LAPORAN PRAKTIKUM

ISOLASI DNA DARI DARAH DAN EPHITEL,PCR,ELEKTROFORESIS AGAROSE DAN SDS-PAGE

Nama : Seri Rayani Bangun (137008003)
Ichwan Alamsyah Lubis (137008011)
Group : Pagi (08.00 – 11.00 WIB)

1. TUJUAN PRAKTIKUM

Agar mahasiswa/i dapat:

1. Memahami pengertian isolasi epitel,darah dengan tehnik PCR
2. Mengerti teknik sentrifugasi untuk pemisahan bagian-bagian sel
3. Melakukan isolasi protein dari sel epitel dan darah
4. Memahami prinsip dasar Elektroforesis AGAROSE DAN SDS-Page
5. Menggunakan alat elektroforesis dengan benar untuk membaca nilai berat molekul protein Dari DNA
6. Mengolah data yang diperoleh dari praktikum untuk memperoleh berat molekul protein dari DNA
7. Mengumpulkan data dari hasil praktikum
8. Membuat dan menginterpretasi grafik

2. PENDAHULUAN

Elektroforesis adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan dan memurnikan suatu makromolekul khususnya protein dan asam nukleat berdasarkan perbedaan ukuran. Elektroforesis gel adalah teknik memisahkan suatu makromolekul dengan cara memberi gaya pada makromolekul tersebut untuk melewati medium berisi gel dibantu dengan tenaga listrik.

Elektroforesis dengan Agarose merupakan metode standar untuk memisahkan, mengidentifikasi, mengkarakterisasi dan purifikasi dari molekul DNA/RNA,baik untuk pemisahan untai tunggal atau untai ganda molekul DNA.Molekul-molekul tersebut akan bermigrasi menuju kutub positif atau kutub negatif berdasarkan muatan yang terkandung di dalamnya.Molekul-molekul yang bermuatan negatif (anion) akan bergerak menuju kutub positif (anoda),sedangkan molekul-molekul yang bermuatan positif (kation) akan bergerak menuju kutub negatif (katoda).Elektroforesis digunakan untuk menyediakan informasi mengenai ukuran, konfirmasi dan muatan dari protein dan asam nukleat.

Marker adalah segmen DNA yang spesifik dan telah diketahui ukurannya.*Marker* berfungsi sebagai acuan untuk mengetahui ukuran DNA hasil amplifikasi.*Marker* DNA yang terdapat di dalam ruang elektroforesis berfungsi sebagai penanda posisi pasangan basa dari molekul DNA yang bermigrasi.*Marker-marker* DNA tersebut merupakan marker yang telah dibuat oleh pabrik sehingga tanda pasangan basanya jelas.Penggunaan DNA *marker* tersebut dikarenakan molekul DNA yang akan diamati memiliki fragmen DNA dengan ukuran 110--20.000 pb.

Dalam elektroforesis juga digunakan bahan-bahan sepert Etidium Bromida yang bersifat karsinogenik dan *Brom Fenol Blue*.Hal tersebut karena Etidium Bromida dapat meningkatkan daya fluoresensi dari DNA sehingga dapat terlihat jelas,sedangkan *Brom Fenol Blue* berfungsi sebagai pewarna untuk memantau kecepatan molekul DNA pada gel.

Manfaat elektroforesis gel antara lain untuk mengetahui ukuran fragmen DNA dari produk PCR,memisahkan produk DNA dari hasil digesti yang berbeda ukuran,lalu dapat di*sequencing*, dan juga untuk pemurnian atau purifikasi DNA.Elektroforesis dapat diaplikasikan untuk berbagai macam kegiatan,antara lain membandingkan gen homolog dari spesies yang

berbeda, mengetahui susunan sekuens berbagai genom,DNA *finger printing*, mengetahui ada atau tidaknya gen-gen penyebab kelainan genetik atau penyakit tertentu,mendeteksi lokasi dan jumlah mRNA dalam sel atau jaringan tertentu,mengetahui aktivitas gen selama perkembangan berbagai tipe sel organisme atau aktivitas gen sebelum dan sesudah diberi perlakuan tertentu, mempelajari evolusi di tingkat molekular, mengetahui variasi genetik dalam populasi natural di alam, menentukan atau mengidentifikasi berat molekul fragmen DNA,RNA,protein dan aktivitas enzimatik,menganalisa fragmen DNA yang diamplifikasi melalui PCR,mengidentifikasi persamaan dan perbedaan genetik antar individu,dan menentukan jumlah fragmen DNA yang dikloning dalam rekombinan plasmid DNA.

