

BAB 5**HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS****Hasil Penelitian BioMolekuler****5.1 Hasil Penelitian Dekalsifikasi**

Tahap pertama penelitian berkonsep biomolekuler yaitu menemukan suatu metode untuk isolasi DNA tulang yang cepat, mudah dan murah. Hasil penelitian terhadap proses dekalsifikasi tulang yang merupakan tahap isolasi DNA tulang yang paling penting menunjukkan bahwa kelompok tulang yang diberi perlakuan: dijadikan bubukan dan didekalsifikasi dalam larutan EDTA 0,5 M, pH=7,5 pada suhu 56°C, disertai sonifikasi (perlakuan 8) akan memperpendek waktu dekalsifikasi dari 131 jam (perlakuan sesuai protokol menurut Hochmeister, 1991) menjadi 4 jam (lihat tabel 5.1)

Tabel 5.1. Hasil dekalsifikasi tulang

Descriptives

Kelompok Perlakuan Sampel	Jumlah Sampel N	Waktu deks. (jam) Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
EDTA	8	131,0000	6,1875	2,1876	125,8271	136,1729
EDTA+Sonik	8	72,8750	2,3566	0,8332	70,9048	74,8452
EDTA+56C	8	82,3750	3,1595	1,1170	79,7336	85,0164
EDTA+56C+Sonik	8	50,7500	1,5811	0,5590	49,4281	52,0719
Bubuk+EDTA	8	31,6250	1,7678	0,6250	30,1471	33,1029
Bubuk+EDTA+Sonik	8	11,2500	0,8864	0,3134	10,5089	11,9911
Bubuk+EDTA+56C	8	18,8750	1,7269	0,6105	17,4313	20,3187
Bubuk+EDTA+56C+Sonik	8	4,2500	0,8864	0,3134	3,5089	4,9911
Total	64	50,3750	40,7686	5,0961	40,1913	60,5587

Hasil uji anova terhadap 8 jenis perlakuan dekalsifikasi (dari tabel 5.1) menunjukkan perbedaan bermakna sebesar 0,000, $F = 1861,83$ (lihat tabel 5.2)

Tabel 5.2 : Hasil analisis anova perbandingan 8 kelompok perlakuan dekalsifikasi (lihat hal. 60)

ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Kelompok Perlakuan	Between Groups	104263,0	7	14894,714	1861,839
	Within Groups	448,000	56	8,000	
	Total	104711,0	63		

Tulang hasil dekalsifikasi dengan perlakuan nomor 8, kemudian diekstraksi DNA nya dengan menggunakan reagen Ready AMP (Promega) dengan hasil lihat tabel 5.3.

Tabel 5.3 : Hasil Kadar DNA Tulang Diekstraksi dengan Ready AMP

No sampel	Isolasi dengan Ready AMP
	Kadar DNA ng/uL
1	8
2	9
3	10
4	7
5	8
6	9
7	6
8	5

Setelah DNA diisolasi kemudian dilakukan amplifikasi dengan menggunakan pasangan primer indrasex1 dan indrasex2, dengan hasil seperti tabel 5.4.

Tabel 5.4 : Hasil PCR sampel tulang dengan pasangan Primer indrasex1 dan indrasex2 dengan pengecatan *silver staining* pada agarosa 1.3%, selama 1 jam

Sampel No	Jenis Kelamin	Pita DNA Hasil PCR	Kesimpulan
1	laki	977 bp dan 788 bp	+
2	perempuan	977 bp	+
3	perempuan	977 bp	+
4	laki	977 bp dan 788 bp	+
5	perempuan	977 bp	+
6	laki	977 bp dan 788 bp	+
7	laki	977 bp dan 788 bp	+
8	laki	977 bp dan 788 bp	+
9	perempuan	977 bp	+
10	laki	977 bp dan 788 bp	+

Tabel 5.5 Pengujian Chi-Square pada Hasil PCR penentuan jenis kelamin
Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig (2-sided)	Exact Sig (1-sided)
Pearson Chi-Square	10.000 ^b	1	.002		
Continuity Correction ^a	6.267	1	.012		
Likelihood Ratio	13.460	1	.000		
Fisher's Exact Test				.005	.005
Linear-by-Linear Association	9.000	1	.003		
N of Valid Cases	10				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 4 cells (100.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 1.60.

