FEBRUARI
2014

ISSN
1907-1965

Jurnal ENTROPi

Inovasi Penelitian Pendidikan dan Pembelajaran Sains

Sekretariat Penyuntingan dan Tata Usaha

Jurusan Pendidikan Kimia - Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Negeri Gorontalo

Gedung N, Lantai 1

Jl. Jenderal Sudirman Nomor 6 Kota Gorontalo, 96128

Email: jurnal-entropi@ung.ac.id dan jurnal-entropi@gmail.com

JE

ISSN 1907 -1965

Jurnal Entropi

Inovasi Penelitian Pendidikan dan Pembelajaran Sains
Volume 9, Nomor 1, Februari 2014

Jurnal Entropi (JE) terbit 2 (dua) kali setahun pada bulan Februari dan Agustus, berisi tulisan, artikel, hasil pemikiran dan penelitian yang ditulis oleh para pakar, ilmuwan, praktisi dan pengkaji inovasi penelitian pendidikan dan pembelajaran sains.

Ketua Penyunting

Lukman A. R. Laliyo

Penyunting Pelaksana

Mardjan Paputungan

Mangara Sihaloho

Erni Mohamad

JulhimTangio

Rakhmawaty Ahmad Asui

Suleman Duengo

Hendri Iyabu

La Ode Aman

La Alio

PenyuntingAhli

Evie Hulukati

Weni J. A. Musa

Ishak Isa

Astin Lukum

Opir Rumape

Nurhayati Bialangi

Yuszda Salimi

Akram La Kilo

Netty Ino Ischak

Deasy Natalia Botutihe

Pelaksana Tata Usaha

Erni Isa

Fatmawati

Jurnal Entropi (JE) diterbitkan oleh Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Negeri Gorontalo (UNG). **Dekan:** Evie Hulukati; **Ketua Jurusan:** Drs. Mardjan Paputungan, M.Si. Terbit pertama kali pada tahun 2006 dan konsisten mempublikasikan karya ilmiah dosen dan praktisi di Gorontalo dan sekitarnya. Upaya memperbaiki kualitas isi, bahasa dan tampilan terus dilakukan; hingga memenuhi standar kelayakan jurnal terakreditasi.

Pertanggungjawaban Isi Artikel

Naskah/artikel yang disumbangkan kepada JE harus memenuhi aturan dalam "Petunjuk bagi (Calon) Penulis Jurnal Entropi (JE) di sampul belakang, halaman bagian dalam. Isi artikel dan semua akibat yang ditimbulkan oleh artikel itu menjadi tanggungjawab mutlak penulisnya. JE juga melayani permintaan tukar menukar jurnal secara gratis sepanjang tiras masih tersedia.

Jurnal Entropi (JE) diterbitkan dengan tiras (*oplaag*) 350 (tiga ratus lima puluh) eksemplar.