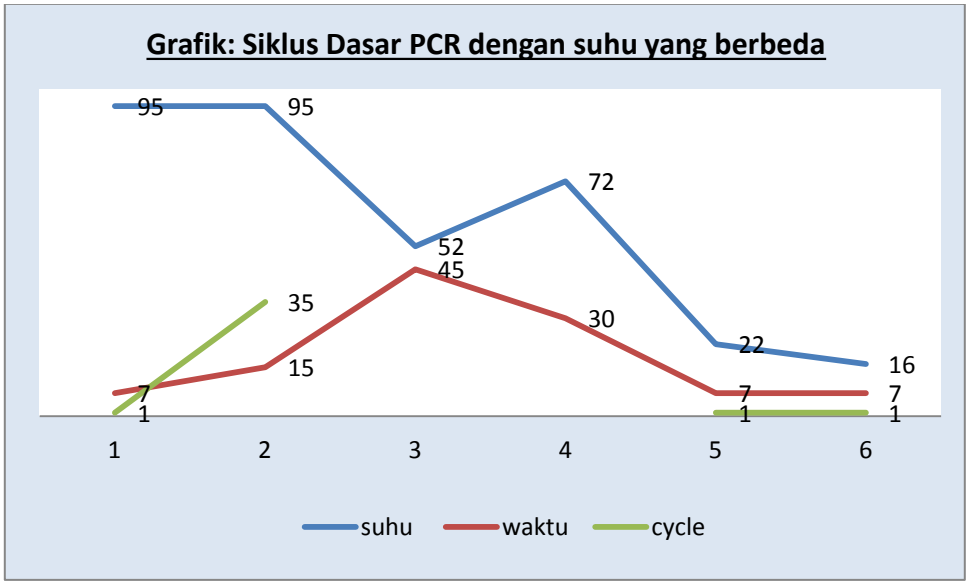
3. HASIL PRAKTIKUM ISOLASI DNA DENGAN ELEKTROFORESIS AGAROSE

Hasil pita DNA didapatkan melalui beberapa tahap diantaranya isolasi DNA darah dan DNA epitel kemudian melakukan elektroforesis gel agarose,elektroforesis gel untuk mengetahui ukuran fragmen DNA dari produk PCR,memisahkan produk DNA dari hasil digesti yang berbeda ukuran, lalu dapat di*sequencing*,dan juga untuk pemurnian atau purifikasi DNA reaksi Polimerase Berantai atau dikenal sebagai Polymerase Chain Reaction (PCR),merupakan suatu proses sintesis enzimatik untuk mengamplifikasi nukleotida secara in vitro.Metoda PCR dapat meningkatkan jumlah urutan DNA ribuan bahkan jutaan kali dari jumlah semula,Setiap urutan basa nukleotida yang diamplifikasi akan menjadi dua kali jumlahnya.PCR adalah menemukan bagaimana cara amplifikasi hanya pada urutan DNA target dan meminimalkan amplifikasi urutan non-target.Proses PCR merupakan proses siklus yang berulang meliputi denaturasi,annealing dan ekstensi oleh enzim DNA polimerase.Berikut adalah tabel siklus PCR yang berulang dengan waktu yang dibutuhkan adalah 01.33.54’ (satu jam tiga puluh tiga menit lima puluh empat detik.

Tabel 1: Siklus PCR yang berulang 38 kali

NO	KOMPONEN	SUHU	WAKTU	CYCLE	KETERANGAN
1	HOT START	95^0C	7 MENIT	1	Denaturasi awal
2	DENATURASI	95^0C	15 DETIK	35	doubel helix membuka, denaturasi dua untai DNA template menjadi untai tunggal

	ANEALING	52^0C	45 detik		primer DNA template, suhu annealing ditentukan oleh susunan primer. Optimalisasi temperatur annealing dimulai dengan menghitung Melting Temperature (Tm) dari ikatan primer dan DNA template.
	EXTENSI	72^0C	30 detik		waktu tergantung panjang pendeknya ukuran DNA yang diinginkan sebagai produk amplifikasi
3	EXTENSI POST RUN	22^0C	7 menit	1	
4	HOLD	16^0C	7 menit	1	MENURUNKAN SUHU



