

## DAFTAR ISI

|   | Halaman |
|---|---------|
| PENGESAHAN SKRIPSI .....  | ii      |
| HALAMAN PERNYATAAN .....  | iii     |
| HALAMAN PERSEMBAHAN .....   | v       |
| KATA PENGANTAR .....  | vi      |
| DAFTAR ISI.....   | viii    |
| DAFTAR GAMBAR .....   | x       |
| DAFTAR TABEL.....   | xi      |
| DAFTAR LAMPIRAN.....  | xii     |
| DAFTAR SINGKATAN .....  | xiii    |
| INTISARI .....  | xiv     |
| ABSTRACT.....   | xiv     |
| BAB I PENDAHULUAN.....  | 1       |
| A. Latar Belakang .....   | 1       |
| B. Rumusan Masalah .....  | 5       |
| C. Tujuan Penelitian.....   | 5       |
| D. Manfaat Penelitian .....   | 6       |
| E. Tinjauan Pustaka .....   | 6       |
| 1. Biokonjugasi.....  | 6       |
| 2. Na-alginat .....   | 8       |
| 3. Antibodi anti Ep-CAM.....  | 10      |
| 4. Senyawa 1-etil-3(metilaminopropil)karbodiimida (EDAC) .....          | 12      |
| 5. <i>Bovine serum albumin</i> (BSA) .....                              | 14      |
| 6. Pemisahan antibodi sisa dengan sentrifugasi .....                    | 16      |
| 7. Penetapan protein menggunakan <i>BCA assay</i> .....                 | 17      |
| 8. Elektroforesis <i>native PAGE</i> .....                              | 18      |
| 9. Pewarnaan gel poliakrilamid menggunakan <i>silver staining</i> ..... | 20      |
| F. Landasan Teori .....   | 21      |
| G. Hipotesis.....   | 22      |
| BAB II METODOLOGI PENELITIAN.....                                       | 23      |
| A. Definisi Operasional Variabel.....                                   | 23      |

|  |                                     |
|--|-------------------------------------|
| 1. Variabel bebas .....  | 23                                  |
| 2. Variabel tergantung .....   | 23                                  |
| 3. Variabel terkendali .....   | 23                                  |
| B. Alat dan Bahan .....  | <b>Error! Bookmark not defined.</b> |
| C. Prosedur Penelitian.....  | 25                                  |
| 1. Penyiapan reagen.....   | 25                                  |
| 2. Pembuatan kurva baku menggunakan protein BSA.....   | 26                                  |
| 3. Reaksi biokonjugasi Na-alginat dengan varian perbandingan berat antibodi anti Ep-CAM .....  | 27                                  |
| 4. Reaksi biokonjugasi Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM menggunakan varian pH reaksi. ....   | 29                                  |
| 5. Analisis reaksi biokonjugasi.....   | 29                                  |
| D. Analisis Data .....   | 33                                  |
| E. Skema Penelitian .....  | 34                                  |
| <b>BAB III HASIL DAN PEMBAHASAN.....</b>   | <b>35</b>                           |
| A. Pengaruh Variasi Perbandingan Berat Pereaksi terhadap Reaksi Biokonjugasi Na-alginat dengan Antibodi Anti Ep-CAM dikatalisis EDAC ..... | 35                                  |
| 1. Pembuatan kurva baku BSA untuk pembacaan sampel variasi perbandingan berat pereaksi .....   | 35                                  |
| 2. Biokonjugasi Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM dikatalisis EDAC dalam varian perbandingan berat.....                               | 38                                  |
| 3. Analisis antibodi sisa reaksi biokonjugasi menggunakan elektroforesis <i>native PAGE</i> .....  | 40                                  |
| 4. Analisis antibodi sisa reaksi biokonjugasi menggunakan <i>BCA assay</i> ....  | 44                                  |
| B. Pengaruh pH Reaksi pada Biokonjugasi Na-Alginat dengan Antibodi Anti Ep-CAM dikatalisis EDAC.....                                       | 46                                  |
| 1. Pembuatan kurva baku BSA untuk pembacaan sampel variasi pH reaksi.....  | 49                                  |
| 2. Analisis antibodi sisa reaksi biokonjugasi menggunakan elektroforesis <i>native PAGE</i> .....  | 49                                  |
| 3. Analisis antibodi sisa reaksi biokonjugasi menggunakan <i>BCA assay</i> ....  | 52                                  |
| <b>BAB IV KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>   | <b>56</b>                           |
| A. Kesimpulan.....   | 56                                  |
| B. Saran.....  | 56                                  |