DAFTAR ISI

	halaman
1 Aktivitas Bubuk Bunga Cengkeh (<i>Eugenia aromatica</i>) Terhadap Kepekaan Bakteri <i>Escherichia coli</i> <i>Dian Saraswati</i> <i>Jurusan Kesehatan Masyarakat FIKK Universitas Negeri Gorontalo</i>	721- 728
2 Luka, Peradangan Dan Pemulihan <i>Asep Suryana Abdurrahmat</i> <i>Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Gorontalo</i>	729- 738
3 Penerapan Model Pembelajaran Inkuiri Terpimpin Untuk Meningkatkan Aktivitas Dan Penguasaan Konsep Hidrolisis Garam Siswa Kelas XI IPA MA Al-Huda Kota Gorontalo Tahun Ajaran 2010/2011 <i>Jumadi, Astin Lukum, Mangara Sihaloho</i> <i>Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Negeri Gorontalo</i>	739 -750
4 Isolasi DNA Dan Protein Dengan Tehnik PCR, Elektroforesis Agarose Dan SDS-PAGE <i>Netty Ino Ischak</i> <i>Jurusan Kimia Fakultas MIPA, Universitas Negeri Gorontalo</i>	751- 757
5 Penerapan Model Pembelajaran <i>Cooperative Script</i> Untuk Meningkatkan Hasil Belajar Hidrolisis Garam Siswa Kelas XI IPA ² SMA Negeri 1 Tapa Kabupaten Bone Bolango Provinsi Gorontalo <i>Mitrawati H. Lamusu, Astin P. Lukum, La Alio</i> <i>Jurusan pendidikan kimia FMIPA Universitas negeri gorontalo</i>	758- 762
6 Hubungan Antara Kemampuan Pemahaman Mikroskopis Dengan Kemampuan Menyelesaikan Soal-Soal Hitungan Konsep Hidrolisis Garam Pada Siswa Kelas XI IPA SMA Negeri 1 Telaga <i>Asmiyanti Hamid, Mangara Sihaloho, La Ode Aman</i> <i>Jurusan Pendidikan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo</i>	763 -772
7 Identifikasi Kemampuan Menyelesaikan Soal-Soal Hukum-Hukum Dasar Kimia Pada Siswa Kelas X SMA Negeri 1 Tapa T.A 2011/2012 <i>Arman Salihun, Ishak Isa, Astin P. Lukum</i> <i>Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo</i>	773-783

- 8 *Analisis Pemahaman Konseptual Dan Kemampuan Menyelesaikan Soal-Soal Hitungan Pada Materi Kesetimbangan Kimia* 784
Meldi S. Huo, Mardjan Papatungan, La Ode Aman
Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo
- 9 *Pengaruh Penambahan Variasi Konsentrasi Asam Sitrat Terhadap Kualitas Sintesis Sabun Transparan* 792
Sri Melindawati Bunta, Weni J.A Musa, Lukman A.R Laliyo,
Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Negeri Gorontalo
- 10 *Meningkatkan Aktivitas dan Hasil Belajar Siswa Dengan Menggunakan Media Kartu Pada Materi Reaksi Oksidasi Reduksi Di Kelas X-I SMA Negeri I Tapa* 800-1
Ni Wayan Nuryanti, Mangara Sihaloho, Astin Lukum
Jurusan Pendidikan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Gorontalo
- 11 *Pengaruh Penerapan Model Pembelajaran Kooperatif Tipe *Group Investigation* (Gi) Melalui Pendekatan *Problem Solving* Terhadap Hasil Belajar Siswa Pada Materi Kelarutan Dan Hasil Kali Kelarutan.* 807-1
Nurmina Abdullah, Mangara Sihaloho, Erni Mohamad
Jurusan Pendidikan Kimia F.MIPA Universitas Negeri Gorontalo
- 12 *Komparasi Hasil Belajar Siswa yang Diajarkan dengan Model Pembelajaran Kooperatif Tipe *Teams Games Tournament* dan Model Pembelajaran *Tutor Sebaya* pada Materi Kelarutan dan Hasil Kali Kelarutan* 812-8
Nurhikmah Sibua, Masrid Pikoli, Netty Ischak
Pendidikan Kimia FMIPA, Universitas Negeri Gorontalo
- 13 *Penerapan Metode *Scaffolding* melalui Pendekatan *Problem Posing* untuk Meningkatkan Hasil Belajar Siswa Kelas XI IPA 2 SMA Negeri 1 Tapa pada Materi Kelarutan dan Hasil Kali Kelarutan* 825-8
Vales Fitri Lidia Sihaloho, Nurhayati Bialangi, Mangara Sihaloho
Pendidikan Kimia Fakultas MIPA Universitas Negeri Gorontalo
- 14 *Penggunaan Metode Praktikum dan Konvensional dalam Pembelajaran Laju Reaksi dan Pengaruhnya Terhadap Hasil Belajar Siswa Man Model di Gorontalo* 834-8
I Wayan Widastra, Mardjan Papatungan, Erni Mohamad
Jurusan Pendidikan Kimia, FMIPA, Universitas Negeri Gorontalo