Gambar1: Grafik Siklus Dasar PCR dengan suhu yang berbeda

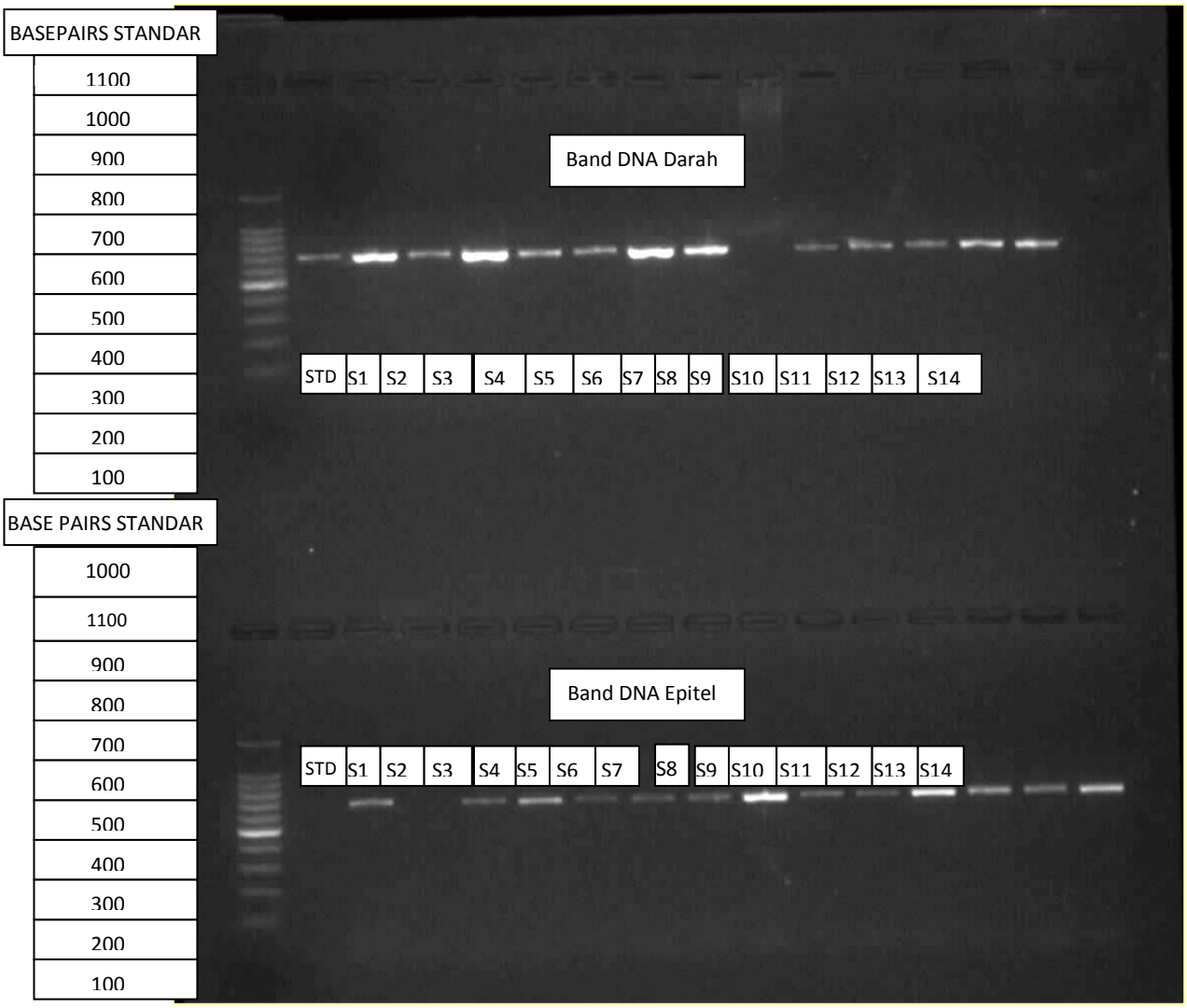
Setelah melakukan PCR berulang maka selanjutnya melakukan elektroforesis gel menggunakan gel agarosa. DNA marker yang digunakan saat praktikum adalah leading dye 2 dan DNA leader 5 mikro (100 bp). Hasil pengamatan elektroforesis pada sampel darah dan sampel epitel didapatkan melalului Praktikum elektroforesis gel dimulai dengan pembuatan gel agarosa. proses pembuatan gel agarosa dilakukan dengan cara mencampurkan bubuk agarosa 1 g dengan

larutan 1X TBE *buffer solution* sebanyak 12 mL yang berperan untuk memudahkan migrasi dari fragmen DNA berdasarkan perbedaan kekuatan ionik,bubuk dipanaskan,kemudian dinginkan sampai 60°C dan tambahkan etidium bromida,dituangkan ke dalam cetakan yang telah disiapkan dengan *comb*-nya dan tunggu sampai mengeras.Penambahan etidium bromida dilakukan dengan tujuan mewarnai asam nukleat.Etidium bromida adalah mutagen dan harus ditangani dengan hati-hati.Setelah gel mengeras, gel dimasukkan ke dalam ruang elektroforesis dan dilakukan penambahan *running buffer*.Penambahan *running buffer* dilakukan dengan tujuan mempermudah pengerasan gel saat dilakukan pemanasan. *Running* elektroforesis dilakukan pada tegangan 70 Volt selama 120 menit.

Tahap selanjutnya adalah mencampurkan DNA hasil amplifikasi lewat proses PCR dengan *loading buffer* yang memiliki fungsi membantu sampel turun ke dalam *well* dan membantu memonitor berapa lama proses elektroforesis telah berlangsung.DNA memiliki muatan negatif (DNA mengandung gugus PO_4) sehingga diharapkan akan bergerak menuju kutub positif.

Praktikum dilanjutkan dengan memasang penutup ruang elektroforesis dan diberikan arus listrik.Gel dikeluarkan dari ruang elektroforesis setelah mengalami perubahan warna dan dilihat dengan sinar UV.Hasil dokumentasi dilakukan dengan *gel doc*.Komponen *gel doc* terdiri dari lampu UV, kamera dan komputer.Lampu UV berfungsi menerangi bagian dalam dalam dari *gel doc*, kamera berfungsi memotret hasil elektroforesis dan komputer berfungsi menjalankan proses dokumentasi lewat bantuan *software*.

Foto Hasil PCR dan Elektroforesis Agarose



Gambar 2.Hasil Pita DNA Setelah Elektroforesis pada Medium Agarose dan Diamati di Bawah Sinar UV.