5.2. Hasil Penelitian Silver Staining

Untuk membuktikan bahwa ada hubungan antara perlakuan/ drying agarosa dan pendinginan larutan developer pada proses silver staining dengan kualitas hasil visualisasi DNA pada gel agarosa biasa, maka dilakukan uji Chi Square (lihat tabel 5.6 dan 5.7)

Tabel 5.6 : Hasil perlakuan pengeringan dan pendinginan gel agarosa terhadap gambaran pita DNA pada silver staining

SAMPEL NO	PERLAKUAN	HASIL
1	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
2	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
3	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
4	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
5	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
6	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
7	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
8	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
9	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3
10	B + P	1
	B + D	2
	K + P	1
	K + D	3

Keterangan: Hasil

1. Hasil jelek : pita DNA tidak tampak
 2. Pita DNA tampak tetapi background kotor
 3. Hasil baik, pita DNA jelas , background berwarna jernih kekuningan
- B - Agarosa tidak di *drying*; K - Agarosa di *drying* dengan glycerol ; P - *Developing* pada suhu kamar
D - *Developing* pada suhu 8-10°C

5.3 Hasil uji Chi-Square *silver staining*

Hasil uji Chi-Square membuktikan bahwa ada hubungan antara perlakuan/drying agarosa dan pendinginan larutan developer pada proses silver staining dengan kualitas hasil visualisasi DNA dengan $p=0.000$

Tabel 5.7 Hasil uji Chi-Square 4 macam perlakuan terhadap hasil kualitas silver staining

			VAR00002			Total
			JELEK	KOTOR	BAIK	
B+P	1.00	Count	10			10
		% within VAR00001	100,0%			100,0%
		% within VAR00002	50,0%			25,0%
B+D	2.00	Count		10		10
		% within VAR00001		100,0%		100,0%
		% within VAR00002		100,0%		25,0%
K+P	3.00	Count	10			10
		% within VAR00001	100,0%			100,0%
		% within VAR00002	50,0%			25,0%
K+D	4.00	Count			10	10
		% within VAR00001			100,0%	100,0%
		% within VAR00002			100,0%	25,0%
Total		Count	20	10	10	40
		% within VAR00001	50,0%	25,0%	25,0%	100,0%
		% within VAR00002	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%

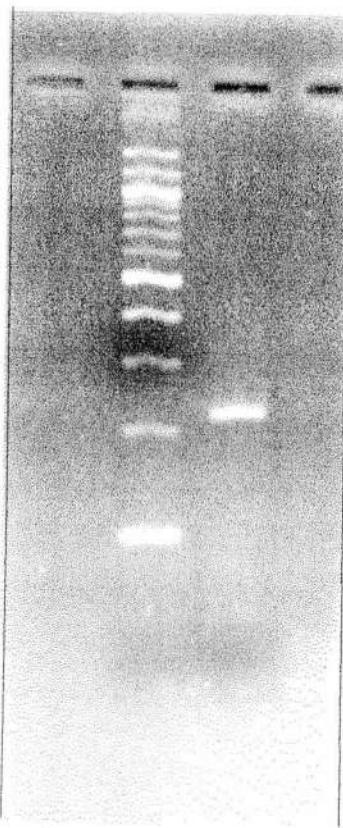
Ket.perlakuan lih. hal. 75

Chi-Square Tests

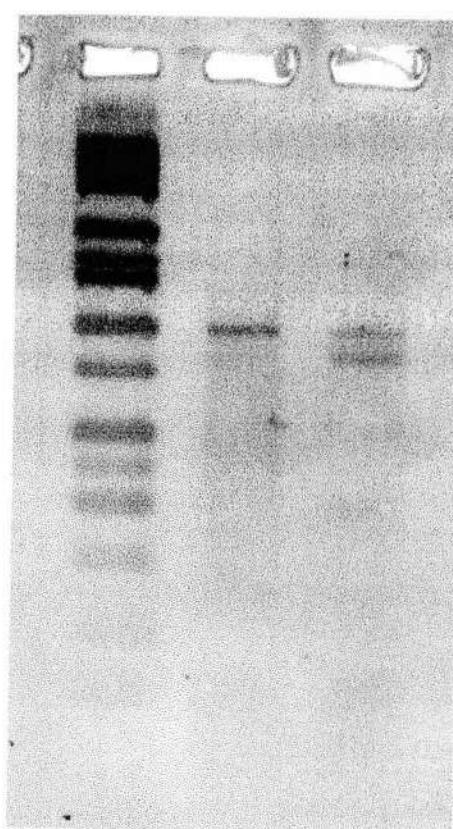
	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)
Pearson Chi-Square	80,000 ^a	6	0,000
Likelihood Ratio	83,178	6	0,000
Linear-by-Linear Association	17,727	1	0,000
N of Valid Cases	40		

