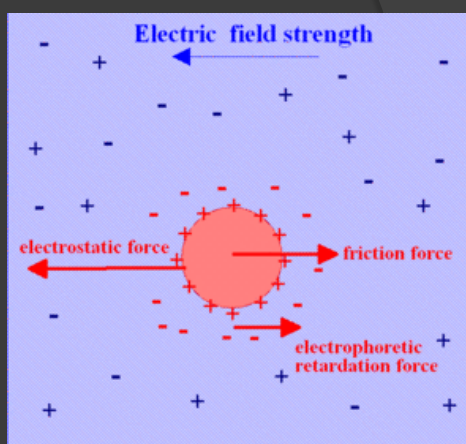


Prof.Dr..Ir.Krishna Purnawan Candra, M.S.
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
FAPERTA UNMUL

KIMIA ANALITIK (2-1) PERTEMUAN KE-14 DAN 15 GEL ELEKTROFORESIS

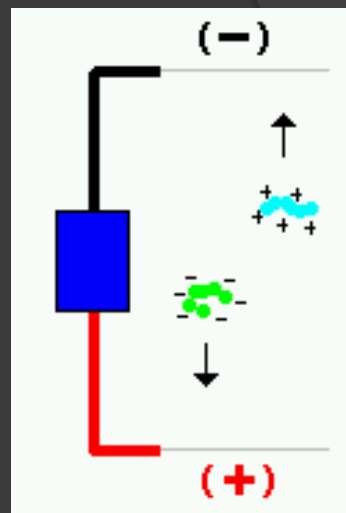
Beberapa definisi berkaitan dengan elektroforesis

- Elektroforesis : pergerakan partikel terdispersi secara relatif pada cairan karena pengaruh medan listrik yang digambarkan sebagai ruang yang seragam.
- Elektroforesis terjadi karena partikel terdispersi dalam cairan selalu mempunyai muatan listrik permukaan yang bergerak dalam medan listrik yang mengeluarkan gaya elektrostatis.



Elektroforesis Gel (*Gel Electrophoresis*)

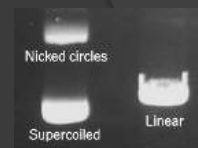
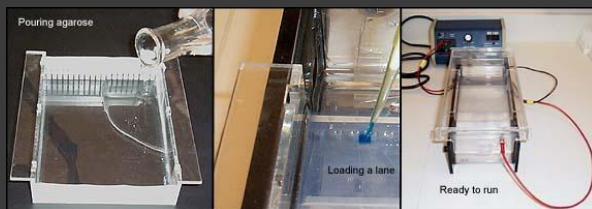
- Elektroforesis Gel : teknik pemisahan dari DNA, RNA, dan protein menggunakan arus listrik pada matrik gel.
- Metode elektroforesis gel
 - Elektroforesis gel agarosa (*Agarose Gel Electrophoresis*): digunakan untuk separasi DNA dan RNA (200-50,000 pasangan basa)
 - Elektroforesis gel poliakrilamid (*Polyacrylamide gel electrophoresis / PAGE*): digunakan untuk separasi protein, dan DNA/RNA molekul “kecil”
 - Elektroforesis kapiler (*Capillary electrophoresis*)



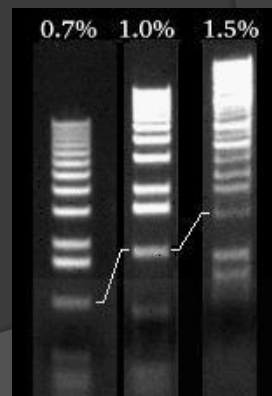
Sejarah Perkembangan Elektroforesis Gel

- 1930-an report pertama tentang penggunaan sukrosa pada elektroforesis gel.
- 1955, dikenalkannya gel pati
- 1959, dikenalkannya gel akrilamid
- 1964, elektroforesis gel disk
- 1969, penggunaan SDS untuk pemisahan sub-unit protein
- 1970, penggunaan “*stacking gel*” pada separasi protein; dikenalkannya elektroforesis gel agarose
- 1975, gel 2-dimensi; pertama dengan *isoelectric focusing* kemudian elektroforesis gel SDS
- 1977, gel untuk analisis sekuen DNA
- 1983, PFGE (Pulsed Field Gel Electrophoresis), memungkinkan pemisahan DNA molekul dengan berat molekul tinggi (untuk finger printing DNA); dikenalkannya elektroforesis kapiler

Tahapan prosedur elektroforesis gel agarosa



1. Pencetakan gel agarosa
2. Upload DNA/RNA
3. Running elektroforesis
4. Pewarnaan (staining) dengan Ethidium bromida
5. Penampakan DNA dengan UV illuminator
6. Dapat dilihat pada
<http://learn.genetics.utah.edu/content/labs/gel/>

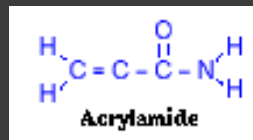


Aplikasi separasi fragmen DNA dengan elektroforesis gel agarosa

- Agarose digunakan dengan konsentrasi 0.5-2.0%
- Contoh aplikasi elektroforesis gel agarosa dapat dilihat pada
<http://www.vivo.colostate.edu/hbooks/genetics/biotech/gels/virgel.html>
 - Digest DNA plasmid oleh enzim DNA restriksi yang berbeda di upload pada agarosa dan dijalankan (diberi arus listrik)
 - Fragmen DNA bergerak dan setelah penanda melewati gel, arus listrik dimatikan kemudian setelah diwarnai dengan Ethidium bromida, fragmen DNA dilihat menggunakan UV illuminator

