

# LAPORAN PRAKTIKUM BIOTEKNOLOGI



OLEH

KELAS : B

KELOMPOK : 16

1. WIWIN SAGITA (B1D 010 141)
2. BAIQ YUNITA LARASATI (BID 010 143)
3. HARNI HARIANI (BID 010 144)
4. AGUS SAPUTRA (BID 010 145)
5. AZHAR HARIADI (BID 010 136)
6. MOH. MEMI HARMIZI (BID 010 148)
7. BAIQ HALIMATUS SA'DIAH (BID 010 149)
8. AMIRUDIN (BID 010 106)
9. HERI SUHIRMAN (BID 010 200)
10. KHAERUL ANAM (BID 010 115)
11. DWINDIANI HUTAMI A (B1D 010 185)
12. HERRY (B1D 010 110)

**FAKULTAS PETERNAKAN**

**UNIVERSITAS MATARAM**

**2011**

## **KATA PENGANTAR**

Alhamdulillah puji syukur kami panjatkan kehadiran Allah SWT atas rahmat dan karuniaNya berupa kesehatan dan kesempatan sehingga laporan praktikum bioteknologi ini dapat kami selesaikan tepat pada waktunya.

Laporan ini merupakan bentuk dari hasil praktikum yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan Universitas Mataram yang terdiri dari beberapa acara, yaitu pengisolasian DNA dan Protein, pembuatan gel, PCR (Polymerase Chain Reaction), serta elektroforesis. Di dalam laporan ini akan dibahas mengenai hasil dari yang dipraktikkan serta teknik atau cara-cara melakukan praktikum diatas.

Kami semua menyadari bahwa dalam penulisan laporan ini masih jauh dari kesempurnaan karena kami sebagai manusia tidak pernah luput dari kesalahan. Karena itu saran serta kritik yang membangun penulis nantikan. Semoga laporan praktikum ini berguna bagi kita semua.

Mataram, Desember 2011

Penyusun

## **DAFTAR ISI**

KATA PENGANTAR .....	
DAFTAR ISI .....	
ACARA I ISOLASI PLASMID DNA .....	
BAB I PENDAHULUAN .....	
1.1 Latar Belakang .....	
1.2 Tujuan Praktikum .....	
1.3 Waktu Dan Tanggal Praktikum .....	
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	
BAB III MATERI DAN METODE PRAKTIKUM .....	
3.1 Materi Praktikum .....	
3.2 Metode Praktikum .....	
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	
4.1 Hasil Praktikum .....	
4.2 Pembahasan .....	
BAB V KESIMPULAN .....	
DAFTAR PUSTAKA .....	
ACARA II ELEKTRO FORENSIS .....	
BAB I PENDAHULUAN .....	
1.1 Latar Belakang .....	
1.2 Tujuan Praktikum .....	
1.3 Waktu Dan Tanggal Praktikum .....	
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	
BAB III MATERI DAN METODE PRAKTIKUM .....	
3.1 Materi Praktikum .....	
3.2 Metode Praktikum .....	
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	
4.1 Hasil Praktikum .....	
4.2 Pembahasan .....	
BAB V KESIMPULAN .....	

DAFTAR PUSTAKA .....	
ACARA III PCR .....	
BAB I PENDAHULUAN .....	
1.1 Latar Belakang .....	
1.2 Tujuan Praktikum .....	
1.3 Tempat Dan Tanggal Praktikum .....	
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	
BAB III MATERI DAN METODE PRAKTIKUM .....	
3.1 Materi Praktikum .....	
3.2 Metode Praktikum .....	
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	
4.1 Hasil Praktikum .....	
4.1 Pembahasan .....	
BAB V KESIMPULAN .....	
DAFTAR PUSTAKA .....	
ACARA IV ELEKTROFORESIS .....	
BAB I PENDAHULUAN .....	
1.1 Latar Belakang .....	
1.2 Tujuan Praktikum .....	
1.3 Tempat Dan Tanggal Praktikum .....	
BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....	
BAB III MATERI DAN METODE PRAKTIKUM .....	
3.1 Materi Praktikum .....	
3.2 Metode Praktikum .....	
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	
4.1 Hasil Praktikum .....	
4.2 Pembahasan .....	
BAB V KESIMPULAN .....	
DAFTAR PUSTAKA .....	

ACARA I  
ISOLASI PLASMID DNA  
DARI BAKTERI

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

DNA terdapat pada seluruh jaringan dan cairan tubuh. Oleh karena itu DNA genom dapat diisolasi dari semua bahan biologis yang mengandung sel berinti, seperti darah, semen, rambut, tulang, liur dan lain-lain. Bahan yang paling sering digunakan untuk tujuan isolasi DNA adalah darah dan rambut beserta akarnya, karena kedua bahan tersebut relatif mudah diperoleh.

DNA genom yang diisolasi dapat digunakan untuk identifikasi DNA suatu organisme, baik dengan metode PCR (*polymerase chain reaction*) atau menggunakan enzim endonuklease restriksi ("DNA fingerprinting"). Hasil pemeriksaan dari kedua teknik tersebut kemudian dapat digunakan untuk diagnosis penyakit infeksi yang disebabkan oleh virus atau bakteri, mendeteksi adanya mutasi gen yang menimbulkan penyakit keganasan, penyakit hereditas, menentukan jenis kelamin prenatal serta sebagai alat bantu forensik dalam bidang kedokteran.

Darah (whole blood) dan sumsum tulang mamalia mengandung baik sel-sel berinti (sel darah putih) maupun sel-sel tidak berinti (sel darah merah). Untuk mengisolasi DNA dari darah dan sumsum tulang, sel darah merah yang tidak mengandung DNA genom harus dilisiskan dahulu agar dapat dipisahkan dari sel darah putih. Sel-sel darah putih yang sudah dipisahkan kemudian dilisiskan dengan bantuan bahan pengawet DNA yaitu, deterjen anionik yang dapat melarutkan komponen seluler. Bahan pengawet DNA juga dapat mengurangi aktivitas Dnase yang terdapat di dalam sel. Bila perlu dapat ditambahkan Rnase untuk menyingkirkan kontaminasi RNA.

Selanjutnya dengan presipitasi garam, DNA genom dipisahkan dari protein plasma dan inti. Akhirnya DNA genom diisolasi dengan presipitasi dengan alkohol dan pelarutan kembali endapan yang terbentuk dari larutan dasar yang mengandung suatu bahan pengawet DNA. Hasil isolasi DNA dikatakan baik apabila didapatkan DNA yang murni dan utuh.

Pada praktikum ini akan dilakukan isolasi plasmid DNA yang berasal dari bakteri (E. Coli).

### **1.2 Tujuan Praktikum**

Adapun tujuan dari praktikum ini adalah untuk mengetahui teknik atau cara pengisolasian DNA sebagai bahan yang akan digunakan pada teknik PCR.

