

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Elektroforesis merupakan suatu cara analisis kimiawi yang didasarkan pada pergerakan molekul-molekul bermuatan di dalam medan listrik (titik isoelektrik). Pergerakan molekul dalam medan listrik dipengaruhi oleh bentuk, ukuran, dan besar muatan dari molekul. Metode pemisahan *Gel Electrophoresis System* merupakan salah satu metode yang murah dan mudah untuk dikembangkan. Metode ini biasanya digunakan untuk pemisahan DNA dan protein. Pergerakan molekulnya sendiri tergantung pada beberapa faktor, yaitu : massa, bentuk molekul dan suhu, porositas dan viskositas media (Raju & Reddy, 2012).

Elektroforesis melalui gel *agarose* merupakan teknik pemisahan yang sederhana, cepat dan tepat dalam memisahkan molekul yang diinginkan, biasanya digunakan untuk memisahkan fragmen DNA. Fragmen terdeteksi oleh pewarnaan gel dengan pewarna *intercalating, Ethidium Bromide*, diikuti oleh visualisasi/ fotografi di bawah sinar UV (David, 2011).

Elektroforesis asam nukleat dapat dideteksi dengan pewarnaan dan divisualisasikan di bawah sinar UV dengan panjang gelombang 300 nm. *Ethidium Bromide* (EtBr) adalah pewarna yang paling umum digunakan untuk visualisasi DNA pada gel *agarose* (Sharp, et al., 1973). Ketika terpapar sinar UV, elektron dalam cincin aromatik molekul *Ethidium* diaktifkan, yang mengarah pada

pelepasan energi (cahaya) ketika elektron kembali ke keadaan dasar. EtBr bekerja dengan menginterkalasi dirinya sendiri dalam molekul DNA (Prieto, et al., 2014).

EtBr merupakan *biohazard* yang serius karena bersifat mutagenik, karsinogenik, dan teratogenik. EtBr juga dapat diserap melalui kulit dan dapat mengiritasi mata, mulut, dan saluran pernapasan bagian atas (Saeidnia & Abdollahi, 2013). Selain itu, EtBr dianggap sebagai limbah berbahaya dan harus dibuang dengan tepat. Sedangkan pewarna lain seperti SYBR *gold* dan SYBR *green* keduanya sangat sensitif. Walaupun kedua pewarna ini memiliki toksisitas yang lebih rendah dari EtBr, tetapi mereka jauh lebih mahal (Lee, et al., 2012).

Saat ini, banyak sekali pewarna yang lebih aman dan dapat digunakan untuk mewarnai DNA, seperti *GelRed*, *peqGREEN*, *PicoGreen* dan DAPI yang sudah banyak digunakan pada laboratorium. Masing-masing pewarna tersebut memiliki sensitivitas dan gambaran hasil yang berbeda pula dalam mewarnai DNA hasil elektroforesis pada gel agarose. Misalnya pada pewarna *GelRed*, sensitivitas pewarna yang diberikan lebih tinggi dibanding EtBr dan dengan tingkat toksisitas dan mutagenik yang sangat rendah (Crisafuli, et al., 2015). *Hematoxylin* dan *Methylene Blue* yang merupakan pewarna histokimia juga ternyata dapat digunakan untuk mewarnai DNA dengan prinsip pewarna basa akan mewarnai struktur asam pada jaringan termasuk DNA/RNA yang bermuatan asam (Junqueira, et al., 2007; Chemistry, 2006).

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka penulis mengajukan penelitian mengenai “Gambaran Berbagai Pewarna DNA dalam Mewarnai DNA Hasil Elektroforesis pada *Gel Agarose*”

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, maka rumusan masalah penelitian ini adalah : Bagaimana gambaran berbagai macam pewarna DNA dalam mewarnai DNA hasil elektroforesis pada gel *agarose*?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui gambaran berbagai macam pewarna DNA dalam mewarnai DNA hasil elektroforesis pada gel *agarose*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1. Manfaat Teoritis

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang gambaran berbagai macam pewarna DNA dalam mewarnai DNA hasil elektroforesis pada gel *agarose*.

1.4.2 Manfaat Praktis

Memberikan informasi kepada mahasiswa Analisis Kesehatan mengenai alternatif pewarnaan DNA yang tidak berbahaya ketika melakukan elektroforesis pada gel *agarose*.