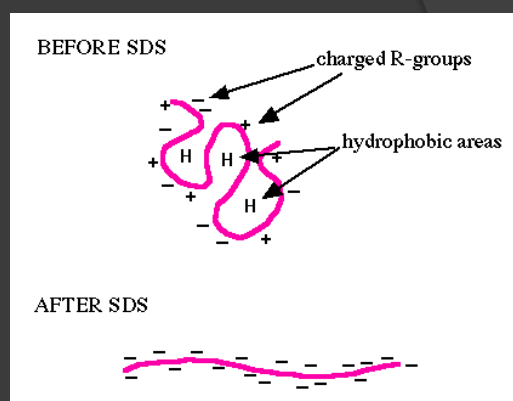
Gel poliakrilamid

- Poliakrilamid: polimer yang terbentuk dari ikatan silang akrilamid (acrylamide)
- Akrilamid merupakan neurotoksin, memakainya harus hati-hati (menggunakan sarung tangan dan penutup hidung)
- Rumus kimia akrilamid
- Digunakan dengan konsentrasi 3.5-20%



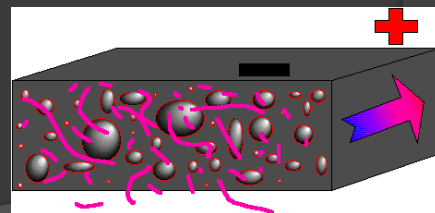
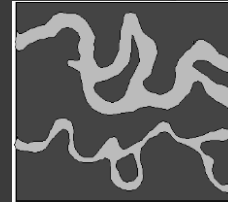
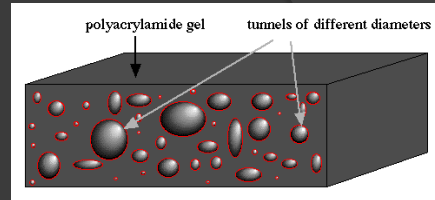
Gel poliakrilamid

- Dikenal penggunaan SDS pada separasi protein dengan Poliacrilamid Gel Electrophoresis (PAGE)
- Kegunaan SDS adalah untuk membuat bentuknya menjadi linier (tidak memiliki lagi struktur sekunder, tertier, atau quaterner)



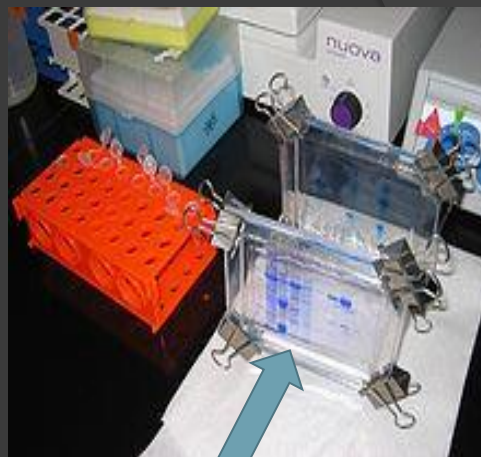
Gel poliakrilamid

- Gel poliakrilamid tidak padat melainkan mempunyai saluran labirin pada bangunan serat/gel-nya
- Ketika kumpulan protein dengan ukuran berbeda bergerak (dari minus ke positif) maka protein dengan ukuran lebih kecil akan lebih cepat



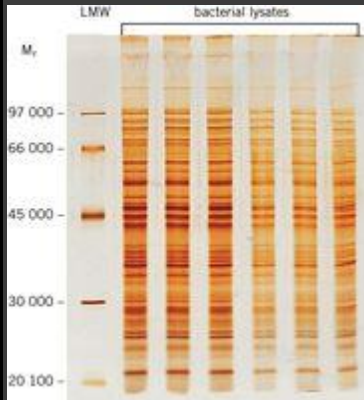
Tahapan prosedur elektroforesis gel poliakrilamid

1. Pembuatan poliakrilamid (buffer + akrilamid + bis-akrilamid + Ammonium persulfat + TEMED)
2. Pencetakan gel
3. Running elektroforesis
4. Pewarnaan (*staining*) dengan Coomassie Blue atau perak (*silver staining*), atau kombinasi keduanya
5. Penampakan protein band, Coomassie Blue berwarna biru, dan silver staining berwarna coklat-hitam

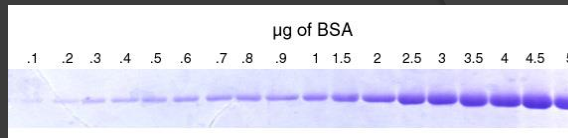


Pewarnaan dengan Coomassie blue

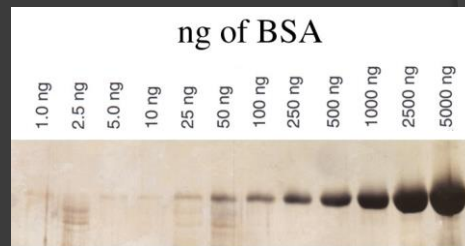
Pewarnaan separasi protein dengan PAGE



Ekstrak E. coli yang dipisahkan pada SDS-polyacrylamide gel (10% T, 2.7% C, 1-mm tebal), dengan pewarnaan silver (Silver Staining)



Bovine Serum Albumin (BSA) dengan pewarnaan Coomassie Blue (min 0.1 µg)



Bovine Serum Albumin (BSA) dengan pewarnaan perak (silver staining) (dpt terdeteksi sampai 10 ng atau 0.00001 µg)