### **1.3 Tempat dan tanggal praktikum**

Adapun praktikum ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan, Universitas Mataram, pada tanggal 23 November 2011.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

DNA terdapat pada seluruh jaringan dan cairan tubuh. Oleh karena itu DNA genom dapat diisolasi dari semua bahan biologis yang mengandung sel berinti, seperti darah, semen, akar rambut, tulang, liur dan lain-lain. Bahan yang paling sering digunakan untuk tujuan isolasi DNA adalah darah dan rambut beserta akarnya, karena kedua bahan tersebut relatif mudah diperoleh. DNA dapat diisolasi sekalipun dengan menggunakan bahan kering seperti, bercak darah maupun preparat autan, selain itu DNA juga dapat diisolasi dari produk olahan (Anonim, 2011).

Untuk mengisolasi gen, diperlukan DNA pencari atau dikenal dengan nama 'probe' yang memiliki urutan basa nukleotida sama dengan gen yang kita inginkan. Probe ini bisa dibuat dengan teknik PCR menggunakan primer yang sesuai dengan gen tersebut (Andy, 2011).

Setiap organisme memiliki DNA yang terletak dalam inti sel atau nukleus yang disebut sebagai DNA kromosomal, begitu pula bakteri. Selain DNA kromosomal, bakteri juga memiliki DNA ekstrakromosomal. Plasmid merupakan DNA ekstrakromosomal yang berbeda karakternya dengan DNA kromosomal. Bentuk plasmid adalah sirkuler double helix dengan ukuran 1 kb sampai lebih dari 200 kb. Pada bakteri jumlah plasmid yang dimiliki bervariasi bahkan sampai ribuan ataupun tidak memiliki plasmid. Plasmid bisa saja tidak terdapat pada bakteri yang biasa saja karena plasmid tidak mempengaruhi ketahanan hidup bakteri tersebut. Plasmid hanya memberikan sifat istimewa yang dimiliki oleh bakteri tersebut misalnya resistensi terhadap antibiotik. Beberapa karakteristik dari plasmid yang patut diketahui antaralain: dapat ditransfer ke bakteri lain dan memiliki ORI (Origin of replication) sehingga mampu mereplikasi diri tanpa pengaturan dari

DNA kromosom. Replikasi dimulai dari titik ORI hingga semua plasmid tereplikasi. (Anonim. 2011)

Plasmid merupakan potongan melingkar DNA yang ukurannya kecil (kurang lebih 2000 sampai 10000 pasangan basa) yang berisi informasi genetik yang penting untuk pertumbuhan bakteri. Di alam, gen informasi ini sering mengkode protein yang akan membuat bakteri resisten terhadap antibiotik. Plasmid mungkin merupakan hasil dari perkembangan heterotrop yang tertutup. Bakteri sering tumbuh pada lingkungan yang sama dengan mold dan fungi dan berkompetisi dengan mereka untuk mendapatkan makanan (bahan organik kompleks). Sebagai hasilnya, mold dan fungi menghasilkan toksin untuk membunuh bakteri (dalam dunia kedokteran sering disebut dengan antibiotik) agar supaya menang dalam memperebutkan makanannya. Untuk menanggapi ini bakteri menghasilkan plasmid untuk mempertahankan hidupnya (Jakubowski. 2008). Plasmid adalah DNA untai ganda yang berbentuk sirkuler yang berada diluar DNA kromosomal bakteri. DNA ekstrakromosomal yang terjadi secara alamiah pada bakteri, yeast, dan beberapa sel eukaryotik yang berada secara simbiotik maupun parasitik pada sel inang. (Anonim. 2011)

## BAB III

### MATERI DAN METODE

#### 3.1 Materi Praktikum

❖ Alat-alat praktikum

Adapun alat-alat yang digunakan dalam praktikum ini, yaitu :

- Mikropipet
- Tabung endof
- Vortex
- Sentrifuge
- Palkon

❖ Bahan-bahan praktikum

Adapun bahan-bahan yang digunakan dalam praktikum ini, yaitu :

Larutan I	Larutan II	Larutan III
<ul style="list-style-type: none"><li>• 50 mM glucose</li><li>• 25 mM tris-Cl (pH 8.0)</li><li>• 10 mM EDTA (pH 8.0)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 0.2 N NaOH (harus fresh)</li><li>• 1% SDS (sodium solikat)</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>• 5M potassium acetate 60 ml</li><li>• Acetic acid glacial 11.5 ml</li><li>• H<sub>2</sub>O 28.5 ml</li></ul>

Bahan-bahan lain :

- Etanol 10 %
- Etanol 70 %
- Phenolchloroform

#### 3.2 Metode Praktikum

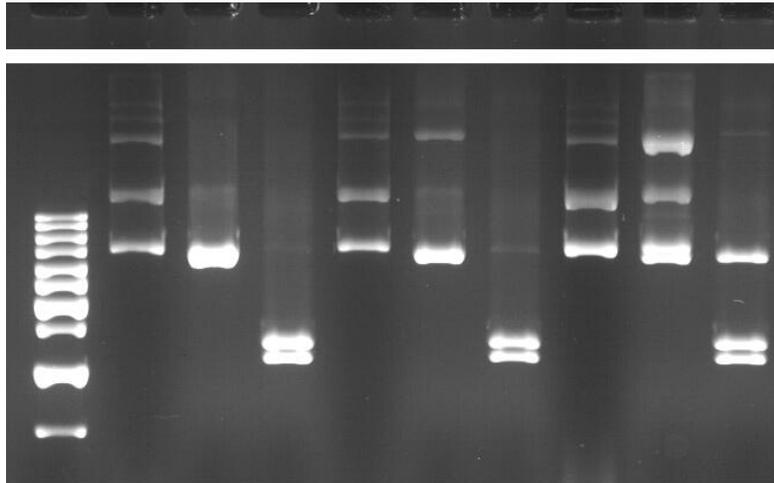
- a. Siapkan larutan-larutan yang ada seperti larutan 1, 2, dan 3.
- b. Buat suspensi bakteri dengan cara menumbuhkan satu koloni bakteri pada 2 ml media LB cair. Inkubasi selama 18jam pada inkubator dengan temperatur 37°C
- c. Setelah inkubasi lakukan sentrifugasi 12.000 rpm untuk mendapatkan sel sel bakteri pellet.

