

	PRODI S1 BIOTEKNOLOGI DEPARTEMEN BIOLOGI FSM UNDIP	DOKUMEN LEVEL: INSTRUKSI KERJA	KODE:
JUDUL: PENGGUNAAN MESIN GEL ELEKTROFORESIS			Tanggal Dikeluarkan: 04 November 2020
AREA : LABORATORIUM BIOTEKNOLOGI			NO. REVISI:

STANDARD OPERATING PROCEDURE (SOP) MESIN GEL ELEKTROFORESIS

a. Prinsip umum :

Elektroforesis gel agarosa merupakan suatu teknik analisis untuk memisahkan fragmen molekul berdasarkan ukuran dengan adanya medan listrik. Molekul yang bermuatan negatif seperti DNA akan bergerak menuju elektroda positif. Kecepatan migrasi molekul berbeda-beda sesuai dengan ukuran karena harus melewati matriks dari gel agarosa. Semakin kecil ukuran fragmen molekul, maka kecepatan migrasi semakin besar. Secara tidak langsung, fragmen molekul yang besar dan kecil akan terpisah.

b. Bahan dan Metode :

a) Bahan

- Agar Agarosa
- Bufer TAE 1X
- *DNA ladder (marker)*
- *Nucleic Acid Stain (Good View; Florososef DNA Stain)*
- *DNA loading dye*
- Sampel DNA
- Mikropipet
- Tip
- Tabung mikro (*Micro Tube*)
- Rangkaian alat elektroforesis

b) Metode

• Persiapan awal elektroforesis.

1. Susun rangkaian alat elektroforesis, siapkan cetakan dan sisir untuk membuat gel.
2. Tuangkan buffer TAE 1X (~200-300 ml) ke dalam tangki hingga cukup untuk merendam gel elektroforesis

PS BIOTEKNOLOGI DEPARTEMEN BIOLOGI FSM UNDIP		
Disusun oleh: <u>Indra Gunawan, S.T</u> NIP. 197610061999031001	Dikaji oleh: Ka Lab Bioteknologi <u>Dr. Sri Pujiyanto, M.Si</u> NIP. 197301132000031002	Disetujui oleh: Ketua Departemen Biologi <u>Dr. Endah Dwi Hastuti, M.Si</u> NIP. 196105051986032003

- **Pembuatan gel.**

1. Larutkan **1 gr** agar agarosa [1% (w/v)] ke dalam **100 ml** bufer TAE 1X.
2. Panaskan campuran hingga seluruh agarosa benar-benar larut dalam bufer TAE1X.
3. Tunggu hingga suhu turun, kira-kira wadah yang digunakan untuk memanaskan gel agarosa dapat dipegang oleh tangan ($\sim 60^{\circ}\text{C}$)*

**(Perhatian : Gel agarosa tidak boleh dibiarkan terlalu lama/dingin karena gel akan memadat).*

4. Tambahkan 2 μl *Nucleic Acid Stain (Good View; Florososef DNA Stain)* aduk hingga larut, tunggu beberapa saat (~ 20 detik)
5. Tuangkan gel ke dalam cetakan, kemudian masukkan sisir untuk membuat sumur cetakan (tempat sampel DNA dimasukkan).*

**Perhatian: selama proses pemadatan gel, pastikan gel berada dalam kondisi gelap atau jauh dari cahaya*

- 6 Tunggu beberapa menit (~ 10 -20 menit) hingga gel mamadat sempurna
- 7 Angkat dan lepaskan sisir dari gel
- 8 Gel siap digunakan

- **Persiapan sampel**

1. Campurkan sampel DNA dan *DNA ladder (marker)* masing-masing dengan *DNA loading dye* (Perbandingan sampel DNA 3-6X).

- **Running elektroforesis.**

1. Masukkan gel cetakan ke tangki,
2. Tambahkan bufer TAE1X hingga gel terendam.
3. Masukkan DNAsampel ke dalam sumur, dengan sumur pertama untuk *DNA ladder*
4. Kemudian nyalakan alat elektroforesis (ON kan tombol **POWER**), atur voltase dan waktunya (80 Volt selama 40 menit ; 100 menit selama 30 detik)
5. Tekan tombol **START**
6. Jika telah selesai ambil sampel anda dan bersihkan mesin dan pastikan kondisinya baik seperti sebelumnya
7. Matikan mesin dengan menekan timbol **POWER**
8. Catat identitas anda (pengguna) di LOGBOOK yang telah disediakan

- **Analisis hasil elektroforesis.**
 1. Setelah selesai, matikan *power supply*,
 2. tempatkan gel di bawah sinar UV sehingga akan terlihat fragmen-fragmen DNA yang telah terpisah.
 3. Fragmen DNA berpendar karena adanya senyawa *florosef DNA* yang berasosiasi dengan DNA.
 4. Bandingkan ukuran dan intensitas terangnya fragmen DNA dari sampel dengan *marker/DNA Ladder* untuk memperkirakan ukuran dan konsentrasi dari sampel DNA.