5.4 Hasil PCR dengan dua macam ‘Primer’

Primer buatan ‘PROMEGA’ menghasilkan dua band untuk jenis kelamin laki laki dengan 212 dan 218 bp sedangkan pada perempuan menghasilkan satu band dengan 212 bp. Sedangkan primer pada penelitian ini menghasilkan dua band pada laki laki dengan 977 dan 788 bp dan satu band pada perempuan dengan 977 bp .



Gb5.1 Pita hasil PCR dengan primer PROMEGA.
Sulit, membedakan 212 bp - 218bp,



Gb.5.2 Pita hasil PCR dengan Primer pada penelitian ini, Lane 1 -DNA Ladder 100bp; lane 2, perempuan - 977 bp; lane 3 laki laki - 2 band , 977 dan788 bp.

Untuk testing efektifitas sistem seksing menggunakan tengkorak bagian belakang kepala maka dirancang program komputer dengan fungsi diskriminan berdasarkan hasil analisis Fourier kelompok sampel eksperimental, yang dibuat dengan rumus :

$$Y = 0,1876 \times N1 - 0,4844 \times N3 + 1,642 \times N3 + 1,3648 \times N6 - 0,4249 \times N7 + 1,368 \times N11 - 1,973 \times N16 - 15,688$$

Tabel 5.9 Hasil Nilai Uji Coba Fungsi Diskriminan pada grup kontrol kelompok belakang kepala

Jenis kelamin	Jumlah sampel	Hasil testing	
		laki	perempuan
laki	40	30	10
perempuan	40	12	28

Dari 40 tengkorak laki-laki maka 10 dinilai sebagai perempuan , dengan demikian tingkat prediksi untuk laki-laki = 75%. Sedangkan untuk 40 tengkorak perempuan 17 dinilai laki-laki sehingga tingkat prediksi untuk perempuan = 70%.

Untuk melihat variabel apa saja yang dapat membedakan antara kelompok laki-laki dengan kelompok perempuan bentuk dahi dilakukan uji diskriminan terhadap nilai harmonik tersebut yang menunjukkan akurasi dalam penentuan jenis kelamin dari sampel ini adalah untuk laki-laki dan untuk perempuan (**Tabel 5.10**).

Tabel 5.10 Analisis Fourier bentuk dahi

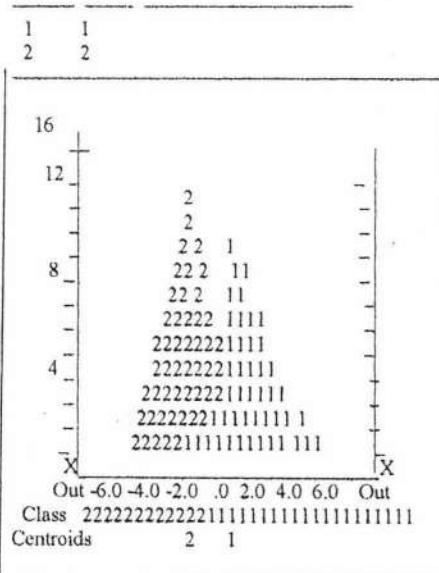
Unstandardized Canonical Discriminant Function Coefficients

	FUNC 1
N2	-.2352385
N3	.2362997
N4	1.009066
(constant)	-4.647754

Canonical Discriminant Functions evaluated at Group Means (Group Centroids)

Group	FUNC 1
1	1.38742
2	-1.30248

Symbol Group Label



Actual Group	Cases	Predicted 1	Predicted 2	Group Membership
--------------	-------	-------------	-------------	------------------

Group	1	46	41	5
			89.1%	10.9%

Group	2	49	3	46
			6.1%	93.9%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 91.58%