- d. Ruspensi pellet dengan 100 $\mu$ l larutan dingin. Campur dengan merata menggunakan vortex.
- e. Tambahkan 200 $\mu$ l larutan 2, campur merata dengan membolak balikkan tabung dengan cepat beberapa kali tanpa menggunakan vortex.
- f. Tambahkan 150 $\mu$ l larutan 3 dingin, vortex selama beberapa detik kemudian posisi tabung (inverted) selama 10 detik. Kembalikan tabung ke posisi semula dan simpan dalam es selama 3-5 menit.
- g. lakukan sentrifugasi (12.000 rpm) selama 5 menit pada suhu 4°C . Setelah sentrifugasi ambil supernatan dan pindahkan ke tabung lain.
- h. Tambahkan phenol chloroform dengan perbandingan 1:1 dengan jumlah supernatan yang diperoleh.
- i. Campur dengan merata menggunakan vortex kemudian lakukan sentrifugasi (12.000 rpm) selama 2 menit pada suhu 4°C.
- j. setelah sentrifugasi, ambil supernatan dan pindahkan ke tabung lain.
- k. Tambahkan ethanol (2 x volume supernatan) untuk mempresipitaskan DNA. Campur dengan vortex kemudian biarkan pada suhu kamar selama 2 menit.
- l. lakukan sentrifugasi 12.000 rpm selama 5 menit pada suhu 4°C.
- m. Buang supernatan perlahan lahan. Balikkan tabung dan biarkan kering udara selama beberapa menit.
- n. bilas DNA pellet dengan ethanol 70% (dingin) kemudian sentrifugasi seperti cara kerja l.
- o. buang supernatan, balikkan tabung dan biarkan kering udara selama 10 menit.
- p. ruspensi DNA dengan 25 $\mu$ l buffer TE( Ph 8.0)

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Praktikum



*Jel Strasi*  
1-1kb DNA marker  
2-pBR322 Plazmid DNA (enzim kesimi yok)  
3-pBR322 Plazmid DNA, HindIII enzim kesimi  
4-pBR322 Plazmid DNA, HindIII ve NdeI enzim kesimi  
5-pBR322 Plazmid DNA (enzim kesimi yok)  
6-pBR322 Plazmid DNA, HindIII enzim kesimi  
7-pBR322 Plazmid DNA, HindIII ve NdeI enzim kesimi  
8-pBR322 Plazmid DNA (enzim kesimi yok)  
9-pBR322 plazmid DNA, HindIII enzim kesimi  
10-pBR322 Plazmid DNA, HindIII ve NdeI enzim kesimi

#### 4.2 Pembahasan

Metode isolasi DNA dari bakteri (plasmid) ini biasanya sering kita sebut miniprep yang singkatan dari mini-preparation. Ada pula yang mengatakan medi-prep. Apakah bedanya? Mini-prep maupun medi-prep sebenarnya metode yang digunakan sama, tetapi hanya jumlahnya volume saja yang beda. Kalau yang mini-prep small scale isolation of plasmid, sedangkan medi-prep adalah large-scale isolation of plasmid.

Yang saya akan tulis di sini adalah prinsip dasar isolasi DNA yang saya ambil dari Sambrook (buku Molecular Cloning). Isolasi DNA, bisa dengan cara

manual (seperti yang saya tulis ini) dan bisa dengan menggunakan KIT. Menggunakan KIT, kita semua tahu bahwa akan memakan waktu yang lebih cepat dari yang manual, tapi akan lebih mahal karena buatan company. Tetapi sebenarnya prinsip dasar isolasi plasmid dengan KIT tersebut diambil dari buku *Molecular Cloning ~ Sambrook*.

Prinsipnya adalah pertama setelah kita kultur bakteri (biasanya menggunakan *E.coli*) selama semalam, kita sentrifuge yang gunanya adalah kita hanya mengambil kulturnya dan menghilangkan medium-nya. Setelahnya kita treatment dengan pemberian solution I, II, dan III. Solution ini semuanya adalah lysis buffer. Pada solution I kita bisa melihat komposisinya adalah glucose yang konsentrasinya tinggi. Seperti pada prinsip difusi-osmosis, jika ada larutan yang konsentrasi tinggi masuk dalam sel, dengan sendirinya membran sel akan rusak. Kemudian pemberian solution II yang harus fresh (NaOH dan SDS). Solution II ini kita menggunakan NaOH sebagai alkali, yang berfungsi merusak membran sel. Dan dalam step ini perlu kita ingat bahwa kita tidak boleh mem-vortex pada saat mix. Kalau kita vortex, semua akan hancur termasuk DNA-nya (NaOH adalah alkali kuat). solution NaOH dan SDS tidak untuk di-autoclaved maupun on ice, karena ada SDS-nya. SDS di sini adalah sabun yang juga untuk menghancurkan membran sel. Jadi bisa dilihat bahwa apabila kita membuka tutup tube (pada saat akan memasukkan solution III), ada lendir-lendir di mulut tube. Itu menandakan bahwa membran sel telah lysis. Sedangkan solution III berguna untuk neutralization, yang di situ dapat kita lihat membran-membran yang telah lysis menggumpal dan menyatu. Nah, maka dari itu kita perlu sentrifuge untuk mengendapkan membran-membran yang lysis, sehingga yang kita ambil hanya supernatan (larutan bening ~ berisi DNA).

Setelahnya kita mendapatkan larutan bening itu, treatment dengan PCI (phenol : chloroform : isoamylalcohol), yang berfungsi untuk menghilangkan komponen-komponen lain dalam sel, misalnya protein. Karena target kita adalah mendapatkan DNA murni. Dan kita pun treatment dengan ethanol 100% dan

NaAc (buffer). karena DNA ini tidak larut dalam ethanol, maka dengan pemberian ethanol kita akan melihat DNA di situ. NaAc sebagai garam/buffer berfungsi untuk membantu pengendapan. Sehingga proses ini kita dapat namakan ethanol presipitasi, yaitu pengendapan DNA dengan pemberian ethanol. Selain itu untuk membantu pengendapan, kita inkubasi di -20 derajat sekitar 1 jam, kemudian setelahnya sentrifuge dan washing dengan ethanol 70%, dry up dan pemberian TE. Pada dry up ini DNA harus benar-benar bersih dari ethanol, karena jika tidak bersih dari ethanol maka DNA tidak akan mau larut.

Setelahnya kita lakukan purifikasi. Purifikasi di sini bertujuan agar kita mendapatkan DNA yang benar-benar murni, tidak terkontaminasi dengan RNA. Bisa kita lihat pada step ini kita treatment dengan pemberian RNase, supaya RNA yang terkontaminasi bisa hilang.

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **5.1 Kesimpulan**

Bisa dilihat bahwa apabila kita membuka tutup tube (pada saat akan memasukkan solution III), ada lendir-lendir di mulut tube. Itu menandakan bahwa membran sel telah lysis. Purifikasi di sini bertujuan agar kita mendapatkan DNA yang benar-benar murni, tidak terkontaminasi dengan RNA. Bisa kita lihat pada step ini kita treatment dengan pemberian RNase, supaya RNA yang terkontaminasi bisa hilang.