KETERANGAN GAMBAR

Keterangan gambar :

Band DNA Darah	Band DNA Epitel
Std : Marker	Std : Marker

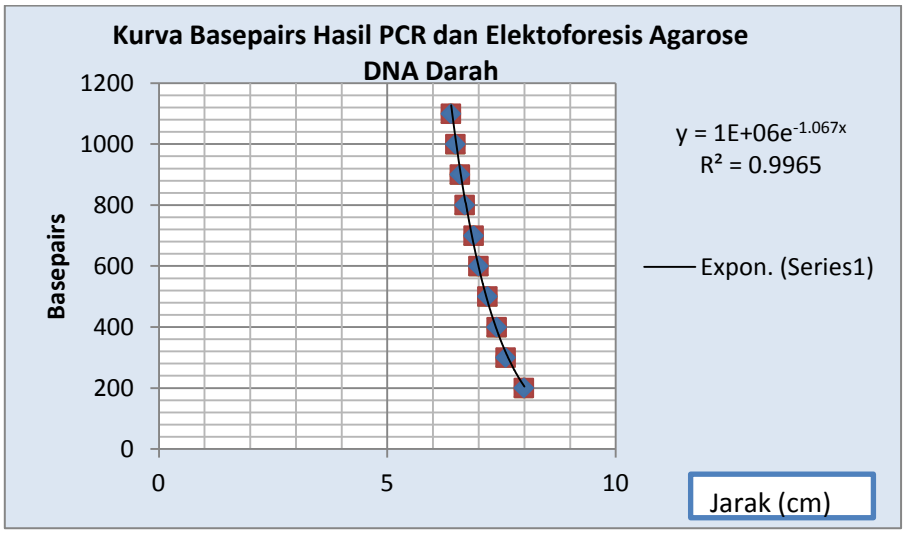
S1 : Kontrol
S2 : darah Seri
S3 : darah Amirul
S4 : darah Debi
S5 : darah Adit
S6 : darah Ichwan
S7 : darah Ramadan
S8 : darah Barlian
S9 : darah Maya
S10 : darah Yunus
S11 : darah Yuni
S12 : darah Ade
S13 : darah Feri
S14 : darah Nita

S1 : Kontrol
S2 : darah Seri
S3 : darah Amirul
S4 : darah Debi
S5 : darah Adit
S6 : darah Ichwan
S7 : darah Ramadan
S8 : darah Barlian
S9 : darah Maya
S10 : darah Yunus
S11 : darah Yuni
S12 : darah Ade
S13 : darah Feri
S14 : darah Nita

Dari Hasil Pita DNA Setelah Elektroforesis pada Medium Agarose terlihat bahwa pada sumur standar DNA darah tampak mengandung DNA, pada sumur ke 8 tampak DNA nya hancur dan pada sumur 14 tidak tampak DNA darah. Pada sumur 2 DNA epitel tidak tampak muncul pita DNA .

Tabel 2. Jarak Band DNA Darah

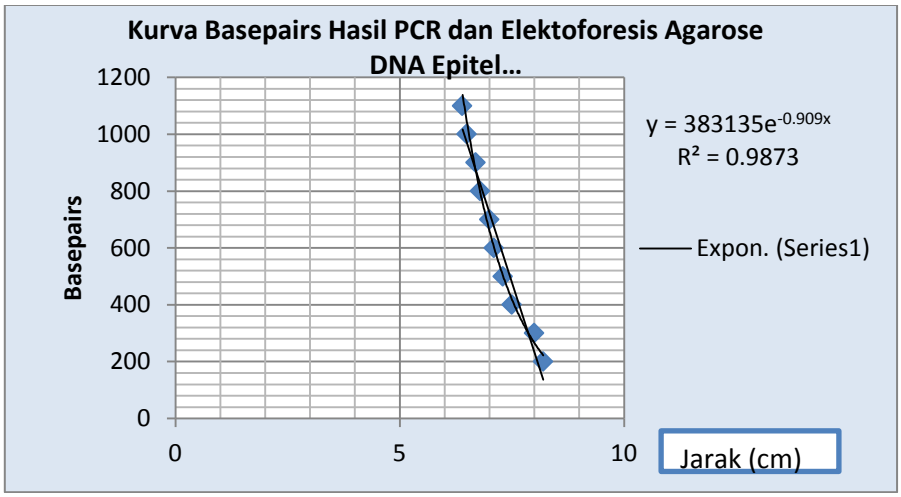
NO	BAND	JARAK BAND	BASE PAIRS
1	Band 1	6.4 cm	1100
2	Band 2	6.5 cm	1000
3	Band 3	6.6 cm	900
4	Band 4	6.7 cm	800
5	Band 5	6.9 cm	700
6	Band 6	7.0 cm	600
7	Band 7	7.2 cm	500
8	Band 8	7.4 cm	400
9	Band 9	7.6 cm	300
10	Band 10	8.0 cm	200



Gambar 3. Kurva Basepairs Hasil PCR dan Elektroforesis Agarose DNA Darah

Tabel 3. Jarak Band DNA Epitel

NO	BAND	JARAK BAND	BASE BASEPAIRS
1	Band 1	6.4 cm	1100
2	Band 2	6.5 cm	1000
3	Band 3	6.7 cm	900
4	Band 4	6.8 cm	800
5	Band 5	7.0 cm	700
6	Band 6	7.1 cm	600
7	Band 7	7.3 cm	500
8	Band 8	7.5 cm	400
9	Band 9	8.0 cm	300
10	Band 10	8.2 cm	200



Gambar 4. Kurva Basepairs Hasil PCR dan Elektroforesis Agarose DNA Epitel

4. HASIL PRAKTIKUM ISOLASI PROTEIN DENGAN ELEKTROFORESIS SDS PAGE

Salah satu metode PAGE yang umumnya digunakan untuk analisa campuran protein secara kualitatif adalah SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulfate Polyacrilamide Gel Electroforesis). Prinsip penggunaan metode ini adalah migrasi komponen akril amida dengan N.N` bisakrilamida.Elektroforesis dilakukan dengan menempatkan larutan sampel yang suda h dipreparasi dan juga marker,ke dalam sumur SDS PAGE.

