

Penggunaan Modul Termoelektrik pada Proses Agarose Gel Electrophoresis untuk Mempercepat Pemisahan Fragmen Asam Nukleat (DNA)

Danardono AS¹, Nandy S. Putra¹, Haolia Rahman¹, Budiman Bela²

1. Departemen Teknik Mesin, Fakultas Teknik Universitas Indonesia

2. Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

E-mail: danardon@eng.ui.ac.id

Abstrak

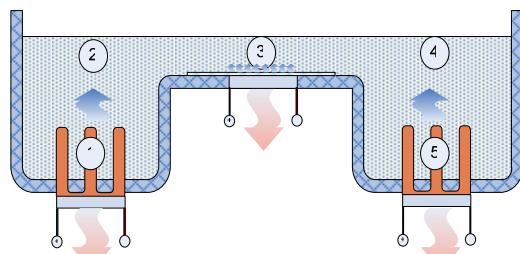
Aragose Gel Electrophoresis (AGE) merupakan suatu teknik analisis untuk pemisahan fragmen asam nukleat atau molekul protein menggunakan muatan listrik yang diaplikasikan pada suatu matrik jel agaros (Agarose Gel). Proses ini banyak digunakan dalam sejumlah penelitian dan uji diagnostik DNA dalam laboratorium mikrobiologi FKUI. Penggunaan muatan listrik yang cukup tinggi akan menimbulkan kalor dan sering mengakibatkan hasil fragmen pada jel jenis low melting tidak dapat diamati secara seksama. Penelitian ini memanfaatkan penggunaan Modul Termoelektrik (TE) sebagai alat pemompa kalor dengan model desain bersifat isolator yang dapat mencegah proses pelelehan jel pada suatu muatan tertentu. Penggunaan 3 modul TE pada model rancangan alat AGE mampu mencapai temperatur efektif sehingga dapat diperoleh penghematan waktu proses pemisahan fragmen hingga sekitar 25% serta penurunan konsentrasi campuran jel hingga 0,5%

Kata kunci : Agarose Gel Electrophoresis, Modul Termoelektrik

1. Pendahuluan

Penerapan teknologi perpindahan kalor dalam suatu proses perancangan dan pengembangan peralatan laboratorium kedokteran dan biologi menjadi topik riset yang sangat menarik dalam upaya mencapai efektifitas hasil analisis pada bidang tersebut. Aragose Gel Elektrophoresis (AGE) merupakan teknik analisis yang banyak digunakan dalam penelitian maupun uji diagnostik di bidang forensik, biologi molekuler, genetika, mikrobiologi dan biokimia. Alat ini berfungsi menganalisis berat molekul suatu fragmen asam nukleat atau protein. Dalam proses elektroforesis muatan arus listrik dialirkkan kedalam cairan *buffer*, dimana muatan listrik negatif (katode) akan bergerak membawa molekul-molekul mikro yang telah ditempatkan sebelumnya pada jel menuju muatan positif (anode). Untuk mempercepat proses migrasi fragmen maka perlu peningkatan muatan arus listrik agar pergerakan molekul tersebut dapat lebih cepat. Namun kendala yang timbul adalah temperatur *buffer* meningkat yang pada akhirnya mengakibatkan hasil migrasi fragmen tidak dapat diamati, karena struktur jel menjadi rusak atau bahkan meleleh. Untuk itu diperlukan sebuah alat pemompa kalor yang mampu menjaga temperatur jel, sehingga ketika proses elektroforesis dipercepat, temperatur jel diupayakan tetap stabil. Alat pemompa kalor yang digunakan adalah suatu modul termolektrik (TE), yang cukup kompak dan terdiri dari susunan semi konduktor (*Bishmuth Telluride*) untuk menghasilkan efek *Peltier*. (Nandy P, Harjo Tedjo 2005) dan (Nandy P, Rita Maria, 2006) telah melakukan penelitian penggunaan modul termoelektrik untuk pengembangan sistem pendingin kotak vaksin. Konsep ini menjadi dasar inspirasi untuk menggunakan modul TE pada proses AGE.

Gambar 1. memperlihatkan skema melintang dari alat AGE yang telah dipasangkan 3 modul TE serta posisi penempatan 5 termokopel untuk pengamatan temperatur kerja selama pengujian.