Isolasi DNA Dan Protein Dengan Tehnik PCR, Elektroforesis Agarose Dan SDS-PAGE

Netty Ino Ischak

Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo
email: nettyischak@gmail.com

Abstrak

DNA dapat diisolasi dari jaringan apapun yang mempunyai sel inti (nucleus). Tahapannya meliputi; 1) pengumpulan/panen sel-sel (sel harvest), 2) pemecahan sel-sel (*cell lysis*), 3) pencernaan protein agar asam nucleat dilepaskan (*protein digestion*), 4) pengendapan DNA (*DNA precipitation*) dengan menggunakan teknik PCR (*Polymerase Chain Reaction*) dan elektroforesis agarose..

Protein dapat di isolasi dari jaringan melalui metode elektroforesis SDS-PAGE. Prinsip elektroforesis SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrilamide Gel Reaction*) merupakan teknik pemisahan protein darah dengan migrasi komponen acrilamida berdasarkan perbedaan berat molekul. Hasil isolasi DNA maupun Protein dengan tehnik PCR, elektroforesis agarose dan SDS-PAGE dianalisis dan dibandingkan dengan standar.

Band DNA darah dan sel epithelial manusia hasil elektroforesis agarose berada pada kisaran 700 bp dengan persamaan $y = 7938.e-1.59x$ untuk DNA darah dan $y = 6796. e-1.48x$ untuk DNA sel epithelial. Hasil elektroforesis SDS-PAGE semua sampel protein mengandung jenis protein standar carbonic anhydrase

Keywords: *Isolasi DNA dan Protein, PCR, SDS-PAGE, Elektroforesis agarose,*

Perkembangan teknologi biomolekuler saat ini meningkat pesat dan berdampak sangat luas terhadap kemajuan sains dan teknologi. Seiring dengan pembuktian hasil-hasil penelitian yang menggunakan teknik PCR untuk isolasi DNA, dan Elektroforesis agarose dengan SDS-PAGE untuk isolasi protein darah manusia.

Prinsip utama dalam isolasi DNA ada tiga yakni penghancuran (lisis), ekstraksi atau pemisahan DNA dari bahan padat seperti selulosa dan protein, serta pemurnian DNA.

Prinsip elektroforesis agarose adalah teknik pemisahan asam nukleat/ protein berdasarkan perbedaan medan listrik, molekul dan partikel bermuatan akan bergerak ke arah

elektrode yang memiliki muatan berlawanan di bawah pengaruh medan listrik.

Prinsip elektroforesis SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate-Polyacrilamide Gel Reaction*) teknik pemisahan protein darah dengan migrasi komponen acrilamida berdasarkan perbedaan berat molekul.

DNA dapat diisolasi dari setiap bagian makhluk hidup yang mengandung nukleus/ inti sel, dengan langkah-langkah berikut :

- Pengumpulan/panen sel-sel (*cell harvest*)
- Pemecahan sel-sel (*cell lysis*)
- Pencernaan protein agar asam nukleat dilepaskan (*protein digestion*)
- Pengendapan DNA (*DNA precipitation*)

Setiap sel manusia mengandung banyak macam protein seperti protein sitoplasmik, dan protein membran. Protein ini dapat diisolasi dengan teknik sentrifugasi dan teknik biokimia umum yang lain untuk dianalisis. Agarosa merupakan polisakarida turunan yang didapat dari alga merah. Gel agarose dapat digunakan untuk memisahkan DNA berukuran lebih dari 100 bp, sedangkan untuk memisahkan DNA dengan ukuran lebih pendek dapat digunakan gel poliakrilamid. Gel agarose merupakan fase diam dalam pemisahan fragmen DNA dan muatan listrik sebagai fase gerak.