#### **5.2 Saran**

## DAFTAR PUSTAKA

- Andy. 2011. *Biologi Molekuler*. Jakarta: Rineka Cipta
- Anonim. 2011. <http://www.scribd.com/doc/30275768/Laporan-Praktikum-Biosemol-Isolasi-Dna-Plasmid> Di unduh Tgl 11 Desember 2011
- Anonim. 2011. <http://www.scribd.com/doc/30275768/Laporan-Praktikum-Biosemol-Isolasi-Dna-Plasmid>. Di unduh Tgl 11 Desember 2011
- Anonim. 2011. <http://ekor07.student.ipb.ac.id/2010/06/20/isolasi-plasmid-elektroforesis-kuantifikasi-dna/>. Di unduh Tgl 11 Desember 2011

# ACARA II ELEKTRO FORENSIS

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1. Latar Belakang**

Elektroforesis merupakan metode yang sudah dipakai oleh banyak peneliti terutama peneliti yang berkaitan dengan genetika ataupun molecular. Seiring dengan kemajuan zaman yang semakin pesat dinegara-negara berkembang akan selalu diikuti pula dengan kemajuan ilmu pengetahuan yang semakin marak dibidang teknologi. Salah satu diantaranya adalah pengembangan di bidang Biologi Molekul. Bidang ilmu pengetahuan Bidang Molekuler ini telah dimulai pada akhir abad ke 19, setelah metode elektroforesis ditemukan dan dipakai untuk menganalisa berbagai kegiatan penelitian di bidang Kimia, Biologi (Genetika, Taksonomi dan Bio-sistematik).

Metode elektroforesis mulai berkembang akhir abad ke-19 setelah ditemukan penelitian yang menunjukkan adanya penelitian yang menunjukkan adanya efek dari listrik terhadap partikel-partikel atau molekul-molekul yang bermuatan listrik, dalam hal ini termasuk juga protein. Elektroforesis berasal dari bahasa Yunani yang mempunyai arti transport atau perpindahan melalui partikel-partikel listrik. Metode elektroforesis telah digunakan dan dikembangkan didalam teknik analisa untuk penelitian di bidang biologi dan genetika. Metode tersebut berkembang sangat pesat sekali di zaman kemajuan teknologi, disebabkan karena pengerjaannya sangat sederhana dan sangat mudah. Di dalam ilmu biologi maupun biologi molekuler, metode elektroforesis banyak digunakan untuk taksonomi, sistematik dan genetik dari hewan ataupun tumbuhan.

### **1.2. Tujuan**

Untuk mengetahui alat-alat yang digunakan dalam proses elektroforesis dan cara penggunaannya.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. Dengan demikian elektroforesis dapat digunakan untuk separasi makromolekul (seperti protein dan asam nukleat). Posisi molekul yang terseparasi pada gel dapat dideteksi dengan pewarnaan atau autoradiografi, ataupun dilakukan kuantifikasi dengan densitometer. Elektroforesis untuk makromolekul memerlukan matriks penyangga untuk mencegah terjadinya difusi karena timbulnya panas dari arus listrik yang digunakan.

Elektroforesis biasanya memerlukan media penyangga sebagai tempat bermigrasinya molekul-molekul biologi. Media penyangganya bermacam-macam tergantung pada tujuan dan bahan yang akan dianalisa. Media penyangga yang sering dipakai dalam elektroforesis antara lain yaitu kertas, selulose, asetat dan gel. Gelpoliakrilamid dan agarosa merupakan matriks penyangga yang banyak dipakai untuk separasi protein dan asam nukleat. Beberapa faktor mempengaruhi kecepatan migrasi dari molekul protein yakni:

(Soedarmadji, 1996)

#### 1. Ukuran molekul protein

Migrasi molekul protein berukuran besar lebih lambat daripada migrasi molekul berukuran kecil.

#### 2. Konsentrasi gel

Migrasi molekul protein pada gel berkonsentrasi rendah lebih cepat daripada migrasi molekul protein yang sama pada gel berkonsentrasi tinggi.

3. Bufer (penyangga) dapat berperan sebagai penstabil medium pendukung dan dapat mempengaruhi kecepatan gerak senyawa karena ion sebagai pembawa protein yang bermuatan. Kekuatan ion yang tinggi dalam bufer akan

meningkatkan panas sehingga aliran listrik menjadi maksimal. Hal ini dapat mempercepat gerakan molekul protein. Kekuatan ion rendah dalam bufer akan menurunkan panas sehingga aliran listrik akan sangat minimal dan migrasi molekul protein sangat lambat.

#### 4. Medium penyangga

Medium pendukung ideal untuk elektroforesis adalah bahan kimia inert yang bersifat relatif stabil, mudah ditangani dan mempunyai daya serap yang baik, sebagai migrasi elektron atau penyaringan berdasarkan ukuran molekul seperti gel poliakrilamid (Sudarmadji, 1996).

1. Jika ukuran pori dari medium kira-kira sama dengan molekul, maka molekul yang lebih kecil akan berpindah lebih bebas di dalam medan listrik, sedangkan molekul yang lebih besar akan dibatasi dalam migrasinya. Besarnya pori-pori dapat diatur dengan mengubah konsentrasi penyusun gel poliakrilamidnya yaitu akrilamid dan bisakrilamid.

#### 5. Kekuatan voltase

2. Voltase yang dipakai rendah (100-500) V, kecepatan migrasi molekul sebanding dengan tingginya voltase yang digunakan.

3. Voltase yang dipakai tinggi (500-10000) V, mobolitas molekulmeningkat secara lebih tajam dan digunakan untuk memisahkan senyawa dengan BM rendah serta jenis arus yang dipakai selalu harus searah (bukan bolak balik).

6. Temperatur medium disaat proses elektroforesis berlangsung. Jika temperatur tinggi akan mempercepat proses bermigrasinya protein dan sebaliknya jika temperatur rendah akan mengurangi kekuatan bermigrasinya protein. Pada saat elektroforesis berlangsung, protein akan bergerak dari elektroda negatif menuju elektroda positif sampai pada jarak tertentu pada gel poliakrilamid tergantung pada berat molekulnya. Semakin rendah berat molekulnya maka semakin jauh pula protein bergerak atau mobilitasnya tinggi. Sebaliknya protein dengan berat

molekul lebih besar akan bergerak pada jarak yang lebih pendek atau mobilitasnya rendah (Sumitro *et al.*, 1996).

Hasil elektroforesis akan didapatkan pita-pita protein yang terpisahkan berdasarkan berat molekulnya. Tebal tipisnya pita yang terbentuk dari pita protein menunjukkan kandungan atau banyaknya protein yang mempunyai berat molekul yang sama yang berada pada posisi pita yang sama. Hal ini sejalan dengan prinsip pergerakan molekul bermuatan, yakni molekul bermuatan dapat bergerak bebas di bawah pengaruh medan listrik, molekul dengan muatan dan ukuran yang sama akan terakumulasi pada zona atau pita yang sama atau berdekatan (Soedarmadji, 1996).