Gambar 1. Model desain AGE dengan modul TE serta posisi pemasangan 5 termokopel

Elektroforesis

Elektroforesis merupakan salah satu metode yang dilakukan untuk memisahkan molekul asam nukleat maupun protein. Asam nukleat tersebut dipisahkan berdasarkan ukurannya didalam medan listrik, biasanya di atas media solid (*Nicholl, D.S.T. 1984*). Sedangkan menurut (*Eknath et al 1991*), elektroforesis adalah teknik yang sangat berguna untuk mempelajari komposisi genetik individu dan populasi pada tingkat gen. Fenomena elektroforesis diartikan juga sebagai pergerakan molekul-molekul kecil yang dibawa oleh muatan listrik akibat adanya pengaruh medan listrik (*Boffey, S. 1986*). Pergerakan ini dapat dijelaskan dengan gaya *Lorentz*:

$$F = q E \quad (1)$$

Dengan F adalah gaya Lorentz, q adalah muatan yang dibawa oleh objek dan E adalah medan listrik. Pergerakan muatan listrik pada *buffer* menyebabkan timbulnya kalor. Besarnya kalor sebanding dengan daya yang digunakan pada proses elektroforesis dalam satuan daya. Distribusi kalor pada alat AGE yang tidak merata disebabkan karena faktor bentuk alat yang mengakibatkan perbedaan resistansi pada larutan *buffer*.

Hubungan antara panas yang ditimbulkan dengan kuat arus yang melewati konduktor dapat dinyatakan sebagai hukum pertama *Joule-Lenz* dan hukum *Ohm* sbb ;

$$Q = I^2 \cdot R \cdot t \quad (2)$$

$$\rho_1 = \frac{RA}{\ell} \quad (3)$$

$$\frac{\rho_0 - \rho_1}{\rho_0} = \alpha(T_0 - T_1) \quad (4)$$

dimana :

I = Kuat Arus [A]

; R = Tahanan *buffer* [Ω]

Q = Kalor yg dihasilkan [J]

; ρ_1 = Resistivity hasil pengukuran [$\Omega \cdot m$]

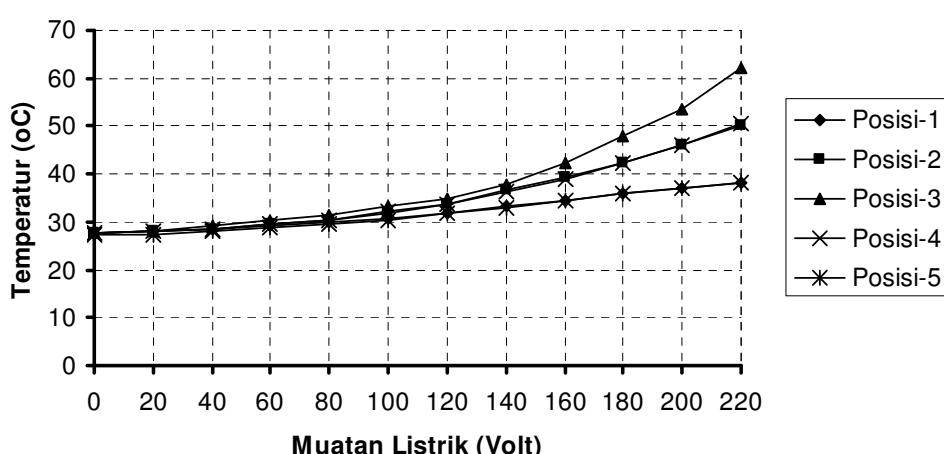
ρ_0 = Resistivity material [$\Omega \cdot m$]

; T_1 = Temperatur setelah dialiri listrik [$^{\circ}C$]

T_0 = Temperatur ruangan [$^{\circ}C$]

; α = Thermal resistivity coefficient [$^{\circ}C^{-1}$]