Elektroforsis dilakukan selama kurang lebih 4 jam dilanjutkan pewarnaan selama lebih 10 jam sampai terlihat pita DNAnya dengan tegangan konstan sebesar 70 volt pada pengecatan dengan menggunakan perak nitrat dianalisa jarak migrasi pita-pita protein yang terbentuk pada gel pemisah. jarak migrasi diukur dan dibandingkan dengan jarak yang ditempuh oleh pewarna biru bromofenol. Berikut adalah hasil pengamatan:

Sampel darah dari : laki-laki Perempuan
Jumlah darah yang diambil : 5 cc Waktu yang diambil : 08.00 WIB

Tabel 4. Hasil Pengamatan Isolasi Protein

NO	BAGIAN	SUPERNATAN	PENGENDAPAN	FOTO
1	BAGAN A			
2	Jumlah Warna	Warna awal adalah merah sebanyak 5 ml Setelah disentrifuge Warna = kuning (plasma) sebanyak 2,5 ml	Warna merah sebanyak 2,5 ml	

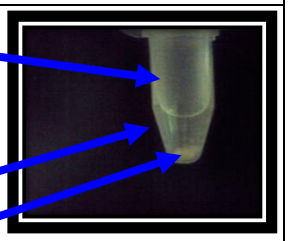
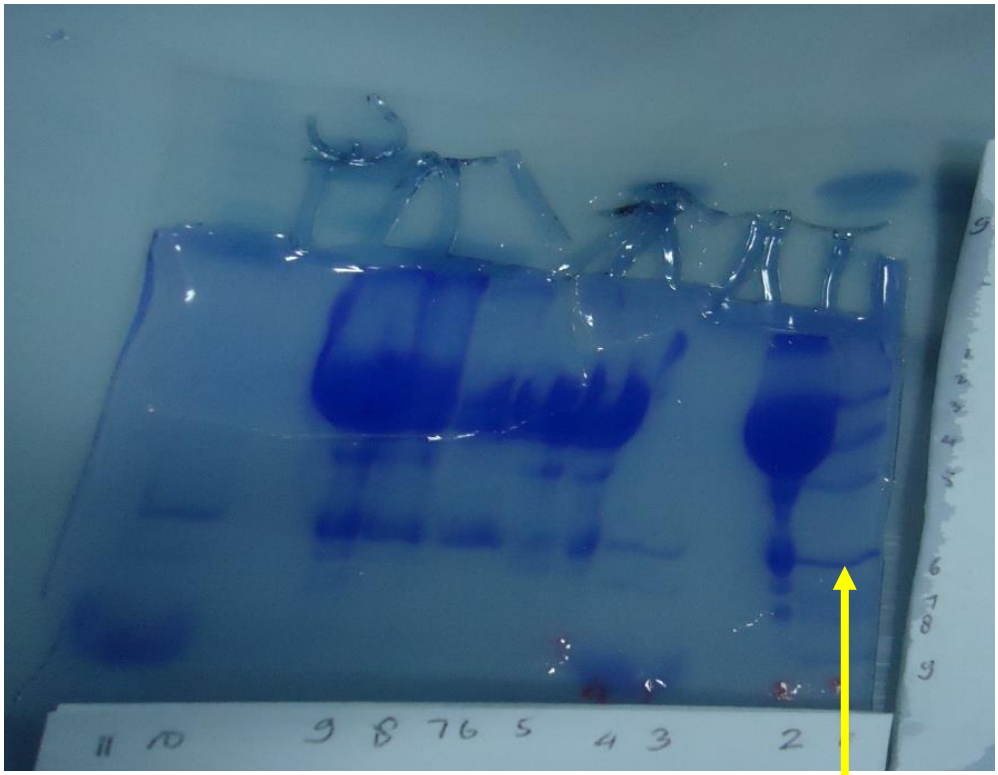
3	Pengamatan yang lain	2 ml supernatan pindah ke tabung mikrosentrifus sebagai sampel plasma warna kuning	2 , 25 ml sisa merah tua. Sisa akhir sel darah	
4	BAGIAN B	awal merah = 2,25ml ditambah buffer 6 ml		
3	BAGIAN C	awal = 1 ml warna kuning	Setelah di sentrifuge dengan kecepatan 14.000 rpm selama 10 menit Larutan bening larutan DNA putih	
4	BAGIAN D	Awal kuning= 1CC	Putih dan kuning 0,25 ml	

FOTO HASIL SDS- PAGE



Gambar 5: FOTO HASIL SDS- PAGE

Dari foto hasil SDS PAGE pita-pita DNA tidak terpisah dengan baik dan tidak jelas perbedaan setiap pita DNAnya. Pita-pita DNA tidak terpisah kemungkinan akibat akrilamida tidak bereaksi dengan sampel dan tidak membentuk matriks dengan sampel, sehingga menghambat

pergerakan sampel yang memungkinkan pemisahan protein secara sempurna.