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1 Alat yang digunakan**

Alat yang digunakan dalam metode elektroforesis adalah tabung eppendorf, mikropipet, mortar, tabung erlenmeyer, gelas ukur, penangas air (dengan suhu 80°C), magnetic stirrer, magnetic bar, sentrifuga, pinset, timbangan, pompa vacum, citakan gel 20x16x1 cm<sup>3</sup>, timer, meja pendingin, pembungkus plastik, freezer, kawat halus, inkubator, power supply, pisau, penggaris, spidol, kantong plastik tebal, nampan plastik, spon dan alat-alat tulis.

#### **3.2 Bahan yang digunakan**

Bahan kimia yang digunakan tergantung dari hewan atau tumbuhan enzim apa yang akan diuji. Misalnya larutan pengekstraksi yang digunakan untuk jenis udang udangan adalah enzim esterase, malat, fosfat glukosa isomerase.

#### **3.2. Metode Praktikum**

Adapun cara kerja yang dilakukan dalam praktikum ini yaitu:

1. Ambil acilamen sesuai pilihan dan masukkan semua bahan dalam satu cub.
2. Dinik menggunakan pipet, diusahakan semua larut.
3. Masukkan semua ke dalam plep kaca.
4. Amati perubahan yang terjadi dan catat hasilnya.

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

Dari pengamatan yang kami lakukan, cara kerja metode elektroforesis adalah sebagai berikut:

#### **1.4 Ekstraksi enzim**

Setelah sampel dibersihkan ditempatkan didalam mortal dan diberi pengestrak sebanyak  $\pm 200$  (tergantung dari banyaknya, sedikitnya sampel atau besar kecilnya sampel) kemudian sampel digerus hingga halus. Penggerusan dilakukan pada kondisi dingin ( $\pm 4^{\circ}\text{C}$ ) dan dilakukan didalam meja pendingin. Agar suhu tetap konstan. Hasil gerusan tersebut dimasukkan kedalam tabung eppendorf dan kemudian dilakukan sentrifuse dengan kecepatan 2000 rpm selama 20 menit. Supernatan yang didapat dipisahkan dari endapan yang selanjutnya dimasukkan dalam tabung eppendorf yang disimpan dalam lemari pendingin (*freezer*) dalam suhu sekitar  $70^{\circ}\text{C}$ .

#### **2.4 Pembuatan gel**

Cara pembuatan gel adalah dengan melarutkan gel bubuk yang khusus digunakan untuk elektroforesis pada erlenmeyer, kemudian di cetak pada cetakan khusus yang telah disediakan dan ditunggu hingga kering. Dalam pembuatan agar, proporsi campuran antara agar dan pelarutnya harus sesuai, karena kalau tidak maka substratnya tidak akan dapat berjalan

#### **3.4 Penempatan sampel**

Gel dilepaskan dari cetakan gel dengan cara mengiris keliling tepi gel dengan menggunakan pisau. Bagian ujung gel diiris atau dibuat sumuran dengan cetakan khusus kira 2 cm dari salah satu tepi yaitu dari arah katoda yang sebagai penyimpan ekstrak enzim. Ekstar enzim yang akan diuji dikeluarkan dari freezer dan dibiarkan sebentar hingga mencair. Pengambilan ekstrak enzim dilakukan dengan cara mencelupkan kertas saring berukuran 6 x 15 mm ke ekstrak enzim atau dengan pipet mikro. Potongan kertas saring yang telah berisi ekstrak enzim diletakkan dengan

posisi tegak lurus ke celah irisan gel. Jarak antara celah 1-1.5 mm. Sebagai indikator adanya pergerakan maka celah irisan gel tersebut diberikan sedikit biru brom fenol.

#### **4.4 Proses Elektroforesis**

Gel yang telah siap kemudian diletakkan secara horizontal diatas kotak elektroforis yang telah berisi larutan penyangga elektroda. Proses ini dilakukan di dalam lemari pendingin dengan suhu 40C. Kedua sisi gel diberi spons yang telah dibasahi dengan larutan penyangga elektroda sebagai jembatan anatar larutan penyangga elektroda dengan gel. Setelah itu gel ditutup dengan plastik dan di atas gel tersebut diberi gel yang dingin. Proses elektrofororsis dijalankan dengan memberi daya listrik pada gel. Pemberian daya listrik disesuaikan dengan sampel yang akan digunakan, misalnya sebesar 50-70 A, 50-60 A atau 45-55 A selama kurang lebih 3 jam. Setelah terlihat bahwa biru brom fenol mencapai titik yang berjarak  $\pm 3$  cm dari ujung gel, maka proses elektrofororsis dihentikan. Bagian gel yang tidak terpakai dipotong, sedangkan potongan gel yang menjadi tempat migrasi enzim diiris tipis secara horizontal dengan menggunakan gergaji yang berkawat tipis. Gel diiris menjadi beberapa lembar gel yang kemudian setiap lembar gel yang diletakkan dalam wadah plastik, untuk selanjutnya diwarnai sesuai enzim yang akan dianalisis.

#### **5.4 Visualisasi sistem enzim**

Visualisasi sistem dilakukan dengan pewarna biokimia. Dengan komposisi yang telah ditentukan sebelumnya. Atau dapat pula dilakukan dengan pancaran sinar Ultraviolet.

#### **6.4 Metode Analisis**

Dalam hal ini cara menganalisa hasil pita dari elektroforosis tersebut sangat tergantung dari topik apa yang akan diteliti. Hasil visualisasi enzim berupa binti atau noda yang disebut pola pita (bandmorp). Macam pola pita dibedakan atas tipe pola pita yang terbentuk. Semua tipe pola pita yang terbentuk

diinterpretasikan sebagai lokus isozim dan alel yang kemudian dijadikan dasar dalam pengukuran parameter yang ada dalam suatu populasi.

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **5.1. Kesimpulan**

Elektroforesis merupakan proses Bergeraknya molekul bermuatan pada suatu medan listrik. Kecepatan molekul yang bergerak pada medan listrik tergantung pada muatan, bentuk dan ukuran. Dengan demikian elektroforesis dapat digunakan untuk separasi makromolekul (seperti protein dan asam nukleat). Posisi molekul yang terseparasi pada gel dapat dideteksi dengan pewarnaan atau autoradiografi, ataupun dilakukan kuantifikasi dengan densitometer.

Elektroforesis untuk makromolekul memerlukan matriks penyangga untuk mencegah terjadinya difusi karena timbulnya panas dari arus listrik yang digunakan. Gel poliakrilamid dan agarosa merupakan matriks penyangga yang banyak dipakai untuk separasi protein dan asam nukleat. Elektroforesis yang dibahas di bawah ini menggunakan matriks berupa gel poliakrilamida (PAGE = *polyacrilamida gel electrophoresis*) untuk separasi sampel protein. Banyak molekul biologi bermuatan listrik yang besarnya tergantung pada pH dan komposisi medium dimana molekul biologi tersebut terlarut. Bila berada dalam suatu medan listrik, molekul biologi yang bermuatan positif akan bermigrasi keelektroda negatif dan sebaliknya. Prinsip inilah yang dipakai dalam elektroforesis untuk memisahkan molekulmolekul berdasarkan muatannya.

Cara kerja menggunakan metode elektroforesis adalah:

- 1) Ekstraksi enzim,
- 2) Pembuatan gel,
- 3) Penempatan sampel,
- 4) Proses Elektroforesis,
- 5) Visualisasi sistem enzim dan
- 6) Metode Analisis.

## **5.2. Saran**

Saran pada praaktikum kali ini adalah sebaiknya praktikum dilakukan oleh praktikan sendiri dan dilakukan proses elektroforesis yang sebenarnya supaya praktikan lebih mengetahui cara menggunakan metode elektroforesis.

## DAFTAR PUSTAKA

- Pratiwi, R. 2001. *Mengenal Metode Elektroforesis*. Oseana. Volume XXVI. Nomor 1. *Balitbang Biologi Laut*, Puslitbang Osenologi LIPI, Jakarta
- Sudarmadji, S., 1996. *Teknik Analisa Biokimiawi*. Edisi Pertama. Liberty. Yogyakarta.
- Sumitro, S. B, Fatchiyah, Rahayu, Widayarti, dan Arumningtyas. 1996. *Kursus Teknik-Teknik Dasar Analisis Protein dan DNA*. Jurusan Biologi FMIPA Universitas Brawijaya. Malang
- Zubay, G. L. 1989. *Biochemistry 2nd Edition*. Mcmillan Publishing Corporation. New York

ACARA III  
POLYMERASE CHAIN  
REACTION

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar belakang**

Perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dewasa ini berkembang semakin pesat. Salah satu perkembangan ilmu pengetahuan dan teknologi yang sering diterapkan adalah bioteknologi. Bioteknologi merupakan pemanfaatan berbagai prinsip ilmiah dan rekayasa terhadap organisme, sistem, atau proses biologis untuk menghasilkan atau meningkatkan potensi organisme maupun menghasilkan produk dan jasa bagi kepentingan hidup manusia. Secara umum bioteknologi dikelompokkan menjadi dua, yaitu bioteknologi tradisional dan bioteknologi modern. Bioteknologi tradisional merupakan bioteknologi yang memanfaatkan mikroba, proses biokimia, dan proses genetik yang terjadi secara alami. Produk dari bioteknologi tradisional tersebut antara lain: tempe, oncom, yoghurt, dan keju. Bioteknologi tradisional ini terus mengalami perkembangan hingga ditemukannya struktur DNA yang diikuti dengan penemuan lainnya. Dengan ditemukannya struktur DNA dan berkembangnya ilmu pengetahuan tentang DNA, muncullah istilah bioteknologi modern. Bioteknologi modern merupakan bioteknologi yang didasarkan pada manipulasi atau rekayasa DNA. Bioteknologi yang didasarkan pada manipulasi DNA ini dilakukan dengan memodifikasi gen spesifik dan memindahkannya pada organisme yang berbeda, seperti bakteri, hewan, dan tumbuhan. Produk dari bioteknologi modern, misalnya insulin, kloning domba Dolly, antibodi monoklonal.

Dalam aplikasinya, bioteknologi menerapkan berbagai macam disiplin ilmu. Disiplin ilmu tersebut antara lain: mikrobiologi (tentang mikroba), biologi sel (tentang sel), genetika (tentang pewarisan sifat makhluk hidup), dan biokimia (tentang makhluk hidup dilihat dari aspek kimianya). Salah satu pokok bahasan yang penting untuk di pahami yaitu mengenai *Polymerase Chain Reaction* atau yang lebih dikenal dengan istilah PCR. PCR adalah suatu metode *in vitro* untuk menghasilkan sejumlah fragmen DNA spesifik dengan panjang dan jumlah skuens yang telah ditentukan dari jumlah kecil *template* kompleks.

PCR merupakan suatu teknik sangat kuat dan sangat sensitif dan dapat diaplikasikan dalam berbagai bidang seperti biologi molekuler, genetika populasi, dan analisis forensik. Teknik DNA rekombinan telah memberikan perubahan secara signifikan dalam ilmu genetika karena memungkinkan terjadinya isolasi dan karakteristik gen-gen, mempelajari secara rinci fungsi dan ekspresi selama proses perkembangan terjadi, sebagai respon terhadap lingkungan. Mengingat peningnya peranan teknik PCR ini terhadap perkembangan ilmu pengetahuan kedepan, maka dalam makalah ini akan dibahas tentang teknik PCR, prinsip-prinsip PCR, pertimbangan penggunaan PCR, dan manfaat PCR.

Polymerase Chain Reaction (PCR) merupakan alat yang dapat menunjang proses isoasi DNA. PCR merupakan teknik untuk mengamplifikasi DNA dalam jumlah kecil melalui proses enzimatik secara *in vitro*. Penggandaan yang dilakukan PCR bertujuan untuk memperbanyak jumlah DNA agar dalam isolasi dapat diperoleh DNA dalam jumlah besar. Biasanya mesin itu digunakan sebagai amplifikasi DNA mikroorganisme.

## **1.2 Tujuan**

1. Untuk mengetahui apa yang dimaksud dengan pengendalian ekspresi genetik
2. Untuk mengetahui apa yang dimaksud dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
3. Untuk mengetahui apa saja tahapan-tahapan *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
4. Untuk mengetahui alat dan bahan apa saja yang dibutuhkan dalam *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
5. Untuk mengetahui apakah komponen-komponen yang dibutuhkan dalam proses *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
6. Untuk mengetahui apa saja variasi dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR).
7. Untuk mengetahui apa saja manfaat dari *Polymerase Chain Reaction* (PCR).