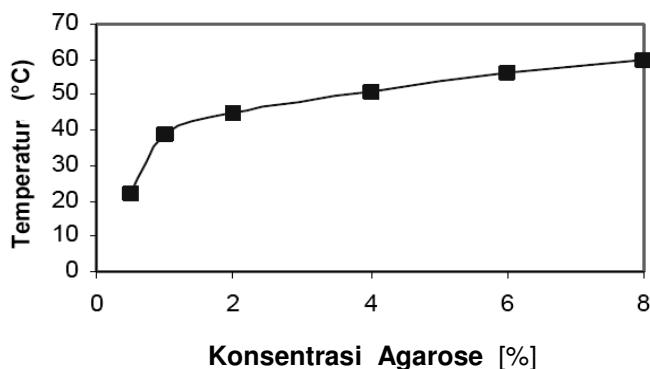
Peningkatan temperatur *buffer* sangat dipengaruhi oleh besarnya muatan listrik yang diinduksikan serta kecilnya tahanan yang dilaluinya. Gambar 2 memperlihatkan fenomena tersebut melalui pengukuran pada 5 posisi termokopel. Pada posisi 3 dimana tahanan larutan *buffer* persatu luas penampang bidang mempunyai nilai paling rendah dibandingkan posisi lainnya, akan mengakibatkan kenaikan temperatur yang cukup signifikan



Gambar 2. Peningkatan Temperatur *Buffer* untuk 5 Posisi Termokopel akibat Muatan Listrik

Gel System

Jel agarose digunakan sebagai media untuk menempatkan fragmen asam nukleat atau protein dengan cara memanaskan larutan (*buffer gel*) dan campuran serbuk jel agarose (6%). Setelah jel terbentuk (ukuran panjang x lebar x tebal = 10x5x0.5 mm) lalu direndam dalam larutan *Tris-Borate-Ethylenediamide tetraacetic acid/EDTA* (atau disebut *running buffer* terdiri dari campuran per liter air deionisasi dgn 100gr *Tris-base*, 55gr *boric acid* dan 40 ml 500mM *EDTA* pH 8,0). Model alat AGE dibuat dengan bahan dasar plat akrilik sebagai pengganti bahan kaca. Dalam suatu protocol eksperimentasi perbandingan antara larutan *buffer gel* dengan *running buffer* dapat disesuaikan dengan jenis agarose yang digunakan, dalam uji alat ini digunakan perbandingan sekitar 2 : 1, *Luke Alphey 1997*, serta *buffer gel* berupa larutan campuran air deionisasi dengan *etidium bromida* (10 mg/mL),



Gambar 3. Konsentrasi Agarose terhadap suhu leleh

Titik leleh gel dipengaruhi oleh besarnya konsentasi agarose dalam pelarut (air). Sebagai contoh untuk jenis *soft melting* (gel dengan titik leleh paling rendah), temperatur lelehnya terhadap konsentasi agarose dapat dilihat pada Gambar 3. Namun untuk menjadikan gel menggumpal sempurna konsentrasi minimal *agarose* dalam pelarut adalah 0,5%, dengan titik leleh terendahnya adalah 24°C. Sehingga untuk jenis gel ini tidak bisa dilakukan pada kondisi temperatur ruangan biasa sehingga konsentrasi agarose ditingkatkan sekitar diatas 1%. Buffer

Modul Termoelektrik

Modul termoelektrik (TE) adalah alat pemompa kalor yang bekerja dengan merubah beda potensial listrik menjadi perbedaan temperatur. Modul termoelektrik atau disebut juga dengan elemen peltier merupakan aplikasi alat yang bekerja berdasarkan efek *Peltier* atau kebalikan dari efek *Seebeck*. Efek *Peltier* bekerja ketika sebuah modul yang tersusun dari material semikonduktor tipe-n dan tipe-p dilewatkan arus searah, maka salah satu sisi sambungan semikonduktor tersebut akan menimbulkan panas dan sisi yang lain dingin. Besarnya energi dalam bentuk listrik yang diberikan merupakan kalor yang dilepas kelingkungan dikurangi dengan kalor yang diserap (*C. Reynolds et al 1977*) :

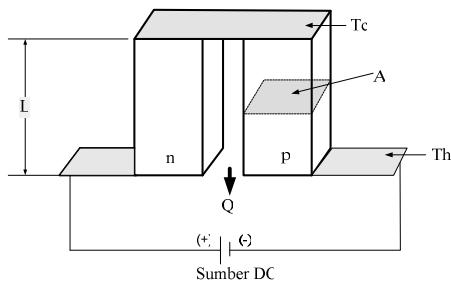
$$P_{in} = Q_h - Q_c \quad (5)$$

dimana :

P_{in} = Kalor akibat muatan listrik per satuan waktu [W/s]

Q_h = Kalor yang dilepaskan pada “hot side” elemen *Peltier* per satuan waktu [kJ]

Q_c = Kalor yang diserap pada “cool side” elemen *Peltier* per satuan waktu [kJ]



