

Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika

Muhammad Ridwan Harahap

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi
UIN Ar-Raniry Banda Aceh
Email: ridwankimia@ar-raniry.ac.id

Abstract

Electrophoresis is a method of separation that utilizes the electric field generated from electrodes to separate compounds having a charge of cations or anions. Electrophoresis requires separation media in the form of a stationary phase such as Agarose cells mixed with a buffer solution to maintain the acidity of the sample during the separation process. This tool strongly supports the renewal of research, especially in the field of genetic engineering technology. The result will provide a track record of separation bands of compounds. The speed of molecular motion depends on the ratio (ratio) of charge to its mass, and also depends on the shape of the molecule.

Keywords: *electrophoresis, electricity, technology, engineering, genetics.*

Abstrak

Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan yang memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan dari elektroda-elektroda untuk memisahkan senyawa-senyawa yang memiliki muatan berupa kation ataupun anion. Elektroforesis membutuhkan media pemisah berupa fase diam seperti sel Agarosa yang tercampur larutan buffer untuk menjaga kondisi keasaman sampel saat proses pemisahan. Alat ini sangat mendukung keterbaruan penelitian khususnya dibidang teknologi rekayasa genetika. Hasilnya akan memberikan rekam jejak berupa pita-pita pemisahan senyawa. Kecepatan gerak molekul tergantung pada nisbah (rasio) muatan terhadap massanya, serta tergantung pula pada bentuk molekulnya.

Kata kunci: *elektroforesis, listrik, teknologi, rekayasa, genetika.*

1. Pendahuluan

Pasir besi merupakan salah satu sumber besi yang pemanfaatannya masih belum optimal. Pemanfaatan pasir besi di Indonesia hingga saat ini masih terbatas hanya digunakan sebagai bahan tambahan pada pabrik semen.

Di dalam bidang ilmu Kimia, pemanfaatan energi listrik sangat dibutuhkan. Disamping energi yang dibutuhkan, listrik juga menjadi kajian dalam metode pemisahan senyawa dengan memanfaatkan muatan-muatan yang dihasilkan dari listrik. Selain sel elektrokimia, elektroforesis salah satu metode pemisahan yang memanfaatkan kajian listrik tersebut. Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan yang memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan dari elektroda-elektroda untuk memisahkan senyawa-senyawa yang memiliki muatan berupa kation ataupun anion. Memiliki perbedaan yang cukup jelas dengan sel elektrokimia, elektroforesis memanfaatkan medan listrik. Sedangkan elektrokimia memanfaatkan elektroda

untuk melakukan reaksi reduksi dan oksidasi. Teknik elektroforesis sudah sangat lama ditemukan sekitar abad ke 19 hanya saja pengembangannya secara signifikan dimulai tahun 1956 oleh Hunter dan Moller melakukan penelitian tentang sifat-sifat enzim sebagai katalisator untuk melihat pengaruh kimia pada perkembangannya.

Dalam kajian teori pada elektroforesis ini tidak terlepas dari kajian medan listrik. Medan listrik yang dihasilkan berasal dari elektroda-elektroda yang diberikan energi listrik dari sumber energi seperti arus listrik searah maupun Arus listrik bolak-balik. Hukum Coulomb menjadi prinsip dasar metode pemisahan elektroforesis yaitu gaya pada salah satu titik muatan berbanding lurus dengan besar muatannya. Medan listrik merupakan efek yang dihasilkan oleh muatan listrik seperti elektron, ion atau proton, dalam ruangan yang ada disekitarnya.

2. Prinsip Kerja Elektroforesis

Menurut George Stokes besarnya gaya gesek pada fluida disebabkan viskositas fluida. Semakin besar viskositas (kekentalan) fluida maka akan semakin sulit suatu fluida untuk mengalir dan juga menunjukkan semakin sulit suatu benda bergerak dalam fluida tersebut. Di dalam zat cair viskositas dihasilkan oleh gaya kohesi antara molekul zat cair. Gaya ini disebut gaya Stoke. Suatu molekul bermuatan Q dalam medan listrik berkekuatan x akan bergerak dengan kecepatan v karena mengalami gaya sebesar qx . Jika f merupakan koefisien gesekan (friksi), maka molekul tersebut akan mengalami gaya hambat sebesar vf , sehingga $qx = vf$. Maka koefisien gesekan (f) adalah sebagai berikut:

$$f = 6\pi n r v$$

Pada elektroforesis media pemisahannya berupa gel Agarosa atau lainnya yang memiliki tingkat viskositas tinggi. Dengan demikian dapat dihitung laju molekulnya adalah sebagai berikut:

$$\frac{v}{x} = \frac{q}{6\pi n r}$$

Laju dalam elektroforesis sangat bergantung pada kekentalan medium (n), ukuran atau bentuk (r), dan muatan molekul (q). Kekuatan asam pada medium juga mempengaruhi besar muatan pada saat ionisasi berlangsung sehingga diperlukan larutan *buffer* untuk mengatasi masalah ini. Dan juga perlu dilakukan analisis terhadap kemampuan media untuk memisahkan molekul-molekul agar lebih efektif dan maksimal.