### **1.1 Tempat dan tanggal praktikum**

Adapun praktikum ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi Fakultas Peternakan, Universitas Mataram, pada tanggal 30 November 2011.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

**Reaksi berantai polimerase** atau lebih umum dikenal sebagai **PCR** (kependekan dari istilah bahasa Inggris *polymerase chain reaction*) merupakan suatu teknik atau metode perbanyakan (replikasi) DNA secara enzimatik tanpa menggunakan organisme. Dengan teknik ini, DNA dapat dihasilkan dalam jumlah besar dengan waktu relatif singkat sehingga memudahkan berbagai teknik lain yang menggunakan DNA. Teknik ini dirintis oleh Kary Mullis pada tahun 1983 dan ia memperoleh hadiah Nobel pada tahun 1994 berkat temuannya tersebut. Penerapan PCR banyak dilakukan di bidang biokimia dan biologi molekular karena relatif murah dan hanya memerlukan jumlah sampel yang kecil. (Anonim. 2011)

Secara prinsip, PCR merupakan proses yang diulang-ulang antara 20–30 kali siklus. Setiap siklus terdiri atas tiga tahap. Berikut adalah tiga tahap bekerjanya PCR dalam satu siklus:

1. Tahap **peleburan** (*melting*) atau **denaturasi**. Pada tahap ini (berlangsung pada suhu tinggi, 94–96 °C) ikatan hidrogen DNA terputus (denaturasi) dan DNA menjadi berberkas tunggal. Biasanya pada tahap awal PCR tahap ini dilakukan agak lama (sampai 5 menit) untuk memastikan semua berkas DNA terpisah. Pemisahan ini menyebabkan DNA tidak stabil dan siap menjadi templat ("patokan") bagi primer. Durasi tahap ini 1–2 menit.
2. Tahap **penempelan** atau *annealing*. Primer menempel pada bagian DNA templat yang komplementer urutan basanya. Ini dilakukan pada suhu antara 45–60 °C. Penempelan ini bersifat spesifik. Suhu yang tidak tepat menyebabkan tidak terjadinya penempelan atau primer menempel di sembarang tempat. Durasi tahap ini 1–2 menit.
3. Tahap **pemanjangan** atau **elongasi**. Suhu untuk proses ini tergantung dari jenis DNA polimerase (ditunjukkan oleh P pada gambar) yang dipakai.

Dengan Taq-polimerase, proses ini biasanya dilakukan pada suhu 76 °C.  
Durasi tahap ini biasanya 1 menit.

Lepas tahap 3, siklus diulang kembali mulai tahap 1. Akibat denaturasi dan renaturasi, beberapa berkas baru (berwarna hijau) menjadi templat bagi primer lain. Akhirnya terdapat berkas DNA yang panjangnya dibatasi oleh primer yang dipakai. Jumlah DNA yang dihasilkan berlimpah karena penambahan terjadi secara eksponensial.(Anonim. 2011)

Rantai polimerase reaksi (PCR) adalah teknik ilmiah dalam biologi molekular untuk memperkuat tunggal atau beberapa salinan sepotong DNA di beberapa kali lipat, menghasilkan ribuan sampai jutaan salinan dari urutan DNA tertentu.

Dikembangkan pada 1983 oleh Kary Mullis, [1] PCR sekarang teknik umum dan sering digunakan di laboratorium sangat diperlukan penelitian medis dan biologi untuk berbagai aplikasi [2] [3]. DNA ini termasuk kloning untuk sekuensing, berbasis DNA filogeni, atau fungsional analisis gen, diagnosis penyakit keturunan, identifikasi sidik jari genetik (digunakan dalam ilmu forensik dan pengujian paternitas), dan deteksi dan diagnosis penyakit menular. Pada tahun 1993, Mullis dianugerahi Penghargaan Nobel dalam Kimia bersama dengan Michael Smith untuk karyanya pada PCR. [4]

Metode ini bergantung pada siklus termal, yang terdiri dari siklus pemanasan dan pendinginan berulang reaksi untuk melelehkan DNA dan replikasi DNA enzimatik. Primer (fragmen DNA pendek) yang mengandung urutan komplementer ke wilayah target bersama dengan DNA polimerase (setelah mana metode bernama) merupakan komponen kunci untuk mengaktifkan amplifikasi selektif dan diulang. Sebagai PCR berlangsung, DNA yang dihasilkan itu sendiri digunakan sebagai template untuk replikasi, pengaturan dalam gerak reaksi berantai di mana template DNA secara eksponensial diperkuat. PCR dapat

ekstensif dimodifikasi untuk melakukan berbagai macam manipulasi genetik.

Hampir semua aplikasi PCR mempekerjakan polimerase DNA yang stabil panas, seperti polimerase Taq, suatu enzim yang awalnya diisolasi dari bakteri *Thermus aquaticus*. Ini enzimatis DNA polimerase merakit untai DNA baru dari DNA bangunan-blok, nukleotida, dengan menggunakan DNA beruntai tunggal oligonukleotida sebagai template dan DNA (juga disebut DNA primer), yang dibutuhkan untuk inisiasi sintesis DNA. Sebagian besar metode PCR menggunakan siklus termal, yaitu, bergantian pemanasan dan pendinginan sampel PCR untuk serangkaian langkah didefinisikan suhu. Langkah-langkah siklus termal yang diperlukan pertama yang secara fisik memisahkan dua helai dalam heliks ganda DNA pada suhu tinggi dalam proses yang disebut DNA mencair. Pada suhu yang lebih rendah, masing-masing untai ini kemudian digunakan sebagai template dalam sintesis DNA oleh polimerase DNA untuk selektif memperkuat DNA target. Selektivitas hasil PCR dari penggunaan primer yang komplementer ke wilayah yang ditargetkan untuk amplifikasi DNA di bawah kondisi spesifik siklus termal. (Anonim. 2011)

## **BAB III**

### **MATERI DAN METODE**

#### **3.1 Alat yang digunakan**

- Tabung PCR
- Mesin PCR
- Pipet tetes

#### **3.2 Bahan yang digunakan**

1. Air steril

#### **3.2. Metode**

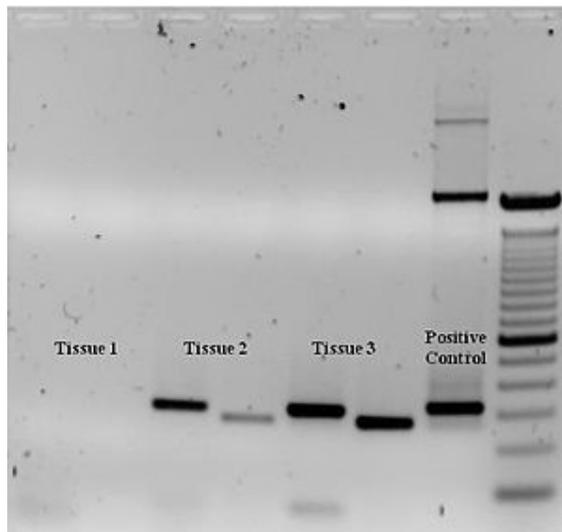
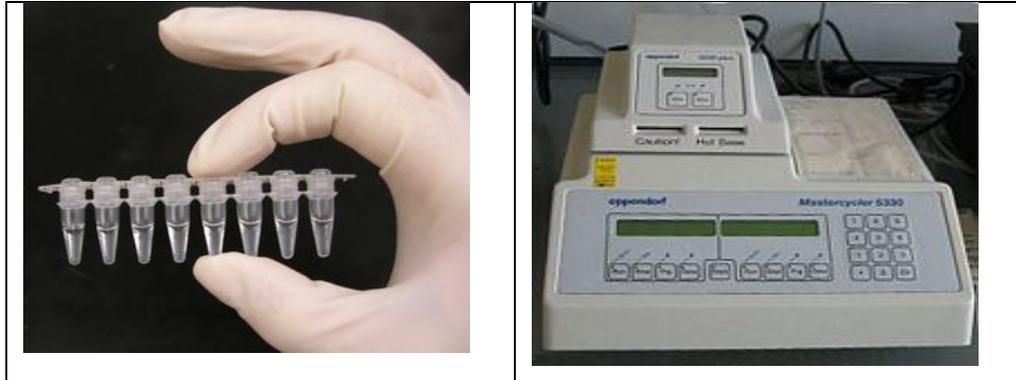
Adapun cara kerja yang digunakan dalam praktikum ini yaitu:

1. Mengambil SW 6,7  $\mu$ l
2. Masukkan dalam tabung cup.
3. Tambahkan buffer 1 ml
4. Tambahkan dengan DNTP mix 0,2  $\mu$ l
5. Ditambahkan primer forward 0,4  $\mu$ l
6. Tambahkan dengan primer reverse 0,4  $\mu$ l
7. Tambahkan dengan template ( DNA ) 0,1  $\mu$ l
8. Kemudian tambahkan dengan enzim takfolimerase
9. Campur dengan cara di mix hingga menjadi satu.
10. Masukkan dalam mesin fisjar
11. Kemudian di elektroforesis.
12. Catat perubahan yang terjadi.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil



#### 4.2 Pembahasan

Langkah denaturasi: Langkah ini merupakan acara rutin bersepeda pertama dan terdiri dari pemanasan reaksi untuk 94-98 ° C selama 20-30 detik. Hal ini menyebabkan leleh DNA dari template DNA oleh mengganggu ikatan hidrogen antara basa komplementer, menghasilkan beruntai tunggal molekul DNA.

Annealing langkah: Suhu reaksi diturunkan sampai 50-65 ° C selama 20-40 detik memungkinkan anil primer ke template DNA untai tunggal. Biasanya suhu anil adalah sekitar 3-5 derajat Celcius di bawah T<sub>m</sub> dari primer yang digunakan. Stabil DNA-DNA ikatan hidrogen hanya terbentuk ketika urutan primer sangat erat sesuai urutan template. Polimerase mengikat hibrida primer-template dan mulai sintesis DNA.

Perpanjangan / elongasi langkah: Suhu pada langkah ini tergantung pada polimerase DNA yang digunakan; polimerase Taq memiliki suhu aktivitas optimum pada 75-80 ° C, [10] [11] dan umumnya suhu 72 ° C digunakan dengan enzim ini . Pada langkah ini mensintesis DNA polimerase untai DNA baru melengkapi untai DNA cetakan dengan menambahkan dNTP yang melengkapi template dalam 5 'ke 3' arah, kondensasi gugus 5'-fosfat dari dNTP dengan hidroksil 3'- kelompok di akhir untai (memperpanjang) DNA baru lahir. Waktu perpanjangan tergantung baik pada DNA polimerase yang digunakan dan pada panjang fragmen DNA yang akan diamplifikasi. Sebagai aturan-of-thumb, pada suhu optimal, DNA polimerase akan mempolimerisasi seribu basis per menit. Dalam kondisi optimal, yaitu, jika tidak ada keterbatasan karena membatasi substrat atau reagen, di setiap langkah ekstensi, jumlah target DNA dua kali lipat, yang mengarah ke eksponensial (geometris) amplifikasi fragmen DNA spesifik.

Elongasi akhir: Ini langkah tunggal kadang-kadang dilakukan pada suhu 70-74 ° C selama 5-15 menit setelah siklus PCR terakhir untuk memastikan bahwa setiap DNA untai tunggal yang tersisa sepenuhnya diperpanjang.

Akhir terus: Ini langkah pada 4-15 ° C untuk waktu yang terbatas dapat digunakan untuk penyimpanan jangka pendek reaksi.

Gambar 3: etidium bromida bernoda PCR produk setelah elektroforesis gel. Dua set primer digunakan untuk memperkuat urutan target dari tiga sampel jaringan

yang berbeda. Tidak ada amplifikasi hadir dalam sampel # 1; DNA sampel band di # 2 dan # 3 menunjukkan keberhasilan amplifikasi urutan target. Gel juga menunjukkan kontrol positif, dan sebuah tangga DNA yang mengandung fragmen DNA panjang yang ditetapkan untuk ukuran band-band di PCR eksperimental.

Untuk memeriksa apakah PCR dihasilkan fragmen DNA diantisipasi (juga kadang-kadang disebut sebagai amplimer atau amplikon), elektroforesis gel agarosa digunakan untuk pemisahan ukuran produk PCR. Ukuran (s) dari produk PCR ditentukan oleh perbandingan dengan sebuah tangga DNA (penanda berat molekul), yang berisi fragmen DNA ukuran yang dikenal, berjalan di samping gel produk PCR

## **BAB V**

### **PENUTUP**

#### **4.1 Kesimpulan**

PCR memungkinkan adanya perbanyakan DNA antara dua primer hanya di dalam tabung reaksi tanpa perlu memasukan ke dalam sel (*in vivo*). PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing terdiri dari tiga tahap berurutan, yaitu pemisahan (denaturasi) rantai DNA templat, penempelan (*annealing*) pasangan primer DNA target dan pemanjangan primer atau reaksi polimerisasi yang dikatalisis oleh DNA polimerase. Hasil elektroforesis menunjukkan bahwa hanya 8 sumur yang menunjukkan adanya garis. Faktor keberhasilan disebabkan oleh enzim, primer dan komponen dNTP untuk reaksi polimerisasi serta buffer yang mengandung  $MgCl_2$ .

#### **4.2 Saran**

## DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 2011. [http://id.wikipedia.org/wiki/Reaksi\\_berantai\\_polimerase](http://id.wikipedia.org/wiki/Reaksi_berantai_polimerase). Di unduh Tgl 12 2011
- Anonim. 2011. [http://id.wikipedia.org/wiki/Reaksi\\_berantai\\_polimerase/prinsip](http://id.wikipedia.org/wiki/Reaksi_berantai_polimerase/prinsip). Di unduh Tgl 12 2011
- Anonim. 2011. [http://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase\\_chain\\_reaction](http://en.wikipedia.org/wiki/Polymerase_chain_reaction). Di unduh Tgl 12 Desember 2011