Gambar 4. Penampang Sambungan (Junction) pada modul TE

Kinerja suatu modul termoelektrik secara sederhana dinyatakan dalam bentuk skema pada Gambar 4 dan perhitungan panas yang dipompa pada permukaan dingin ;

$$Q_c = 2N \left(\alpha \Delta T_c - \frac{I^2 \rho}{2G} - k \Delta T G \right) \quad (6)$$

dengan :

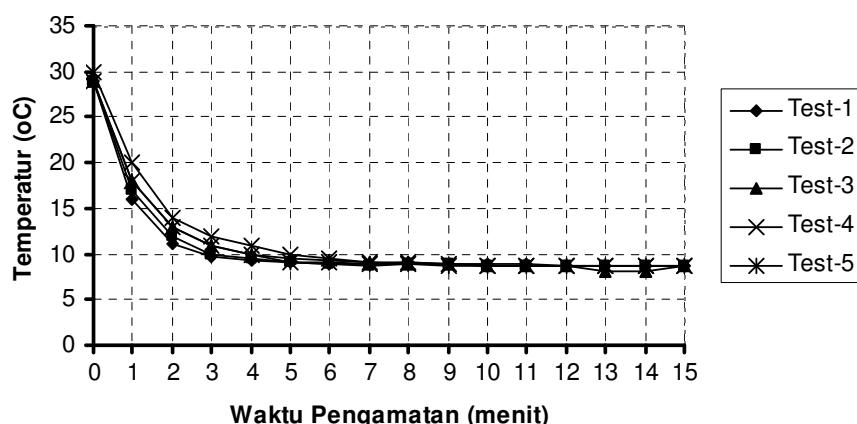
T_h	= Temperatur sisi panas	[°C]
T_c	= Temperatur sisi dingin	[°C]
ΔT	= $(T_h - T_c)$	[°C]
G	= A/L	[m]
N	= Jumlah junctions pada modul	
COP	= Coefficient of Performance	
α	= Koefisien Seebeck	[V/ °C]
k	= Konduktivitas thermal	[W/(m.°C)]

Untuk mengetahui kinerja suatu pendingin biasanya diukur melalui nilai COP yang besarnya :

$$COP = \frac{Q_c}{P_{in}} \quad \text{atau} \quad COP = \frac{Q_c}{Q_h - Q_c}$$

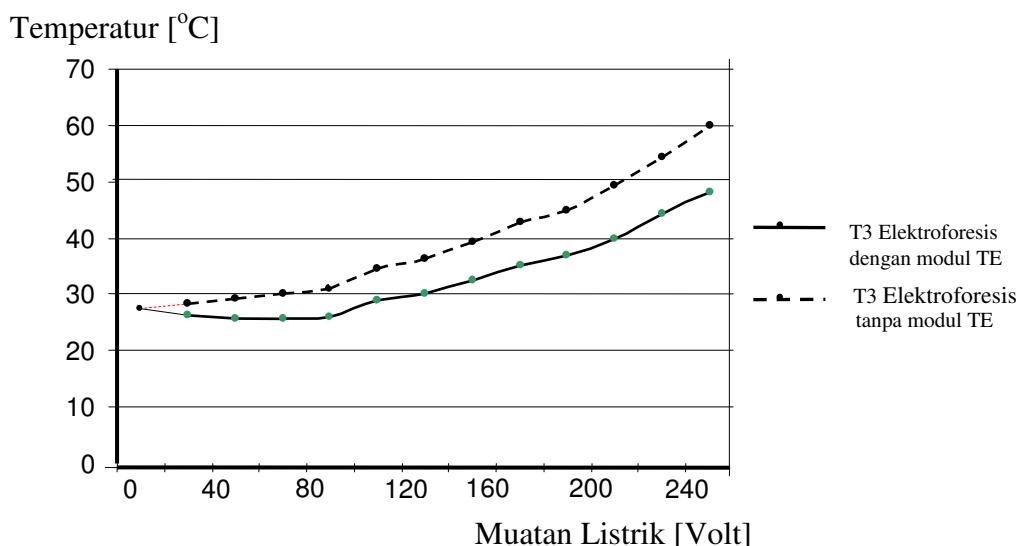
Pengujian Kinerja Modul TE

Berikut ini adalah data hasil 5 pengujian penurunan temperatur *buffer* (dititik 3 pd Gambar 1) ketika menggunakan modul termoelektrik yang diukur dengan daya konstan setiap menit untuk lama waktu 15 menit.