Tabel 5. Jarak Band dan Berat Molekul Protein Marker Hasil PCR dan Elektroforesis SDS-PAGE

NO	NAMA PROTEIN	JARAK BAND (CM)	BM PROTEIN (KD)
1	Myosin	1.7	200,000
2	β- Galactosidase	2.7	116,250
3	Glycogen phosporilase b	2.3	97,400
4	Bovine serum albumin	2.5	66.200
5	Ovalbumin	3	45,000
6	Carbonicanhydrase	3.3	31,000
7	Soybean trypsin inhibitor	3.5	21.500
8	Lysozyme	3.9	14,400

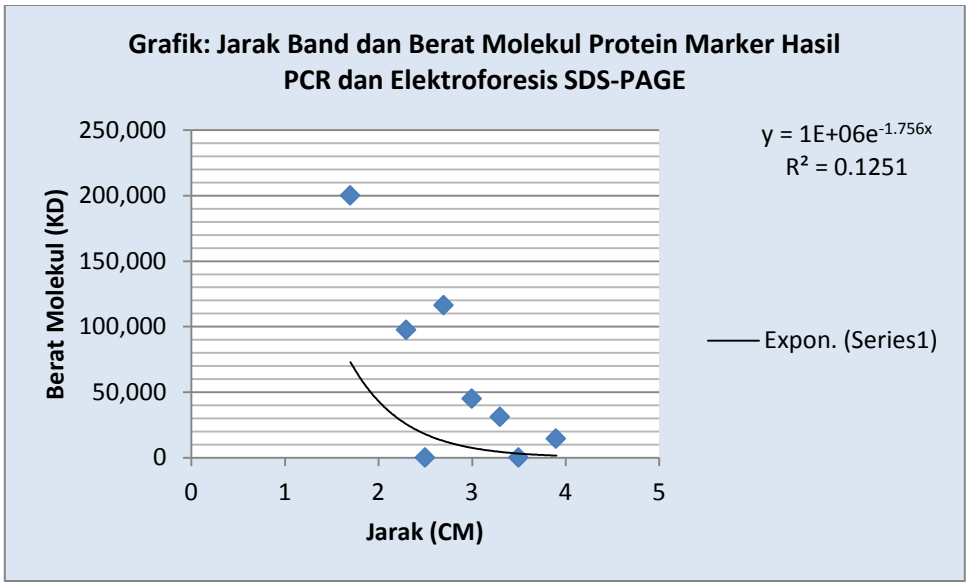
Tabel 6. Jarak Marker dengan Sampel Protein Setelah SDS PAGE

Standar / Marker	Plasma (P)	Membran (M)	Sitoplasmik (S)	Supernatan pengendapan etanol (ES)	Supernatan pengendapan garam (GS)	Endapan pengendapan garam (GP)	Endapan pengendapan etanol (EP)	Plasma	Membran	Sitoplasmik
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
0,7 cm	0,7 cm	-	-	-	-	-	-	-	-	0,3 cm
1,2 cm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1,7 cm	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5 cm	-	-	-	2,5 cm	-	2,3 cm	2,7 cm	2,6 cm	2,6 cm	2,6 cm
3,0 cm	-	-	-	3,1 cm	3,2 cm	-	-	3,2 cm	3,1 cm	-
4,2 cm	4,2 cm	4,7 cm	4,2 cm	4,3 cm	4,2 cm	4,4 cm	4,3 cm	4,3 cm	-	4,1 cm
4,7 cm	4,7 cm	4,3 cm	4,6 cm	4,6 cm	4,7 cm	-	-	4,6 cm	4,7 cm	4,8 cm
5,0 cm	5,0 cm	-	-	-	-	-	-	-	5,1 cm	-
5,6 cm	-	6,2 cm	6,1 cm	-	-	-	-	-	-	6,1 cm

Tabel 7. Jarak Band, Berat molekul dan Jenis Protein Sampel Elektoforesis SDS-PAGE

Sampel	Band 1	Band 2	Band 3	Band 4	Band 5	Band 6	Band 7	Band 8	Band 9
Plasma	0.7 200,000 Myosin	1,2 116,250 β-Galactosidase	1.7 97,400 Glycogen phosporilase b	2.5 66.200 Bovine serum albumin	3.0 45,000 Ovalbumin	4,2 31,000 Carbonicanhydrase	4,7 21.500 Soybean trypsin inhibitor	5.0 14,400 Lysozyme	5.6 65.00 Aprotinin
Plasma (P)	200,000 0,7 Myosin	-	-	-	-	31,000 4,2 Carbonicanhydrase	21.500 4,7 Soybean trypsin inhibitor	14,400 5,0 Lysozyme	-
Membran (M)	-	-	-	-	-	4,7 31,000 Carbonicanhydrase	4,3 21.500 Soybean trypsin	-	6,2 65.00 Aprotinin

