

## ELEKTROFORESIS

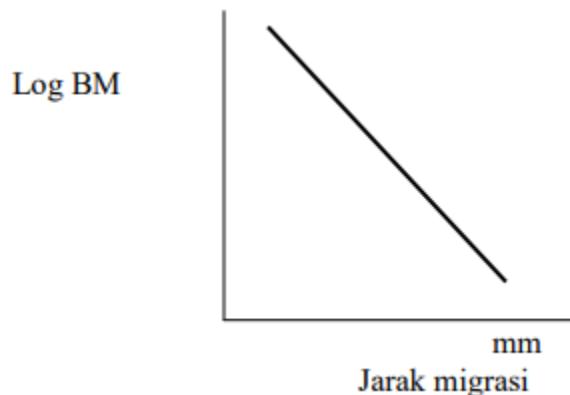
### A. Tujuan Pembelajaran

Setelah mempelajari materi ini, mahasiswa diharapkan

1. Dapat menjelaskan pengertian elektroforesis
2. Dapat menjelaskan prinsip kerja elektroforesis
3. Dapat melakukan prosedur elektroforesis secara virtual
4. Dapat memurnikan DNA/RNA dengan elektroforesis secara virtual
5. Dapat menginterpretasikan atau menganalisis hasil uji elektroforesis

### B. Pengertian dan Prinsip Elektroforesis

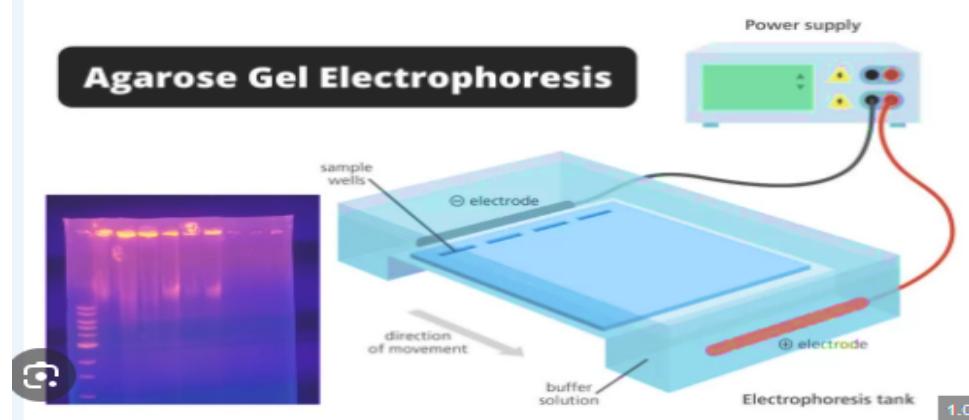
Elektroforesis adalah migrasi ion-ion di bawah pengaruh medan listrik atau dengan kata lain pemisahan molekul molekul bermuatan seperti DNA, RNA atau protein dalam medium tertentu yang menggunakan listrik (Brown, 2006). Senyawa senyawa yang bermuatan listrik akan bergerak ke arah elektroda yang mempunyai muatan yang berlawanan. DNA mempunyai muatan negatif dan mempunyai rasio muatan/massa yang konstan, sehingga kecepatan migrasi DNA selama elektroforesis tergantung pada berat molekul DNA tersebut. Grafik log berat molekul DNA terhadap jarak migrasi untuk kisaran berat molekul tertentu akan menghasilkan garis lurus. Untuk pemisahan DNA berukuran kecil (< 200 pasang basa) digunakan gel poliakrilamida sedangkan untuk pemisahan DNA berukuran besar digunakan gel agarosa. DNA dalam gel agarosa dapat terlihat dengan penambahan red gel yang akan berikatan dengan DNA dan akan bersifat *fluorescens* di bawah sinar UV. Penambahan *loading dye* dilakukan bertujuan sebagai penanda pergerakan DNA dalam gel agarose.



Gambar 1 Hubungan Berat Molekul dengan Jarak Migrasi DNA

Kisaran berat molekul DNA yang akan menghasilkan garis yang linear pada grafik log BM terhadap jarak migrasi DNA ditentukan oleh konsentrasi gel yang digunakan. Untuk elektroforesis gel agarosa, ukuran DNA yang dapat dipisahkan berkisar antara 5 - 60 kilobasa untuk gel dengan konsentrasi agarosa 0,3 % dan 0,1 - 3,0 kilo basa untuk gel dengan konsentrasi agarosa 2,0 %. DNA yang berukuran satu kilo basa adalah DNA yang panjangnya seribu pasang

basa/nukleotida. Kecepatan gerak molekul DNA tergantung ratio muatan terhadap massa dan bentuk molekulnya. Molekul yang berbentuk sirkuler lebih cepat dibandingkan molekul yang bersifat linier.



Gambar 2 Alat Elektroforesis AGE

### C. Faktor yang Mempengaruhi Elektroforesis

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi elektroforesis yaitu

#### 1. Konsetrasi agarose

Molekul yang berukuran besar seperti genom maka konsentrasi agarosanya 0.8% sedangkan jika dalam bentuk fragmen DNA makanya konsentrasi agarose yang dibutuhkan sebesar 1,5 – 2%.

#### 2. Ukuran dan bentuk molekul

Ukuran yang lebih kecil semakin mudah untuk dipisahkan dan bentuk sirkuler lebih cepat dibandingkan bentuk linier.

#### 3. Voltase

Dalam elektroforesis biasanya menggunakan 100V sedangkan untuk pemisahan yang sempurna maka menggunakan 50V. semakin rendah voltase yang digunakan maka semakin lambat proses migrasi tetapi hasil semakin baik.

#### 4. Suhu

Molekul DNA terurai pada suhu tinggi dan menggumpal pada suhu yang dingin. Untuk memudahkan memisahkan DNA sebaiknya menggunakan suhu yang lebih tinggi.

### D. Jenis-Jenis Elektroforesis

Ada beberapa jenis elektroforesis yang sering digunakan dalam bioteknologi, diantara:

#### 1. Elektroforesis Gel Agarosa (AGE)

- Paling sering digunakan untuk DNA/RNA
- Agarosa merupakan polisakarida dari rumput laut yang dapat membentuk pori-pori
- Digunakan untuk memisahkan fragmen DNA yang berukuran 100 bp hingga >20 kb
- Visualisasi menggunakan Etidium Bromida (EtBr), SYBR Green, atau GelRed di bawah sinar UV.
- Aplikasi: analisis hasil PCR, verifikasi kloning, pemeriksaan integritas DNA

2. Elektroforesis Gel Poli Akrilamida (PAGE)
  - Digunakan untuk DNA/RNA kecil (100-500 bp) atau protein
  - Memiliki resolusi lebih tinggi dibandingkan agarose
  - Dapat diombinasikan dengan pewarnaan perak atau pewarna fluorescens
3. Capillary Electrophoresis (CE)
  - Menggunakan kapiler sempit berisi larutan buffer sebagai medium
  - Presisi dan sensitivitas tinggi, otomatisasi dan keuantifikasi digital
  - Aplikasi: sekruensing DNA, genotyping, forensic DNA analysis (Grossman & Colburn, 1992).
4. Pulsed-Field Gel Electrophoresis (PFGE)
  - Digunakan untuk memisahkan fragmen DNA sangat besar >100kb
  - Prinsip kerja, arah medan listrik dirubah secara periodic sehingga memungkinkan DNA besar bermigrasi
  - Aplikasi: epidemiologi molekuler (identifikasi strain bakteri patogen) (Schwartz & Cantor, 1984).

#### **E. Latihan**

Jawablah soal berikut ini dengan baik dan benar!

1. Jelaskan apa yang dimaksud dengan elektroforesis dan sebutkan 3olyme-faktor yang mempengaruhinya!
2. Jelaskan prinsip kerja pemurnian DNA/RNA dengan elektroforesis!
3. Buatkan prosedur praktikum elektroforesis dengan menggunakan bagan!
4. Jika seseorang ini memurnikan DNA dengan ukuran 500 bp, menurut saudara jenis elektroforesis apa yang paling tepat untuk digunakan? Jelaskan!
5. Apa yang terjadi jika praktikan salah meletakan posisi sumur agar pada baki jelaskan!

#### **DAFTAR PUSTAKA**

- Akuta, T., Tomioka, Y., & Arakawa, T. (2025). Influence of running buffer on agarose native gel electrophoresis performance. *Journal of Electrophoresis*, 69(1), 17–22.
- Andrews, A. T. (1986). *Electrophoresis: Theory, techniques, and biochemical and clinical applications*. Oxford University Press.

- Chrambach, A. (1985). *The practice of quantitative gel electrophoresis*. VCH Publishers.
- Firdausi, N. (2016). Analisis hasil elektroforesis DNA dengan image processing menggunakan logika fuzzy. *Indonesian Journal of Electrical, Information and Communication Technology*, 4(2), 95–102.
- Garfin, D. E. (2009). *Gel electrophoresis of proteins: A practical approach*. Oxford University Press.
- Gummadi, S., & Kandula, V. N. (2020). A review on electrophoresis, capillary electrophoresis and hyphenations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(12), 6038–6056.
- Hames, B. D., & Rickwood, D. (1998). *Gel electrophoresis of proteins and nucleic acids*. Oxford University Press.
- Kurien, B. T., & Scofield, R. H. (2012). *Protein electrophoresis: Methods and protocols*. Humana Press.
- Lehninger, A. L., Nelson, D. L., & Cox, M. M. (2017). *Lehninger principles of biochemistry* (7th ed.). W. H. Freeman and Company.
- Rumbiawati, R., & Trimuratno, J. (2021). Daur ulang limbah gel agarose untuk efisiensi reagen elektroforesis. *International Journal of Life Sciences*, 4(3), 111–115.
- Sambrook, J., & Russell, D. W. (2001). *Molecular cloning: A laboratory manual* (3rd ed.). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Scopes, R. K. (1994). *Protein purification: Principles and practice*. Springer-Verlag.
- Westermeier, R. (2016). *Electrophoresis in practice: A guide to methods and applications of DNA and protein separations* (5th ed.). Wiley-VCH.