Untuk kelompok sampel dahi dilakukan uji penentuan jenis kelamin menggunakan rumus sebagai berikut :

$$Y = -0,2352 \times N2 + 0,2362 \times N3 + 1,009 \times N4 - 4,6477$$

Hasil uji coba penentuan jenis kelamin dapat dilihat pada tabel 5.9

Tabel 5.11 : Hasil Nilai Uji Coba Fungsi Diskriminan pada grup**kontrol kelompok dahi**

Jenis kelamin	Jumlah sampel	Hasil testing	
		laki	perempuan
laki	40	35	5
perempuan	40	3	37

Untuk melihat variabel apa saja yang dapat membedakan antara kelompok laki-laki dengan kelompok perempuan bentuk neurokranium dilakukan uji diskriminan terhadap nilai koefisien harmonik tersebut yang menunjukkan akurasi dalam penentuan jenis kelamin dari sampel ini adalah untuk laki-laki dan untuk perempuan (tabel 5.12) Analisis elliptical Fourier bentuk neurokranium menghasilkan nilai koefisien harmonik (Tabel 5.12)

Tabel 5.12 Analisis elliptic Fourier bentuk neurokranium

TRANSLATE FROM 'URANIUM-DBS'.

DSCCRIMINANT / GROUPS SIZE 0.2 / VARIABLES N1 TO N80 / METHOD MAHAL / STATISTICS 6 10 11 12 13 15

Summary Table

Unstandardized Canonical Discriminant Function Coefficients	
	FUNC 1
N4	83.50577
N10	201.9939
N11	76.92112
N13	118.3721
N14	-181.9347
N17	-430.2861
N18	-203.2189
N19	99.01365
N20	276.3003
N34	699.6922
N39	-446.1911
N47	-657.1247
N49	-382.5926
N50	-1006.333
N55	-485.9524
N62	-1485.651
N68	478.5368
N76	769.9394
(constant)	54.75253

Classification Results -		No. of Cases	Predicted		Group Membership
Actual Group			1	2	
Group	1	33	31	2	
			93.9%		6.1%
Group	2	30	2	28	
			6.7%		93.3%

Dari 40 tengkorak laki-laki 5 dinilai sebagai perempuan , dengan demikian tingkat prediksi untuk laki-laki = 87,5%;. Sedangkan untuk 40 tengkorak perempuan 3 dinilai laki-laki sehingga tingkat prediksi untuk perempuan = 92,5%

Dari **Tabel 5.12** rumus diskriminan untuk neurocranium ialah: :

$$\begin{aligned}
 Y = & 83,50*N4 + 201,99*N10 + 76,92*N11 + 118,37*N13 - 181,93*N14 - \\
 & 430,28N17 - 203,21N18 + 99,01*N19 + 276,300*N20 + 69969*N34 - 466,19*N39 \\
 & - 657,12*N47 - 382,59*N49 - 1006,33*N50 - 485,95*N55 - 1485,65*N62 \\
 & +478,5368*N68 + 769,94*N76 + 54,752
 \end{aligned}$$

Tabel 5.13: Hasil Nilai Uji Fungsi Diskriminan pada grup kontrol kelompok neurocranium

Jenis kelamin	Jumlah sampel	Hasil testing	
		laki	perempuan
laki	30	27	3
perempuan	30	4	26

Dari 30 tengkorak laki-laki 3 dinilai sebagai perempuan , jadi tingkat prediksi untuk laki-laki = 90%;. Sedangkan untuk 30 tengkorak perempuan 4 dinilai sebagai laki-laki sehingga tingkat prediksi untuk perempuan =86,6%

Untuk melihat variabel apa saja yang dapat membedakan antara kelompok laki-laki dengan kelompok perempuan bentuk mandibula dilakukan uji diskriminan terhadap nilai koefisien harmonik tersebut yang menunjukkan akurasi dalam penentuan jenis kelamin dari sampel ini adalah 100% untuk laki-laki dan 100% untuk perempuan (**Tabel 5.14**)

Analisis elliptical Fourier bentuk mandibula menghasilkan nilai koefisien harmonik (**Tabel 5.14**)