Metode PAGE yang umumnya digunakan untuk analisa campuran protein secara kualitatif adalah SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electrophoresis*). Metode ini sering digunakan untuk menentukan berat molekul suatu protein disamping untuk memonitor pemurnian protein. Penggunaan poliakrilamida mempunyai keunggulan dibandingkan dengan gel lainnya, karena tidak bereaksi dengan sampel dan tidak membentuk matriks dengan sampel, sehingga tidak menghambat pergerakan sampel yang memungkinkan pemisahan protein secara sempurna. Selain itu, gel poliakrilamida ini mempunyai daya pemisahan yang cukup tinggi. Penggunaan SDS berfungsi untuk mendenaturasi protein karena SDS bersifat sebagai deterjen yang mengakibatkan ikatan dalam protein terputus membentuk protein yang dapat terelusi dalam gel begitu juga mercaptoetanol.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian ini merupakan kajian literature berdasarkan referensi dan kepustakaan maupun artikel ilmiah. Uraian kalimat maupun penjelasan yang ditulis dalam artikel ini berupa dasar teori, data-data serta gambar maupun grafik yang turut serta untuk mempermudah pembaca mengerti dan memahami tulisan ini.

HASIL DAN PEMBAHASAN

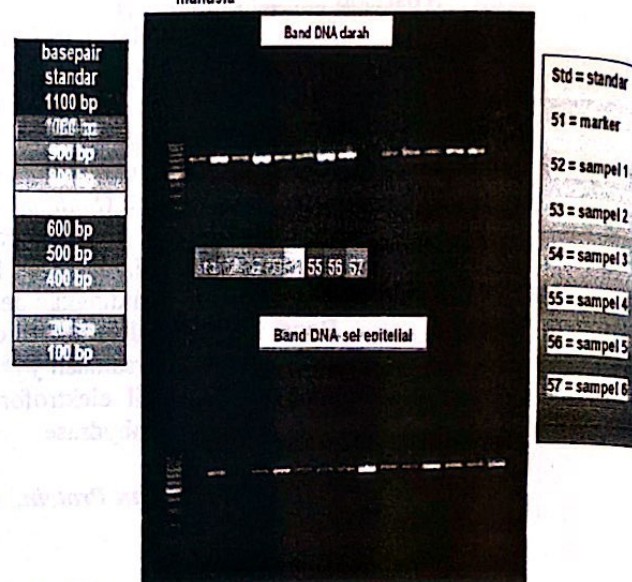
A. Hasil

Isolasi DNA dengan Teknik PCR dan Elektroforesis Agarose

Sampel yang dianalisis misalnya darah dan sel epitelial mukosa manusia.

Berikut contoh hasil isolasi DNA sampel darah dan sel epitelial mukosa manusia dengan teknik PCR untuk proses replikasi dan dielektroforesis agarose dengan hasil seperti pada gambar 1.

Gambar 1. Hasil elektroforesis agarose DNA darah dan sel epitelial manusia



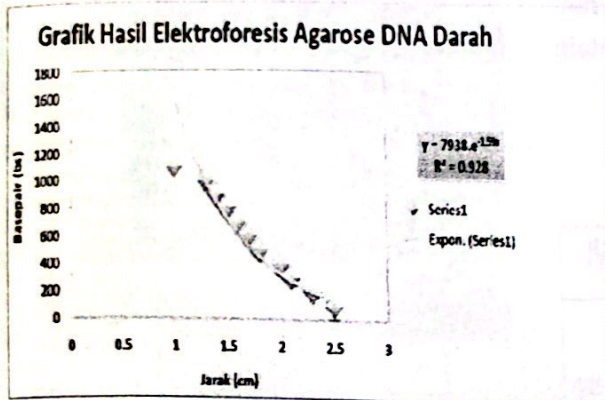
Berikut contoh hasil elektroforesis agarose sel darah (tabel 1).

Tabel 1. Hasil elektroforesis agarose sel darah

Band	Jarak (cm)	Basepairs (bp)
1	1,0	1100
2	1,3	1000
3	1,4	900
4	1,5	800
5	1,6	700
6	1,7	600
7	1,8	500
8	2,0	400
9	2,1	300
10	2,3	200
11	2,5	100

Jarak terendah band DNA darah 1,0 cm pada basepairs 1100, sebaliknya jarak terjauh band DNA darah 2,5 cm pada basepairs 100.