							inhibitor		
SitoplasmIK (S)	-	-	-	-	-	4.2 31,000 Carbonicanhydrase	4.6 21.500 Soybeantrypsin inhibitor	-	6.1 65.00 Aprotinin
Supernatan pengendapan etanol (ES)	-	-	-	2.5 66.200 Bovine serum albumin	3.1 45,000 Ovalbumin	4.3 31,000 Carbonicanhydrase	4.6 21.500 Soybeantrypsin inhibitor	-	-
Supernatan pengendapan garam (GS)	-	-	-	-	3.2 45,000 Ovalbumin	4.2 31,000 Carbonicanhydrase	4.7 21.500 Soybeantrypsin inhibitor	-	-
Endapan pengendapan garam (GP)	-	-	-	2.3 66.200 Bovine serum albumin	-	4.4 31,000 Carbonicanhydrase	-	-	-
Endapan pengendapan etanol (EP)	-	-	-	2.7 66.200 Bovine serum albumin	-	4.3 31,000 Carbonicanhydrase	-	-	-
Plasma	-	-	-	2.6 66.200 Bovine serum albumin	3.2 45,000 Ovalbumin	4.3 31,000 Carbonicanhydrase	4.6 21.500 Soybeantrypsin inhibitor	-	-
Membran	-	-	-	2.6 66.200 Bovine serum albumin	3.1 45,000 Ovalbumin	-	4.7 21.500 Soybeantrypsin inhibitor	5.1 14,400 Lysozyme	-
Sitoplasmik	0.3 0,7 Myosin	-	-	2.6 66.200 Bovine serum albumin	-	4.1 31,000 Carbonicanhydrase	4.8 21.500 Soybeantrypsin inhibitor	-	6.1 65.00 Aprotinin



Gambar 5. Grafik Jarak Band dan Berat Molekul Protein Marker Hasil PCR dan Elektroforesis SDS PAGE

5. PEMBAHASAN

<u>Pembahasan Elektroforesis gel Agarose,</u> Hasil elektoforesis gel agarose yang *band-band*nya tidak terlihat dan kurang jelasnya *band-band* yang terbentuk, menyebabkan hasil tersebut tidak dapat digunakan untuk mengukur ukuran fragmen DNA. Hal tersebut kemungkinan dikarenakan banyak faktor, antara lain proses pengisolasian yang tidak benar, proses PCR yang kurang bekerja, keterbatasan fasilitas yang tersedia, dan telah terkontaminasinya sampel DNA. Kekurang telitian praktikan dalam proses pengerjaannya pun menjadi faktor ketidakberhasilan praktikum pada band DNA isolasi sel darah urutan kedelapan, hasil tidak tampak kemungkinan karena pada saat isolasi DNA hancur sehingga tampak bayangan panjang, pada band DNA isolasi sel darah urutan keempat belas, hasil tidak tampak kemungkinan karena pada saat isolasi DNA kurang tepat . pada band DNA isolasi sel epitel urutan kedua, hasil tidak tampak kemungkinan karena pada saat isolasi DNA kurang tepat, pada band dna isolasi sel epitel urutan kedua, hasil tidak tampak kemungkinan karena pada saat isolasi DNA kurang tepat, jarak base pare tidak jelas atau tidak tampak karena voltase 70 v yang digunakan tidak mampu mengisolasi DNA kemungkinan dibutuhkan 120 volt supaya jaraknya lebih jelas base pare, analing

suhu yang digunakan $52^{o}c$ mempengaruhi pelekatan isolasi dna pada agar sehingga, mempegaruhi jarak base pairs, jadi isolasi DNA berhasil maka prime harus tepat, isolasi DNA tidak berhasil karena voltase tidak tepat, konsentrasi agar terlalu tinggi, suhu tidak terkontrol. diperoleh jarak migrasi dari protein-protein standar dengan band standar pemisahan protein pada gel menggunakan prinsip penghambatan terhadap laju migrasi dari protein -protein tersebut sehingga pemisahan karena perbedaan berat molekul mengakibatkan terbentuknya pita-pita pada jarak migrasi yang berbeda satu sama lain dan jarak tersebut jadi dari hubungan marker, standar dapat diperoleh model regresi liniernya, yaitu DNA epitel $y = 38313e^{-0.90x}$ $R^2 = 0.987$ dan DNA darah $y = 1E+06e^{-1.06x}$ $R^2 = 0.996$

<u>Pembahasan Elektroforesis SDS PAGE</u>

Dari isolasi protein diperoleh sampel, yaitu sampel protein plasma (P), sampel protein membran (M), sampel protein pengendapan garam tinggi (Gp), Sampel protein supernatan garam tinggi (Gs), sampel protein supernatan etanol (Es), sampel protein pengendapan etanol tinggi (Ep) dan sampel protein sitoplasmik (S). Dari analisa SDS PAGE maka diproleh molekul protein yang terdapat pada band 1 jarak dengan plasma 0,7cm dengan berat molekul protein 200.000 nama protein Myosin, band 2 β-Galactosidase 3 Glycogen phosporilase b, 4 Bovine serum albumin, 5 ovalbumin dan 9 Aprotinin tidak tampak terisi oleh DNA, jarak band 6 dengan plasma 4,2 cm dengan berat molekul 31.000, jarak band 7 dengan plasma 4,7 berat molekul 21.500 nama protein soyben trypsin inhibitor, jarak band 8 dengan plasma 5.0 m berat molekul 14.400 nama protein adalah Lysozyme. Jarak band 1 dengan memmbran 1, 2, 3, 4, 5, 8 tidak tampak proteinnya, jarak band 6 4,7cm dengan berat molekul 31.000 nama protein Carbonicanhydrase. Jarak band 7 dengan memmbran 4,3 cm dengan berat molekul 21.500 nama protein Soybean Trypsin inhibitor dan jarak band 9 dengan membran 6.2 cm dengan berat molekul 6.500 nama protein Aprotinin. Jarak band 6 dengan sitoplasmik 4.2cm dengan berat molekul 31.000 nama protein carbonicanhydrase, Jarak band 7 dengan sitoplasmik 4.6 cm dengan berat molekul 21.500 nama protein soyben trypsin inhibitor,