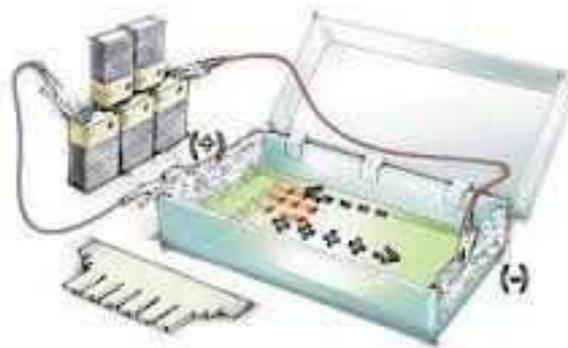
Alat elektroforesis terdiri dari medium pemisah yang terhubung dengan dua elektroda dan kertas saring. Media pemisah dapat berupa gel Agarosa, pati atau poliakrilamida. Media terdiri dari dua bagian yang dihubungkan dengan sumbu asbes; satu bagian berisi elektroda platina dan yang lain kontak dengan medium elektroforesis.

3. Komponen Elektroforesis

Elektroforesis terdiri dari beberapa komponen utama dalam penggunaannya. Yang pertama adalah larutan elektrolit yang berfungsi sebagai pembawa komponen. Umumnya berupa larutan buffer dengan pH tertentu sesuai dengan karakteristik senyawa yang akan dipisahkan. Berikutnya media pemisah merupakan tempat proses pemisahan terjadi. Media pemisah ini berupa kertas (selulosa asetat, selulosa nitrat), gel kanji, gel polikrilamid, busa poliuretan atau agar-agar. Selanjutnya yang paling penting adalah elektroda yang berfungsi sebagai penghubung arus listrik dengan media pemisah dan baterai atau arus listrik sebagai sumber energi (*source*) pada rangkaian alat.

Penggunaan Medium Pemisah

Keberhasilan dari teknik elektroforesis dipengaruhi pemilihan medium pemisahannya. Ada dua medium yang sering digunakan dalam menggunakan elektroforesis. Yang pertama gel Agarosa. Merupakan metode standar untuk mengidentifikasi serta memurnikan fragmen-fragmen *Deoxyribo Nucleic Acid (DNA)* dan *Ribose Nucleic Acid*. Senyawaan tersebut merupakan pembawa genetika pada makhluk hidup-dilakukan pada medan listrik horizontal. Kelebihan dari gel ini lebih mudah, sederhana dan laju pemisahannya lebih cepat membentuk fragmen-fragmen dan tidak bersifat toksik. Hanya saja kelemahannya gel ini memiliki sensitifitas tinggi dan mudah rusak sehingga memerlukan ketelitian dan kehati-hatian pada proses pengerjaannya. Yang kedua gel poliakrilamida. Gel ini memiliki memiliki resolusi tinggi pada hasil pemisahannya. Membutuhkan tegangan listrik yang tinggi pada pengerjaannya dan dilakukan pada medan listrik vertical. Persiapan pengerjaan membutuhkan waktu relatif lama, mahal dan memiliki laju pemisahan yang lebih lambat dibandingkan gel Agarosa (Rita Elfianis)



Gambar. Rangkaian Alat Elektroforesis

Faktor-faktor yang mempengaruhi Elektroforesis

Proses pemisahan dengan elektroforesis sangat dipengaruhi oleh teknik pengerjaan dalam pengoperasian alat tersebut. Disamping medium pemisah yang sudah dielaskan diatas, ada beberapa faktor penentu lainnya yang dapat mempengaruhi proses pemisahan yaitu :

a. Sampel

Sampel yang akan dipisahkan sangat memungkinkan memberi pengaruh laju perpindahan ditinjau dari muatan, ukuran, dan bentuk molekul. Jumlah muatan total akan berbanding lurus dengan laju perpindahan, konsentrasi muatan yang bermigrasi tergantung pada pH. Untuk ukuran molekul apabila yang diperoleh lebih besar menyebabkan perpindahan molekul menurun dan membutuhkan energi perpindahan yang cukup besar dibandingkan dengan bentuk molekul yang berbeda dengan ukuran yang sama.