Hubungan jarak band dan basepairs sampel DNA darah dapat dilihat pada grafik dibawah ini.



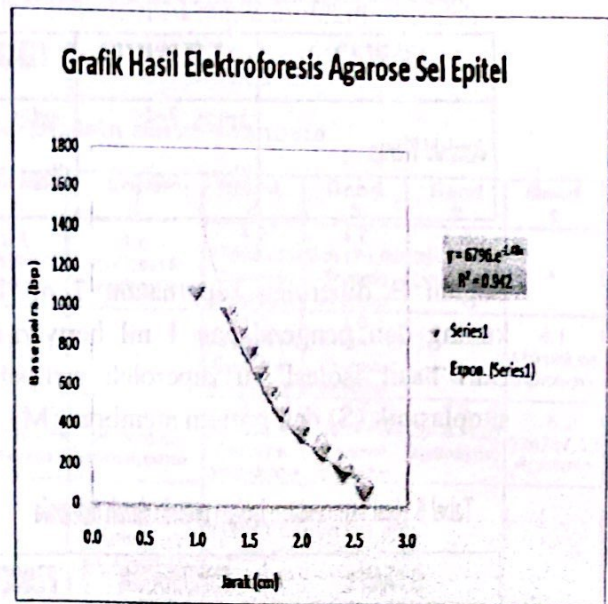
Contoh hasil elektroforesis agarose sel epithelial (tabel 2).

Jarak terendah band DNA sel epithelial 1,0 cm dengan basepairs 1100 dan sebaliknya jarak terjauh 2,6 cm band basepairs 100.

Hubungan jarak band dan basepairs sampel DNA darah dapat dilihat pada grafik dibawah ini.

Tabel 2. Hasil elektroforesis agarose sel epithelial

Band	Jarak (cm)	Basepairs (bp)
1	1,0	1100
2	1,3	1000
3	1,4	900
4	1,5	800
5	1,6	700
6	1,7	600
7	1,8	500
8	2,0	400
9	2,2	300
10	2,4	200
11	2,6	100



Tabel 3. Hasil elektroforesis agarose sampel sel darah dan sel epithelial

Band	Jarak (cm)	Basepairs (bp)
Darah feri	1,6	700
Darah rita	*	*
Epitelial feri	1,6	700
Eotelia nita	1,6	700

*Band DNA tidak tampak

Sampel DNA darah dan sampel epithelial memiliki jarak band yang sama yakni 1,6 dengan kisaran basepairs pada 700, sedangkan darah nita tidak memiliki basepairs (bp)

Tabel 4. Hasil pengamatan isolasi protein darah manusia

BAGIAN A	SUPERNATAN	PENGENDAPAN
Jumlah/Warna	Jumlah : 7 ml Warna : kuning	Jumlah : 1 ml Warna : merah

Bagian A diperoleh supernatant 7 ml dan pengendapan 1 ml, hasil ini dilanjutkan untuk isolasi berikutnya dan diperoleh hasil seperti pada tabel dibawah ini.

Tabel 5. Hasil pengamatan isolasi protein darah manusia

BAGIAN B	SUPERNATAN	PENGENDAPAN
Jumlah/ Warna	Jumlah : 7 ml Warna : kuning	Jumlah : 1 ml Warna : merah

Bagian B diperoleh supernatant 7 ml berwarna kuning dan pengendapan 1 ml berwarna merah. Dari hasil isolasi ini diperoleh sampel protein sitoplasmik (S) dan protein membran (M).

Tabel 6. Hasil pengamatan isolasi protein darah manusia

BAGIAN C	SUPERNATAN	PENGENDAPAN
Jumlah/ Warna	Jumlah : 0,65 ml Warna : kuning	Jumlah : 0,1 ml Warna : kuning gelap

Bagian C diperoleh supernatant 0,65 ml berwarna kuning dan pengendapan 0,1 ml berwarna kuning gelap yang merupakan isolasi untuk sampel protein supernatant garam tinggi (Gs) dan sampel protein pengendapan garam tinggi (Gp).