Gambar 5. Temperatur *running buffer* ketika menggunakan modul TE tanpa pemberian muatan listrik

Pengujian selanjutnya dilakukan dengan variasi tegangan dari 0 hingga 240 Volt arus searah. Untuk memberikan suatu gambaran peningkatan temperatur akibat pergerakan muatan listrik pada larutan elektrolit (*running buffer*). Pengujian dilakukan untuk mengetahui peningkatan temperatur akibat penambahan tegangan pada alat AGE dengan membandingkan menggunakan atau tanpa menggunakan modul TE.



Gambar 6. Peningkatan Temperatur untuk beberapa variasi tegangan pada lokasi Jel (titik3)

Dari grafik Gambar 6 menunjukkan bahwa temperatur titik 3 mengalami penurunan rata-rata sekitar 20% setelah menggunakan sistem pemompa kalor. Penurunan tersebut sangat mempengaruhi proses elektroforesis, karena pada titik 3 merupakan proses fragmen dan jel agarose ditempatkan. Titik leleh agarose jenis *extra low melting* mencapai sekitar 60°C pada tegangan 240 Volt. Pada temperatur tersebut seluruh jel akan meleleh ketika distribusi panas sudah cukup merata. Sebaliknya jika dilakukan pada suhu jauh dibawah suhu leleh maka hasil fragmen akan melengkung dan susah untuk diamati. Batas terbaik untuk jenis jel ini adalah pada sekitar 10°C dibawah suhu leleh. Sehingga berdasarkan grafik pada Gambar 6. pengujian seharusnya dapat dilakukan dengan muatan potensial listrik maks hingga 120 Volt, yaitu tegangan yang masih cukup aman untuk menjaga temperatur jel mendekati kondisi temperatur ruang (tanpa dan dengan modul TE). Pada proses AGE tanpa alat pemompa kalor akan menghasilkan pemisahan yang cukup baik pada konsentrasi agarose maks 0,75% (temperatur ruangan 27°C). Berbeda halnya ketika dipasang pemompa kalor, proses AGE dapat menggunakan konsentrasi agarose yang paling rendah (0,5%), kondisi ini mampu bertahan hingga penambahan tegangan mencapai sekitar 80 Volt.

2. Analisis

Perhitungan daya listrik, P [watt] menggunakan pers. hukum Ohm rangkaian listrik adalah sbb;

$$P = V \times I \quad [Watts] \quad (7)$$

$$W = \text{Integral} (P) dt \quad [Joules] \quad (8)$$

Dimana;

V = tegangan [Volt], dan I = kuat arus [Ampere]

Dari hasil pengujian proses elektroforesis tanpa perangkat pemompa kalor pada laboratorium mikrobiologi FKUI selama waktu 60 menit dengan pengaturan tegangan catu daya sekitar 100 Volt dan kuat arus sebesar 40 mA, serta dengan pers (7) dan (8) didapat hasil perhitungan pemakaian energi sbb :

$$W_I = 100 \times 0,04 \times 3600 = 14.400 \text{ Joule} = 14,4 \text{ [kJ]}$$

Penggunaan sistem pemompa kalor pada alat AGE memberikan pengurangan waktu proses elektroforesis dari 60 menit menjadi 45 menit dengan penambahan tegangan sekitar maks 120V, sehingga pemakaian enersi selama pengujian dapat dihitung sbb ;

$$W_2 = 120 \times 0,04 \times 2700 = 12.960 \text{ Joule} = 12,96 \text{ [kJ]}$$

Sedangkan konsumsi energi dari perangkat alat pemompa kalor yang dihitung pada tegangan catu daya 12 Volt serta kuat arus 5Amp adalah :

$$W_3 = 12 \times 5 \times 2700 = 162 \text{ [kJ]}$$

sehingga total enersi yang dibutuhkan untuk alat AGE dengan sistem pemompa kalor menjadi :

$$W_4 = W_2 + W_3 = 174,96 \text{ [kJ]}$$

Terjadi peningkatan kebutuhan enersi sebesar 1.250%

Dari hasil pengujian ternyata diperoleh waktu proses yang lebih singkat sekitar 15 menit dari yang waktu awal atau diperoleh perbedaan waktu sekitar 25 % lebih cepat.