jarak band 9 dengan sitoplasmik 6.1 cm dengan berat molekul 6.500 nama protein Aprotinin. Jarak band 1, 2, 3, 4, 8,9 dengan ES tidak tampak, jarak band 5 dengan ES 2.5 cm berat molekul 66.200 dengan nama protein Bovine serum Albumin, jarak band 6 dengan ES 4.3 cm berat protein 31.000 nama protein Carbonicanhydrase, jarak band 7 dengan ES 4.6 cm, berat protein 21.500 nama protein Soybean trypsin inhibitor. Jarak band 1, 2, 3, 4, 8, 9 dengan supernatan pengendapan garam (GS) tidak tampak, jarak band 5 dengan GS 3.2 cm berat molekul 45.000 nama protein ovalbumin, jarak band 6 dengan GS 4.2 cm berat molekul 31.000 nama protein Carbonicanhydrase dan jarak band 7 dengan GS 4.7 cm berat molekul 21.500 nama protein Soybean trypsin inhibitor. Jarak band 1,2,3,5,7,8, dan 9 dengan endapan pengendapan garam (GP) tidak tampak, jarak band 4 dengan GP 2.3 cm, berat molekul 66.200 nama protein Bovine serum albumin, jarak band 6 dengan GP 4.4 cm berat molekul 31.000 nama protein Carbonicanhydrase. Jarak band 1,2,3,5,7,8,9 dengan endapan pengendapan etanol (EP) tidak tampak, jarak band 4 dengan EP 2.7 cm dengan berat molekul 66.200 nama protein Bovine serum albumin, jarak band 6 dengan EP 4.3 cm dengan berat molekul 31.000 nama protein Carbonicanhydrase. Penggunaan SDS berfungsi untuk mendenaturasi protein karena SDS bersifat sebagai deterjen yang mengakibatikatan dalam protein terputus membentuk protein yang dapat terelusi dalam gel begitu juga mercaptoetanol. Ammonium persulfate berfungsi sebagai inisiator yang mengaktifkan akrilamida agar bereaksi dengan molekul akrilamida yang lainnya membentuk rantai polimer yang panjang. TEMED berfungsi sebagai katalisator reaksi polimerisasi akrilamid menjadi gel poliakrilamid sehingga dapat digunakan dalam pemisahan protein. Dari elektroforesis SDS SPG diperoleh jarak migrasi dari protein-protein standar dengan band standar pemisahan protein pada gel menggunakan prinsip penghambatan terhadap laju migrasi dari protein -protein tersebut sehingga pemisahan karena perbedaan berat molekul mengakibatkan terbentuknya pita-pita pada jarak migrasi yang berbeda satu sama lain dan jarak tersebut jadi dari hubungan marker, standar, berat molekul protein dapat diperoleh model regresi liniernya, yaitu $y = 1E+06e^{-1.75x}$ $R^2 = 0.125$

6. KESIMPULAN DAN SARAN

KESIMPULAN :

1. Analisa Elekroforesis gel Agarose merupakan metode standar untuk memisahkan, mengidentifikasi, mengkarakterisasi dan purifikasi dari molekul DNA/RNA,baik untuk pemisahan untai tunggal atau untai ganda molekul DNA.Molekul-molekul tersebut akan bermigrasi menuju kutub positif atau kutub negatif berdasarkan muatan yang terkandung di dalamnya
2. Analisa elektroforesis SDS PAGE merupakan migrasi komponen akril amida dengan N.N` bisakrilamida.
3. Elektroforesis dilakukan dengan menempatkan larutan sampel yang sudah dipreparasi dan juga marker,ke dalam sumur SDS PAGEadalah SDS PAGE dengan dikombinasi silver staining adalah cara untuk mengukur berat molekul
4. Dari hasil pengamatan dapat dilihat hasil dari tahap-tahap yang telah dilakukan. Isolasi DNA telah berhasil dilakukan namun masih ada sumur yang tidak terisi karena isolasi DNA tidak tepat
5. Terbentuknya benang-benang tersebuut juga merupakan hasil dari proses tahapan-tahapan yang dilakukan dengan menggunakan larutan senyawa-senya tertentu.
6. Hubungan marker, standar, dapat diperoleh model regresi liniernya,DNA epitel $y = 38313e^{-0.90x}$ $R^2 = 0.987$ dan DNA darah $y = 1E+06e^{-1.06x}$ $R^2 = 0.996$
7. Hubungan marker, standar, berat molekul protein dapat diperoleh model regresi liniernya SDS PAGE $y = 1E+06e^{-1.75x}$ $R^2 = 0.125$

SARAN :

1. Sebaiknya praktikum isolasi Protein pewarnaannya dinaikkan jumlahnya sehingga hasilnya lebih jelas.
2. Ada pembahasan khusus kenapa pita DNA tidak jelas terlihat, baik pada elektroforesis gel agarose dan elektoforesis SDS PAGE.
3. Sebaiknya praktikum selanjutnya dijelaskan kesalahan dalam pembuatan laporan dan ada penjelasan awal secara keseluruhan mengingat BIOMEDIK adalah cabang ilmu yang berbeda.