Tabel 7. Hasil pengamatan isolasi protein darah manusia

BAGIAN D	SUPERNATAN	PENGENDAPAN
Jumlah/ Warna	Jumlah : 1,2 ml Warna : kuning	Jumlah : 0,25 ml Warna : putih

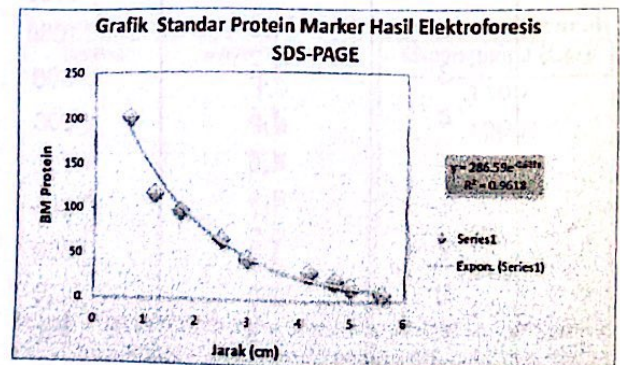
Bagian C diperoleh supernatant 0,65 ml berwarna kuning dan pengendapan 0,1 ml berwarna kuning gelap yang merupakan isolasi untuk sampel protein supernatant garam tinggi (Gs) dan sampel protein pengendapan garam tinggi (Gp). Berikut contoh hasil elektroforesis SDS-PAGE protein darah manusia (Gambar 2).

Gambar 2. Hasil elektroforesis SDS-PAGE protein darah manusia



Tabel 8. Jarak band dan berat molekul protein standar Elektroforesis SDS PAGE darah manusia

Jenis Protein	Jarak (cm) Band	BM Protein (kD)
Myosin	0,7	200.000
β -Galaktosidase	1,2	116.250
Glycogen phosphorilase b	1,7	97.400
Bovine serum albumin	2,5	66.200
Ovaalbumin	3,0	45.000
Carbonic anhydrase	4,2	31.000
Soybean trypsin inhibitor	4,7	21.500
Lysozyme	5,0	14.400
Aprotinin	5,6	6.500



Jarak band protein standart terdekat memiliki berat molekul tertinggi dan sebaliknya jarak band terjauh memiliki berat molekul terendah.

Tabel 9. Hasil Elektroforesis SDS-PAGE protein darah manusia

Sampel	Band 9	Band 8	Band 7	Band 6	Band 5	Band 4	Band 3	Band 2	Band 1
Plasma	0,7 36613,89 Myosin	-	-	2,5 131042,49 albumin	3,0 157131,99 ovaalbumin	4,2 219983,39 Carbonic anhydrase	4,7 246171,89 Trypsin inhibitor	5,0 261884,99 Lysozyme	-
Protein (S) Sitoplasmik	0,3 157130,09 Myosin	-	-	2,2 115229,39 albumin	-	4,1 214745,64 Carbonic anhydrase	4,8 241419,54 Trypsin inhibitor	-	6,1 319499,68 Aprotinin
Protein (M) Membran	-	-	-	2,6 136180,19 albumin	3,1 162368,69 ovaalbumin	4,5 235696,49 Carbonic anhydrase	4,7 246171,89 Trypsin inhibitor	5,0 261884,99 Lysozyme	6,2 324737,38 Aprotinin
Protein supernatan pengendapan larutan garam (Gs)	-	-	-	-	3,2 167816,39 ovaalbumin	4,2 219983,39 Carbonic anhydrase	4,7 246171,89 Trypsin inhibitor	-	-
Protein endapan pengendapan larutan garam (Gp)	-	-	-	2,3 120407,09 albumin	-	4,4 230458,79 Carbonic anhydrase	-	-	-
Protein supernatant pengendapan larutan etanol (Es)	-	-	-	2,5 130942,49 albumin	3,1 162368,69 ovaalbumin	4,3 225221,09 Carbonic anhydrase	4,6 240034,19 Trypsin inhibitor	-	-
Protein supernatant pengendapan larutan etanol (Ep)	-	-	-	2,7 141417,89 albumin	-	4,6 241834,19 Carbonic anhydrase	-	-	-

Dari tabel diatas jenis protein carbonic anhydrase dijumpai pada semua sampel protein, sedangkan bovine serum albumin, ovaalbumin dan soybean trypsin inhibitor hampir dijumpai disemua jenis sampel protein. Glycogen yang di elektroforesis SDS-PAGE.

B. Pembahasan

Isolasi DNA dilakukan dengan tujuan untuk memisahkan DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat. Dalam isolasi DNA ini digunakan bahan-bahan berikut :

- Tris berfungsi untuk mendenaturasi protein.
- EDTA berfungsi sebagai penghancur sel dengan cara mengikat ion magnesium yang diperlukan oleh sel untuk menjaga keutuhan selubung sel secara keseluruhan.
- SDS berperan dalam melisiskan membran sel juga dapat berperan dalam mengurangi aktivitas enzim nuklease yang merupakan enzim pendegradasi DNA
- NaCl berfungsi sebagai bahan penetral pada gula fosfat DNA.
- Proteinase K untuk melisiskan membran pada sel darah dan mendegradasi protein globular maupun rantai polipeptida dalam komponen sel.
- Larutan sel lisis untuk pelisisan sel
- Nuclei lisis untuk pelisisan nucleus/inti sel sehingga DNA bisa diperoleh.
- Enzim RNase berfungsi melisiskan RNA dari ekstrak DNA
- Isopropanol dingin bertujuan agar DNA tersebut mengendap/mengumpul sekaligus memisahkannya dari garam-garam mineral sisa.
- Etanol 70% berperan dalam pemurnian DNA, garam-garam yang terlibat dalam proses ekstraksi bersifat kurang larut dalam isopropanol sehingga dapat terpresipitasi

bersama DNA, oleh sebab itu dibutuhkan presipitasi kembali dengan etanol setelah presipitasi dengan isopropanol untuk menghilangkan residu garam.

Setelah DNA dari sampel darah dan sel epitelial mukosa diperoleh dari hasil isolasi, dilanjutkan dengan teknik PCR. Tahap ini merupakan proses replikasi DNA dengan enzim taq polymerase dan hasil replikasi DNA dielektroforesis agarose. Dari hasil elektroforesis DNA agarose dapat dilihat migrasi elektroforesis DNA melalui gel agarosa dipengaruhi oleh faktor ukuran dan konformasi molekul DNA, konsentrasi agarosa, arus listrik dan temperatur.

Ethidium Bromide sebagai pewarna fluoresensi digunakan untuk alat identifikasi dan mengukur semi-kualitatif fragmen DNA yang terseparasi dalam gel. Ethidium Bromide ini akan terikat diantara dua untai ganda DNA, sehingga band/pita DNA dalam gel agarosa akan berpendar, karena pewarna ini mengandung zat fluoresence. Ethidium Bromide dapat diberikan pada setiap sampel yang akan dimasukkan ke sumuran gel atau dicampurkan ke gel agarosa sebelum gel dicetak dalam cetakan gel. Intensitas fluoresence dapat diukur dengan menggunakan DNA marker standar, sehingga dapat diperkirakan kuantitas DNANYA.

Pada band urutan ke-9 hasil elektroforesis agarose sel darah tidak tampak jelas, hal ini mungkin disebabkan DNA yang diperoleh hanya sepotong-sepotong saat melakukan isolasi. Saat isolasi mungkin saja terjadi kontaminasi, seperti kita ketahui kulit tangan banyak mengandung nuclease sehingga apabila terkontaminasi enzim ini dapat memotong untaian DNA yang diisolasi. Sehingga ketika kita elektroforesis band yang tampak seperti pada gambar 1.