b. Larutan *Buffer*

Larutan *buffer* berfungsi untuk mempertahankan pH di dalam medium pemisah, dan berfungsi sebagai media penyedia elektrolit pada proses pergerakan aliran listrik. Larutan *buffer* harus memiliki interkasi dengan molekul yang dipisahkan, dan pH yang digunakan menjadi perhatian sehingga kumpulan molekul dapat dipisahkan satu sama lain tetapi tidak mengalami perubahan struktur. Larutan penyangga harus dipilih dengan cermat, keterkaitan ion *buffer* dalam berinteraksi dengan senyawa yang diteliti, pH dipilih berdasarkan jenis campuran yang akan dipisahkan. Umumnya pemisahan dapat dicapai pada titik isolistrik (yaitu titik ketika pH suatu makromolekul bermuatan nol akibat bertambahnya atau kehilangan muatan), salah satu senyawa yang dipilih

sebaiknya tidak mengakibatkan perubahan kimia atau perubahan struktur molekul yang akan diteliti. Kisaran kekuatan ionik larutan *buffer* pada 0,05-0,15 mol/L dan biasanya diambil nilai di antara kedua nilai ekstrem. Pada kekuatan ionik yang rendah akan terjadi pergerakan molekul yang cepat dan produksi panas yang rendah, akan tetapi terjadi difusi yang nyata. Di pihak lain, pada kekuatan ionik yang tinggi, diperoleh pita-pita yang tajam, namun akan terjadi produksi panas yang lebih tinggi dan terjadi pergerakan molekul pada jarak yang pendek.

c. Medan listrik

Sumber suatu listrik yang stabil sangat diperlukan untuk menghasilkan aliran listrik dengan tegangan yang konstan. Kekuatan ionik medan listrik pada kisaran 2-8 V/cm sesuai pada suhu ruang. Kekuatan medan magnet yang dihasilkan jika lebih besar dari 10 V/cm, maka dapat memberikan efek pemanasan yang dapat menyebabkan pada media penyangga terjadi kehilangan air yang diakibatkan proses penguapan. Hal tersebut juga mengakibatkan pergeseran hasil fragmen-fragmen. Pemanasan merupakan salah satu faktor yang mengakibatkan senyawa-senyawa terdenaturasi. Disamping kekurangan dengan menggunakan tegangan yang tinggi, keuntungan elektroforesis pada voltase tinggi mengakibatkan pemisahan yang sangat cepat. Sehingga senyawa-senyawa dengan berat molekul rendah akan mengalami proses difusi yang paling baik dipisahkan dalam kondisi elektroforesis tegangan tinggi.

4. Penelitian penggunaan Elektroforesis

Purwadi (2010) melakukan penelitian tentang penggunaan elektroforesis terhadap protein *whey* dan air pemulur pada pembuatan keju *Mozzarella* yang dipengaruhi oleh suhu koagulasi dan pemuluran. Elektroforesis yang digunakan tipe *SDS-Page*, menggunakan media pemisah gabungan poliakrilamida-natrium dodesil sulfat. Elektroforesis jenis ini memiliki sifat lebih sensitif dan lebih akurat, hanya saja membutuhkan proses yang lebih lama. Diperoleh hasil bahwa suhu koagulasi yang baik ialah 30 atau 35 °C, karena kedua suhu tersebut tidak berbeda nyata, maka agar lebih efisien sebaiknya digunakan suhu 30 °C. Suhu pemuluran semuanya tidak berbeda nyata, sehingga agar lebih efisien digunakan suhu terendah, namun dengan suhu 70 °C keju yang dihasilkan kurang mulur, sehingga sebaiknya digunakan suhu 75 °C.

Kusumaningrum et al (2014) melakukan penelitian tentang gerak molekul DNA yang terpolarisasi pada elektroforesis berdasarkan muatan. Penelitian ini melakukan kombinasi alat antara prinsip elektroforesis dan dielektroforesis terintegrasi perangkat lunak untuk mengukur konsentrasinya. Pengukuran konsentrasi DNA menggunakan spektrofotometer UV/VIS. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan desain untuk mengukur konsentrasi DNA berdasarkan gambaran yang dihasilkan pada gel elektroforesis menggunakan perangkat lunak berbasis MatLab. Pengukuran konsentrasi DNA didasarkan gambaran yang dihasilkan pada gel elektroforesis lalu dibandingkan dengan hasil penghitungan spektrofotometer UV/VIS. Hasil pengukuran total DNA menggunakan instrumentasi spektrofotometer memiliki kecenderungan yang sama dengan hasil pengukuran menggunakan perangkat lunak berbasis MatLab meskipun terdapat perbedaan nilai kuantitatif.