## DAFTAR GAMBAR

|   | Halaman |
|---|---------|
| Gambar 1. Pengaruh kondisi pH pada struktur molekul .....   | 7       |
| Gambar 2. Struktur kimia Na-alginat.....  | 9       |
| Gambar 3. Visualisasi antibodi anti Ep-CAM .....  | 11      |
| Gambar 4. Struktur kimia 1-etil-3-(dimetilaminopropil) karbodiimida (EDAC) .....  | 13      |
| Gambar 5 Reaksi <i>crosslinking</i> garam EDAC.....   | 14      |
| Gambar 6. Reaksi reduksi $\text{Cu}^{2+}$ oleh protein pada <i>BCA assay</i> .....  | 17      |
| Gambar 7. Skema alat elektroforesis .....   | 18      |
| Gambar 8. Kurva baku <i>bovine serum albumin</i> (BSA) untuk pembacaan sampel variasi perbandingan berat .....  | 37      |
| Gambar 9. Gel elektroforesis Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM varian perbandingan berat .....   | 40      |
| Gambar 10. Penurunan antibodi anti Ep-CAM sisa dari reaksi biokonjugasi Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM varian perbandingan berat menggunakan <i>software</i> Image-J..... | 43      |
| Gambar 11. Kurva baku BSA untuk pembacaan sampel variasi pH reaksi.....   | 49      |
| Gambar 12. Gel elektroforesis <i>native PAGE</i> dengan <i>silver staining</i> .....  | 50      |
| Gambar 13. Penurunan intensitas pita antibodi anti Ep-CAM sisa menggunakan <i>software</i> Image-J.....   | 51      |

## DAFTAR TABEL

|   | Halaman |
|---|---------|
| Tabel I. Katalis reaksi berbagai gugus fungsional.....  | 12      |
| Tabel II. Perbandingan berat dan volume pengambilan Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM.....                         | 28      |
| Tabel III. Volume pengambilan pereaksi reaksi biokonjugasi Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM dengan varian pH..... | 29      |
| Tabel IV. Persamaan kurva baku untuk sampel variasi perbandingan berat.....   | 36      |
| Tabel V. Perbandingan berat Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM .....  | 38      |
| Tabel VI. Efisiensi biokonjugasi Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM varian perbandingan berat .....                 | 45      |
| Tabel VII. Persamaan kurva baku BSA untuk sampel variasi pH reaksi .....  | 48      |
| Tabel VIII. Efisiensi biokonjugasi Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM varian pH reaksi .....                        | 53      |

## DAFTAR LAMPIRAN

|  | Halaman |
|--|---------|
| Lampiran 1. Perbandingan berat dan volume reaksi biokonjugasi Na-alginat dengan antibodi anti Ep-CAM ..... | 61      |
| Lampiran 2. Formula gel elektroforesis dan <i>silver staining</i> .....                                    | 62      |
| Lampiran 3. Pembacaan intensitas pita gel elektroforesis <i>native</i> PAGE .....                          | 63      |
| Lampiran 4. Pembacaan kurva kaku .....   | 65      |
| Lampiran 5. Pembacaan <i>optical density</i> dari antibodi sisa .....                                      | 67      |
| Lampiran 6. Gambar alat.....   | 69      |

## DAFTAR SINGKATAN

|        |   |
|--------|---|
| APS    | : Ammonium Per-Sulfat                       |
| A      | : Ampere                                    |
| BCA    | : <i>Bicinchoninic Acid</i>                 |
| BSA    | : <i>Bovine Serum Albumin</i>               |
| C      | : Celcius                                   |
| EDAC   | : 1-etil-3(dimetilaminopropil) karbodiimida |
| Ep-CAM | : <i>Epithelial Cell Adhesion Molecule</i>  |
| MES    | : <i>Morpholinoethanesulfonic acid</i>      |
| SDS    | : Sodium Dodesil Sulfat                     |
| PAGE   | : <i>Poliacrylamide Gel Electrophoresis</i> |
| pH     | : Derajat Keasaman                          |
| pI     | : Potensial Ionisasi                        |
| kDa    | : Kilodalton                                |
| nm     | : Nanometer                                 |
| M      | : Molar                                     |
| mg     | : Miligram                                  |
| mL     | : Mililiter                                 |
| TEMED  | : Tetramethylenediamine                     |
| µg     | : Mikrogram                                 |
| µL     | : Mikroliter                                |
| V      | : Volt                                      |
| x g    | : <i>Times Gravitational Force</i>          |