

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Penggunaan pemeriksaan berbasis molekuler di laboratorium telah dimulai sejak 20 tahun yang lalu dengan kemampuan mendeteksi adanya fragmen DNA spesifik pada patogen yang meliputi teknik amplifikasi fragmen DNA yang dikenal dengan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) yang merupakan metode *in vitro* untuk amplifikasi fragmen DNA secara enzimatik yang diperkenalkan pada tahun 1985 (Lo dan Chan 2006). Proses PCR merupakan proses siklus yang berulang meliputi tahap pertama denaturasi, kedua *annealing*, ketiga ekstensi (Mohini dan Deshpande, 2011). Setelah dilakukannya proses PCR maka selanjutnya produk PCR dilakukan analisis dengan menggunakan elektroforesis gel *agarose*.

Elektroforesis merupakan suatu cara analisis kimiawi yang didasarkan pada pergerakan molekul-molekul bermuatan di dalam medan listrik (titik isoelektrik). Beberapa faktor yang dapat memengaruhi pergerakan molekul DNA dalam suatu gel yaitu: massa molekul, bentuk molekul, suhu dan konsentrasi gel. Setelah tahapan proses elektroforesis ini dilakukan, maka DNA harus divisualisasikan menggunakan zat pewarna, salah satunya ialah menggunakan zat pewarna Etidium bromida (Reddy, Raju, 2012).

Etidium bromida atau biasa disingkat dengan EtBr (Inggris=*Ethidium Bromide*) merupakan suatu agen interkalasi yang digunakan sebagai pewarna.

Pewarna ini mengandung fluoresen sehingga dapat digunakan untuk mewarnai asam nukleat (DNA maupun RNA) dengan prinsip kerjanya yaitu interkalasi dimana pewarna ini menyisip dan mengikat di antara basa nukleotida kemudian diiluminasi dengan UV, warna fluoresen yang muncul adalah merah atau oranye. Zat pewarna EtBr ini memiliki sifat mutagen dan karsinogen. Selain itu, EtBr juga dianggap sebagai limbah berbahaya dan harus dibuang dengan benar.

Untuk menghindari bahaya karsinogeniknya, terdapat beberapa alternatif zat pewarna lainnya untuk pewarnaan DNA dalam gel *agarose* selain EtBr yaitu SYBR Gold dan SYBR *green*, keduanya sangat sensitif tergantung zat warna dengan toksisitas yang lebih rendah daripada EtBr namun mereka jauh lebih mahal (Lee, Custombrado, Chih-Yuan, & Kim, 2012). Di samping zat pewarna alternatif tersebut, pada studi literatur yang dilakukan oleh Rifa Fadriani Nafisah (2020) membahas mengenai gambaran berbagai pewarna DNA dalam mewarnai DNA hasil elektroforesis pada gel *agarose* terdapat 5 jenis pewarna, yaitu *peqGREEN* 60.000x memiliki hasil visualisasi fragmen DNA yang baik (Artati dan Dini, 2017), *GelRed* konsentrasi 100x yang paling baik dalam mewarnai DNA dan dapat menentukan fragmen DNA secara akurat (Huang, et al., 2010) *Hematoxylin* pada konsentrasi 0,01% belum dapat memberikan hasil warna yang optimal (Abdullah, 2019), *Methylene Blue* pada konsentrasi 0,0125% dengan lama kontak 25 menit memiliki hasil yang optimal (Winarti, 2017), dan yang kelima adalah *PicoGreen* dengan konsentrasi tinggi menyebabkan perubahan panjang kontur DNA (Japaridze, et al., 2015).

Hasil penelitian yang dilakukan oleh Piereto, dkk (2015), *Methyl green* atau CI 42585 adalah zat pewarna histologi dengan muatan positif yang mana dalam gel elektroforetik, senyawa zat warna tersebut masuk ke dalam pasangan basa DNA sehingga memberikan efek stabilisasi pada struktur DNA double heliks, pewarna tersebut dapat memberi label DNA dengan cara yang mirip dengan etidium bromida, dengan harga yang relatif murah, tidak beracun, sangat stabil dalam larutan dan sangat tahan terhadap photobleaching ketika terikat pada DNA (Prieto et al., 2015).

Berdasarkan latar belakang tersebut peneliti bermaksud melakukan penelitian mengenai “Gambaran Visualisasi DNA Hasil Elektroforesis Gel *Agarose* pada Berbagai Variasi Konsentrasi *Methyl Green*”. Gambaran tersebut bermaksud untuk membuktikan kemampuan pewarna *Methyl green* dalam berinterkalasi dengan DNA yang digunakan sebagai alternatif pengganti pewarna EtBr dalam memvisualisasikan DNA hasil elektroforesis *agarose*.

## **1.2 Rumusan Masalah**

Berdasarkan uraian pada latar belakang diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah: Bagaimana gambaran visualisasi DNA hasil elektroforesis gel *agarose* pada berbagai variasi konsentrasi *Methyl green*?”

## **1.3 Tujuan Penelitian**

Mengetahui gambaran visualisasi DNA elektroforesis gel *agarose* pada berbagai variasi konsentrasi *Methyl green*.

#### 1.4 Manfaat Penelitian

Berdasarkan tujuan penelitian, maka manfaat penelitian yang dapat diperoleh adalah:

1. Menjadi bahan rekomendasi untuk penggunaan *Methyl green* sebagai bahan alternatif pewarnaan DNA
2. Dapat memberikan informasi mengenai gambaran hasil visualisasi DNA hasil elektroforesis gel *agarose* pada berbagai variasi konsentrasi *Methyl green*
3. Dapat memberikan manfaat bagi kesehatan khususnya dalam bidang biologi molekuler
4. Memberikan informasi yang mungkin bisa digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut