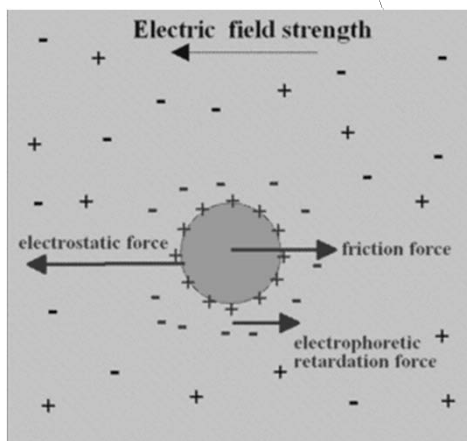


Prof.Dr..Ir.Krishna Purnawan Candra, M.S.
Jurusan Teknologi Hasil Pertanian
FAPERTA UNMUL

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

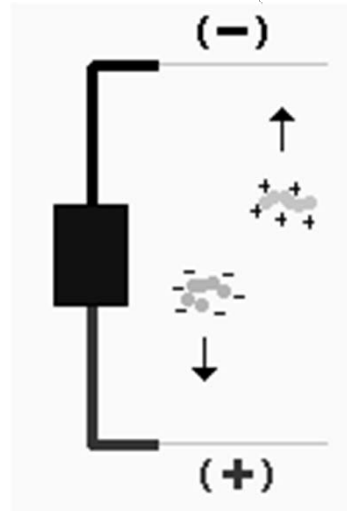
Beberapa definisi berkaitan dengan elektroforesis

- ⦿ 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*)

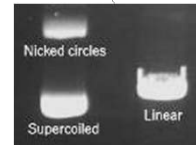
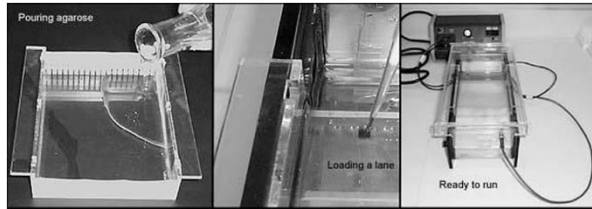
- ⊙ Elektroforesis Gel : teknik pemisahan dari DNA, RNA, dan protein menggunakan arus listrik pada matrik gel.
- ⊙ Metode elektroforesis gel
 - Elektroforesis gel agarosa (*Agarose Gel Electrophoresis*): digunakan untuk separasi DNA dan RNA (200-50,000 pasangan basa)
 - Elektroforesis gel poliakrilamid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



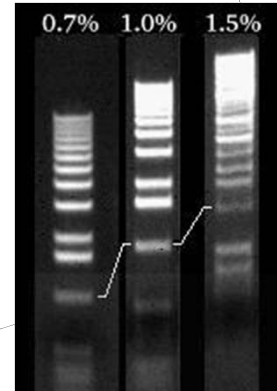
Sejarah Perkembangan Elektroforesis Gel

- ⊙ 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

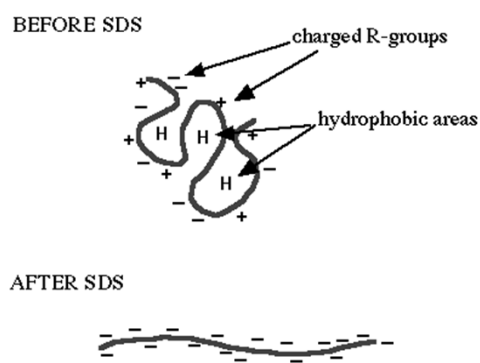
- ◉ Poliakrilamid: polimer yang terbentuk dari ikatan silang akrilamid (acrylamide)
- ◉ Akrilamid merupakan neurotoksin, memakainya harus hati-hati (menggunakan sarung tangan dan penutup hidung)
- ◉ Rumus kimia akrilamid

$$\begin{array}{c} \text{H} & & \text{O} & & \text{H} \\ & \backslash & // & & / \\ \text{H}-\text{C} & = & \text{C} & - & \text{C} & - & \text{N} \\ & / & & & & & \backslash \\ & \text{H} & & & & & \text{H} \end{array}$$

Acrylamide
- ◉ Digunakan dengan konsentrasi 3.5-20%

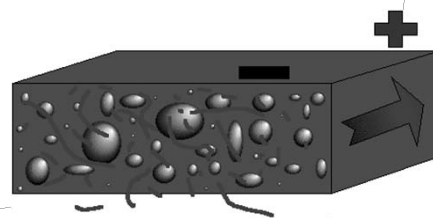
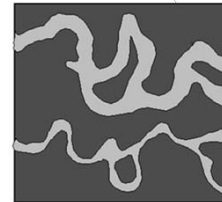
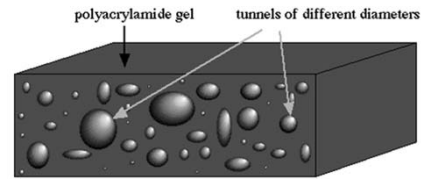
Gel poliakrilamid

- ◉ 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 quarterner)



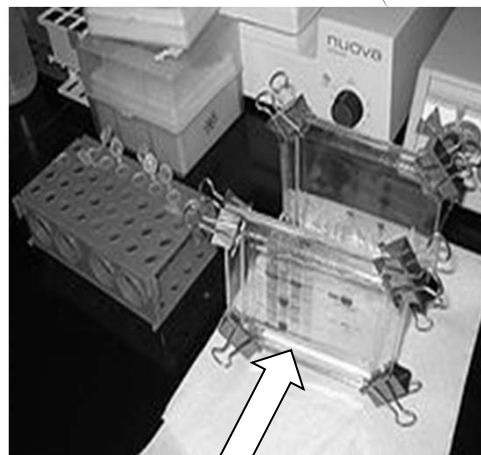
Gel poliakrilamid

- 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