Band urutan ke-13 hasil elektroforesis agarose sel darah tidak tampak adanya band, ini disebabkan tidak adanya DNA dalam sampel yang diisolasi. Sedangkan pada band urutan ke-1 dan 3 hasil elektroforesis agarose sel-sel epitelial juga

tampak adanya band, ini disebabkan kesalahan dalam pemindahan sampel DNA ke sumur elektroforesis agarose, sehingga tidak ditemukan DNA.

Dari grafik diatas diperoleh persamaan pada DNA darah $y = 7938.e-1.59x$ dan DNA sel epitelial $y = 6796.e-1.48x$. Dari kedua persamaan ini dapat dihitung jumlah basepairs sampel DNA yang dielektroforesis agarose.

Dari hasil perhitungan jumlah basepairs DNA darah, sampel darah dan DNA sel epitelial kelompok 3 grup siang yaitu pada band nomor 12 dan 13 berjumlah 700 bp. Hal ini sesuai dengan letak band pada posisi marker ke-7 (700 bp).

SDS-PAGE merupakan metode elektroforesis yang menggunakan kombinasi polyacrilamida dan SDS. Dalam analisis ini migrasi protein dengan elektroforesis dilakukan pada tegangan 70 volt dan lama pemisahan kurang lebih 4 jam agar didapatkan molekul protein yang berbeda dapat terpisah dengan baik. Penanda migrasi ditentukan dengan pewarna *coomassie brilliant blue*.

Pada analisis ini digunakan 9 protein standar yang telah diketahui berat molekulnya, yaitu Myosin, β Galaktosidase, Glycogen phosphorilase b, Bovine serum albumin, Ovaalbumin, Carbonic anhydrase, Soybean trypsin inhibitor, Lysozyme, dan Aprotinin dengan berat molekul secara urut seperti pada tabel 4.

Dari elektroforesis SDS-PAGE diperoleh persamaan $y = 286.59e-0.603x$, sehingga dapat ditentukan berat molekul (BM) protein berdasarkan persamaan tersebut seperti pada tabel 9. Dari data dapat dilihat protein standar *carbonic anhydrase* dijumpai pada semua sampel protein yang dielektroforesis. Sampel protein membran dan protein plasma paling banyak ditemukan jenis protein standar.

Kesimpulan

1. Band DNA darah dan sel epithelial manusia hasil elektroforesis agarose berada pada kisaran 700 bp dengan persamaan $y = 7938.e-1.59x$ untuk DNA darah dan $y = 6796. e-1.48x$ untuk DNA sel epithelial.
2. Jarak band elektroforesis agarose dan SDS-PAGE yang diperoleh dipengaruhi oleh konsentrasi medium (agarose dan polyacrilamida), voltage dan waktu elektroforesis yang digunakan.
3. Berat molekul protein sampel elektroforesis SDS-PAGE dihitung berdasarkan persamaan $y = 286.59e-0.603x$.
4. Hasil elektroforesis SDS-PAGE semua sampel protein mengandung jenis protein standar carbonic anhydrase .
5. Protein sitoplasmik dan protein membran memiliki lebih banyak jenis protein dibandingkan sampel protein yang lain.

Saran

Beberapa hal yang perlu diperhatikan dalam analisis DNA dan protein darah adalah , sterilisasi

alat, keadaan sampel (harus segar), waktu pengambilan sampel, instrument terkalibrasi. Khusus reagen/zat kimia perlu kehati-hatian dalam proses penggunaan karena umumnya bersifat toksik.

REFERENSI

- Bruce, B. (Eds.). 1997. *Genome Analysis A Laboratory Manual. Vol.1 (Analyzing DNA)*. USA; Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Kurniati, Vita; Wanandi, 2000. . *Pemisahan Protein dengan Elektroforesis Gel Poliakrilamid (SDS-Page)*. Panduan Pelatihan. Bagian Biokimia. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Hedhammar M, Karlstrom AE, dan Hober S. 2005. *Chromatographic Methods for Protein Purification*. Stockholm : AlbaNova University Press.
- Yuwono, T. 2006. *Teori Dan Aplikasi PCR*. Jogyakarta, Penerbit Andi