Rasio efektifitas atau perbandingan benefit waktu yang dapat disingkat dengan peningkatan kebutuhan enersi dapat dihitung sbb;

$$R_{ef} = (25\%)/(1.250\%) = 0,02 \text{ atau } 2\%$$

3. Kesimpulan

- Penggunaan 3 modul TE ternyata dapat mempersingkat waktu proses AGE sekitar 25%.
- Proses dapat menggunakan jenis *low melting agarose gel* dengan konsentrasi paling rendah 0,5% dan bertahan hingga tegangan muatan listrik mencapai 80 Volt.
- Perbedaan waktu pendinginan media *buffer* sangat tergantung dari konsentrasi dan besarnya luasan bidang pendinginan permukaan jel agarose (dalam penelitian ini hanya sekitar 60% luas jel yang didinginkan)
- Dari ketiga penempatan modul TE pada model, ternyata daya yang paling besar dibutuhkan adalah pada penempatan dibawah jel (sekitar 50-65%), ini menunjukkan bahwa telah terjadi perpindahan kalor cukup signifikan pada bidang dengan tahanan listrik larutan *running buffer* terkecil.
- Enersi yang dibutuhkan untuk menjalankan modul TE ternyata cukup besar dibandingkan dengan enersi yang diserap untuk proses elektroforesis ($R_{ef}=2\%$). Sehingga kebutuhan enersi untuk suatu luasan proses elektroforesis ditinjau dari pertimbangan kebutuhan enersi dengan waktu proses yang dipersingkat masih diduga akan meningkat (R_{ef} akan menurun terhadap luasan pendinginan dalam proses elektroforesis).

Ucapan Terima kasih

Ucapan terima kasih disampaikan kepada manajemen dan tim peneliti dari *Institute of Human Virology and Cancer Biology of the University of Indonesia (IHVCB-UI)* atas bantuan konsultasi dan uji coba model prototipe AGE didalam laboratorium dengan tingkat keamanan setara dgn BSL-III (Bio-Safety Level III).

Daftar Pustaka :

1. Nicholl, D.S.T. 1984, *An Introduction to Genetic Engineering*, Cambridge University Press p. 21-29.
2. Eknath, A.E., J.M. Macaranas, R.R. Velasco, M.C.A. Ablan, M.J.R. pante, dan Pullin. 1991. Biochemical and Morphometric Aproaches to Caracterize Farmed Tilapia. *NAGA*.14(2): p 7-9.

3. Boffey, S. 1986. *Molecular Biology Techniques p153-196*, Wilson, K. and Goulding, K.H. (eds). A *Biologist's Guide to Principles and Techniques of Practical Biochemistry*. 3th ed. Ricahard Clay Ltd. Britain.1986.
4. C. Reynolds, Wiliam, C. Perkins, Henry, 1977. *Engineering Thermodynamics*. 2nd Edition. McGraw-Hill. Kogakusha.
5. Luke Alphey, *DNA Sequencing; from Experimental Method to Bioinformatics*, 1997, 1st ed., Springer-Verlag, NewYork Berlin Heidelberg, ISBN 981-3083-45-X.
6. Nandy Putra, Aziz Oktianto, Idam B, Fery Y, Penggunaan Heatsink Fan sebagai pendingin sisi panas Elemen Peltier Pada Pengembangan Vaccine carrier, *Jurnal Teknologi*, edisi No. 1 Tahun XXI, Maret 2007 ISSN 0215-1685.
7. Nandy Putra, Rita Maria Veranika, Danardono AS, Perancangan dan Pengembangan Produk Kotak Vaksin untuk daerah Pedalaman, *Seminar Nasional Tahunan Teknik Mesin V*, Universitas Indonesia, 21-23 November 2006, ISBN 979-977726-8-0.
8. Nandy Putra, Haryo Tedjo, RA Koestoer, Pemanfaatan Elemen Peltier Bertingkat dua pada aplikasi Kotak Vaksin, *Prosiding Seminar Nasional Tahunan Teknik Mesin IV*, 21-22 November 2005, ISBN 979-97158-0-6, Universitas Udayana, Bali, Indonesia.
9. Nandy Putra 2008, Design, Manufacturing and Testing of a Portable Vaccine Carrier Box Employing Thermoelectric Module and Heat Pipe, Accepted paper for publication in *Journal of Medical Engineering and Technology*.