Tabel 5.14 Analisis elliptic Fourier bentuk mandibula

Classification Results -			
Actual Group	No. of Cases	Predicted Group Membership	
		1	2
Group 1	33	33 100.0%	0 .0%
Group 2	24	0 .0%	24 100.0%

Percent of "grouped" cases correctly classified: 100.00%

Dari tabel 5.14: rumus diskriminan untuk mandibula yaitu :

$$\begin{aligned}
 Y = & -312,88 \times N21 + 327,86 \times N28 - 409,63 \times N30 - 279,63 \times N31 + 287,52 \times N34 \\
 & + 201,58 \times N37 - 495,44 \times N38 + 193,36 \times N39 + 142,07 \times N40 - 152,50 \times N44 - \\
 & 325,13 \times N46 - 277,23 \times N49 - 1039,45 \times N50 - 430,69 \times N51 - 698,65 \times N52 + \\
 & 600,57 \times N53 + 411,96 \times N58 + 511,45 \times N59 + 275,98 \times N60 + 1080,58 \times N68 - \\
 & 1472,45 \times N69 + 400,49 \times N70 + 724,89 \times N76 - 938,38 \times N77 + 618,51 \times N79 - \\
 & 943,52 \times N80 - 14,697
 \end{aligned}$$

Tabel 5.15 : Hasil nilai uji diskriminan pada grup kontrol kelompok mandibula

Jenis kelamin	Jumlah sampel	Hasil testing	
		laki	perempuan
laki	25	24	1
perempuan	26	2	24

Dari 25 tengkorak laki-laki, 1 dinilai sebagai perempuan. Jadi, tingkat prediksi untuk laki-laki= 96%; sedangkan untuk 26 tengkorak perempuan, 2 dinilai sebagai laki-laki sehingga tingkat prediksi untuk perempuan= 92,3%.

Tabel 5.16 : RERATA SETIAP VARIABEL DAN KELOMPOK KELAMIN
(DATA DAHI)

Variable	LAKI-LAKI		PEREMPUAN		F	Sig. of F
	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.		
N1	50.927	3.791	55.458	3.276	38.99256	.000
N2	15.449	2.088	16.533	1.443	8.75654	.004
N3	10.273	1.729	8.162	.886	57.09296	.000
N4	7.177	.871	5.258	.662	147.30432	.000
N5	4.639	.986	3.638	.522	38.88770	.000
N6	3.086	.879	2.639	.444	9.96201	.002
N7	2.382	.638	2.028	.376	9.82884	.002
N8	1.868	.583	1.640	.311	5.74235	.019
N9	1.560	.484	1.373	.250	5.65527	.019
N10	1.400	.465	1.189	.231	7.99353	.006
N11	1.221	.440	1.098	.224	2.98249	.087
N12	1.087	.460	1.021	.180	.84829	.359
N13	1.066	.424	.966	.224	2.10252	.150
N14	1.008	.404	.925	.232	1.52370	.220
N15	.988	.415	.936	.240	.55978	.456
N16	-.485	.217	-.435	.125	1.88307	.173

Tabel 5.17 : RERATA SETIAP VARIABEL DAN KELOMPOK KELAMIN
(DATA BLKEP)

Variable	LAKI-LAKI		PEREMPUAN		F	Sig. of F
	Mean	Std. Dev.	Mean	Std. Dev.		
N1	39.902	3.376	41.058	3.681	2.67601	.105
N2	16.378	1.088	16.734	1.221	2.37732	.126
N3	9.490	.833	9.635	.847	.74665	.390
N4	6.645	.661	6.558	.695	.42457	.516
N5	4.955	.448	4.646	.615	8.22425	.005
N6	3.947	.512	3.612	.507	10.78069	.001
N7	3.205	.491	2.977	.504	5.26944	.024
N8	2.756	.458	2.506	.446	7.66222	.007
N9	2.404	.424	2.163	.461	7.37243	.008
N10	2.143	.379	1.935	.443	6.31549	.014
N11	1.983	.392	1.762	.405	7.66356	.007
N12	1.858	.410	1.638	.433	6.80791	.010
N13	1.753	.404	1.571	.418	4.88261	.029
N14	1.682	.366	1.506	.424	4.92916	.029
N15	1.643	.361	1.451	.455	5.47728	.021
N16	-.819	.188	-.724	.240	4.88822	.029