Hermanto S., et al (2014) melakukan penelitian tentang penggunaan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*) bertujuan untuk mengidentifikasi sumber gelatin yang digunakan pada kapsul keras. Hal ini merujuk pada penggunaan gelatin sebagai salah satu bahan utama sistem pengiriman (*delivery*) obat medis atau farmasi. Bahan dasar pembuatan kapsul saat ini masih menjadi permasalahan

dikarenakan kehalalannya masih diragukan karena sebagian besar diperoleh dari bahan tidak halal. Kolagen tulang sapi dan lemak babi merupakan salah satu sumber penghasil gelatin. Dengan ada penelitian tersebut dapat dilakukan pemeriksaan terhadap kehalalan suatu produk yang memanfaatkan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrilamide Gel Elektrophoresis*). Tahap awal penelitian dilakukan optimasi terhadap standar gelatin sapi dan babi yang dihidrolisis dengan pepsin pada pH 4.5 dan suhu 60 °C selama 1 jam, 2 jam dan, 3 jam. Gelatin yang dihasilkan hidrolisis selanjutnya dianalisis dengan SDS-PAGE untuk menentukan waktu hidrolisis optimal. Kemudian identifikasi gambaran gelatin hidrolisat dibandingkan berdasarkan perbedaan bobot molekulnya.

Hasil penelitian yang diperoleh kemudian diaplikasikan terhadap indikasi sumber gelatin pada beberapa sampel kapsul keras yang diperoleh dari pasaran dan dibandingkan dengan kapsul keras gelatin hasil simulasi. Hasil hidrolisis optimum selama 3 jam menunjukkan adanya pita-pita spesifik pada gelatin sapi dengan bobot molekul 15 kDa; 18,5 kDa; 33 kDa dan 47 kDa serta pita spesifik pada gelatin babi dengan bobot molekul 12,8 kDa; 17,3 kDa, 23,7 kDa dan 37 kDa. Hasil yang sama diperoleh pada kapsul keras sampel dengan pita-pita gambaran protein yang identik dengan standar gelatin sapi. Hasil analisis yang diperoleh menunjukkan ketiga sampel yang diuji diduga merupakan kapsul yang terbuat dari gelatin sapi.

Rohmana A., et all (2016) melakukan penelitian terhadap penggunaan media pemisah berupa agar-agar komersial pada alat elektroforesis dengan sampel berupa zat warna remazo yang dipengaruhi oleh komposisi buffer, ph buffer dan konsentrasi media. Objek penelitian merupakan zat warna *Remazo Brilliant Blue R (RBBR)*, *Remazo Red RB (RRRB)*, *Remazo Yellow FG (RYFG)*, *Remazo Turquoise Blue G (RTBG)* dan *Remazo Violet 5R (RV5R)* dengan beberapa variabel optimasi elektroforesis gel dipengaruhi oleh komposisi buffer, pH buffer, dan konsentrasi media yang dilakukan pada tegangan 150 volt selama 15 menit. Kemudian diperoleh kondisi optimal menggunakan buffer dengan komposisi $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O} + \text{Na}_2\text{HPO}_4$. Hasil penelitian menunjukkan larutan penyangga pada pH 9 didapatkan jarak migrasi terjauh untuk masing-masing zat warna RBBR, RYFG, RRRB, RTBG dan RV5R secara berturut-turut adalah : 29,11 mm; 35,40 mm; 33,40 mm; 32,07 mm; dan 31,07 mm. Pada konsentrasi 2% didapatkan jarak migrasi untuk kelima zat warna remazol paling jauh, yaitu : RBBR 29,13 mm; RYFG 34,14 mm; RRRB 31,16 mm; RTBG 30,25 mm dan RV5R 29,20mm.

Yahya L.A., et all (2016) melakukan penelitian tentang pemanfaatan *Nata de Coco* sebagai media gel elektroforesis pada zat warna Remazol terhadap pengaruh pH, waktu dan aplikasi pemisahan gelatin. Penelitian ini mengamati pengaruh pH larutan *buffer*, waktu dan proses pemisahan gelatin kemudian menggunakan elektroforesis dengan media *nata de coco* sebagai media penyangganya. *Nata de coco* yang telah dibuat dengan masa inkubasi 4 hari menghasilkan ketebalan sekitar 0,454 cm sehingga umur tersebut digunakan dalam penelitian ini. Penggunaan larutan buffer terbaik adalah *buffer* fosfat yang terbuat dari garam-garamnya. Adapun pengaruh pH dinyatakan dengan kekuatan ion, hal ini sebanding dengan semakin besar kekuatan ion larutan, maka semakin jauh jarak migrasi Remazol. Alokasi waktu pada proses elektroforesis mempengaruhi jarak migrasi Remazol. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa kondisi optimum elektroforesis gel terhadap pewarna Remazol Turquoise diperoleh dua pita pemisahan dengan jarak pita masing-masing 2 cm dan 3,6 cm.

Rachmania R.A., et all (2017) melakukan penelitian tanga berat molekul terhadap enzim Protease buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*) dan Pepaya (*Carica papaya L.*) menggunakan metode SDS-PAGE. Jenis enzim Protease yaitu Papain dan Bromelin dapat menguraikan struktur molekul protein menjadi asam amino sangat dibutuhkan pada industri makanan dan farmasi.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui profil berat molekul enzim Bromelin dari kulit buah Nanas (*Ananas comosus L. Merr*) dan Pepaya (*Carica papaya L.*) dari getah dengan varietas berbeda menggunakan metode SDS-PAGE (*Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis*). Presipitasi dilakukan dengan penambahan amonium sulfat ((NH₄)₂SO₄) 60 % dan dialisis enzim menggunakan tabung selofan dengan ukuran pori 12.000 Dalton. Selanjutnya, berat molekul larutan enzim hasil dialisis ditentukan dengan metode SDS-PAGE. Hasil yang diperoleh dari analisis berat molekul enzim Bromelin varietas Bogor dan Subang tidak berbeda yaitu berkisar 30,654 kDa, begitu juga dengan enzim papain varietas California dan Sukma tidak berbeda yaitu berkisar 23,485 kDa. Kesimpulan dari penelitian tersebut bahwa varietas buah yang berbeda pada nanas dan pepaya tidak berpengaruh terhadap berat molekul enzim bromelin dan papain.

Referensi

- Bintang M. (2010). *Biokimia Teknik Penelitian*. Jakarta: Erlangga.
- Hermanto S. et al. (2015). Aplikasi Metode SDS-PAGE (Sodium Dodecyl Sulphate Poly Acrylamide Gel Electrophoresis) untuk Mengidentifikasi Sumber Asal Gelatin pada Kapsul Keras. *Jurnal Kimia Valensi: Jurnal Penelitian dan Pengembangan Ilmu Kimia*, 1,(1), Hal. 26-32
- Khopkar S.M. (1990). *Konsep Dasar Kimia Analitik*. terjemahan Saptoraharjo, Jakarta: UI-Press.
- Kusumaningrum, H.P. (2014). Desain Alat Elektroforesis Untuk Optimasi Visualisasi Dan Konsentrasi DNA Menggunakan Software. *Jurnal Pendidikan Fisika Indonesia*, 10(2), Hal.194-202
- Pratiwi, R. (2001). Mengenal Metode Elektroforesis, *Volume XXVI, Nomor 1*, Oseana. Hal 25-31
- Purwadi. (2010). Elektroforesis Protein Whey Dan Air Pemulur Dalam Pembuatan Keju Mozzarella Hasil Percobaan Faktorial Suhu Koagulasi Dan Suhu Pemuluran. *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak*, 5(1), Hal 23-31.
- Rachmania et al. (2017). Profil Berat Molekul Enzim Protease Buah Nanas (*Ananas comosus L.Merr*) dan Pepaya (*Carica papaya L.*) Menggunakan Metode SDS-PAGE. *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, 13(1), Hal. 52 – 65.
- Rohmana A. et al. (2016). Penggunaan Agar-agar Komersial sebagai Media Gel Elektroforesis Pada Zat Warna Remazol: Pengaruh Komposisi Buffer, pH Buffer dan Konsentrasi Media. *JURNAL SAINS DAN SENI ITS*, 5(2), Hal. 130 – 133.
- Sudjadi. (2008). *Bioteknologi Kesehatan*, Yogyakarta: Kanisius.
- Triwibowo Yuwono. (2009). *Biologi Molekular*, Jakarta: Erlangga.
- Yahya, L.A. et al. (2016). Pemanfaatan Nata de Coco sebagai Media Gel Elektroforesis Pada Zat Warna Remazol: Pengaruh pH, Waktu dan Aplikasi Pemisahan Gelatin. *Jurnal Sains Dan Seni ITS*, 5(2). Hal. 137-140.