Research Week 2020

OPTIMASI GELRED SEBAGAI PEWARNA DNA DALAM BIOLOGI MOLEKULER

Erick Sidarta, S.Si. M. Biomed, 0301048504/1017014, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara
Dr. dr. Arlends Chris, M. Si, 0321037701/10405005, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara
dr. Sari Mariyati Dewi, 0319037301/10402001, Fakultas Kedokteran, Universitas Tarumanagara

Pendahuluan

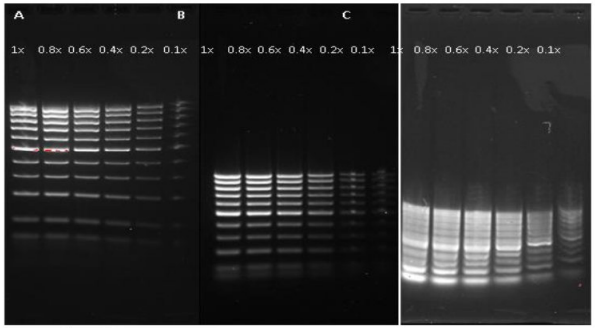
Pewarnaan DNA merupakan sebuah proses yang penting dalam elektroforesis gel agarosa. Proses ini memungkinkan penggunanya untuk melihat asam deoksiribonukleotida (DNA) yang diinginkan setelah berbagai proses seperti proses amplifikasi oleh teknik polymerase chain reaction (PCR), hasil restriction fragment length polymorphism (RFLP) dengan menggunakan enzim restriksi endonuklease dan sebagainya. Pewarna DNA yang umum digunakan dalam proses tersebut adalah ethidium bromide yang memiliki karakterisik sebagai mutagenik. Pewarna DNA Gelred merupakan alternatif baru dari ethidium bromide yang memiliki tingkat keamanan yang baik untuk penggunanya. Akan tetapi, sebagai imbas dari keunggulan produk baru tersebut perlu adanya optimasi dalam penggunaan pewarna baru tersebut.

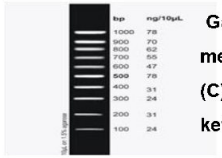
Metode

Agarosa, dengan buffer yang berbeda, yaitu TBE dan TAE, serta konsentrasi agarose yang berbeda, dicetak dan dielektroforesis dengan menggunakan tiga Teknik yang berbeda, yaitu pre-cast, pre-staining dan post-staining.

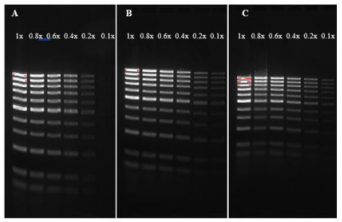
Hasil dan Pembahasan

Gelred yang ditambahkan ke dalam agarosa akan membentuk matriks pemisahan yang pada setiap bagian matriksnya terdapat molekul tersebut. Hal ini mengakibatkan interkalasi yang kuat antara DNA yang melalui matriks berisi Gelred tersebut sehingga terjadi retardasi migrasi DNA yang berlebihan

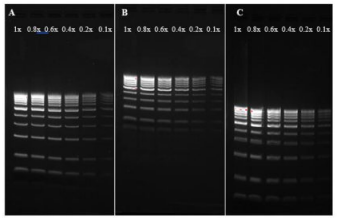




Gambar 1. Hasil elektroforesis: (A) 2% agarose metode pre-cast, (B) 1% agarose metode pre-cast, (C) 2% agarose metode post-staining, (D) keterangan DNA Ladder yang digunakan.



Gambar 2. Elektroforesis DNA ladder pada 2% agarosa dengan metode pre-loading/pre-staining menggunakan buffer TAE: (A) tanpa pengenceran Gelred, (B) 50X pengenceran Gelred, (C) 100X pengenceran Gelred.



Gambar 3. Hasil elektroforesis DNA ladder pada menggunakan buffer TBE: (A) 2% agarosa metode pre-cast, (B) 1% agarosa metode pre-cast, (C) 2% agarosa metode pre-loading/pre-staining dengan 100X pengenceran Gelred.

Kesimpulan

Pewarna DNA Gelred merupakan alternatif baru dari ethidium bromide yang memiliki tingkat keamanan yang baik untuk penggunanya. Akan tetapi, sebagai imbas dari keunggulan produk baru tersebut perlu adanya optimasi dalam penggunaan pewarna baru tersebut. Dalam penelitian ini nampak bahwa penggunaan Gelred memiliki kelembahan karena dapat mengubah pola migrasi DNA dan pola migrasi tersebut dipengaruhi oleh jenis buffer yang digunakan, konsentrasi agarosa, ukuran DNA, konsentrasi DNA dan metode yang digunakan (pre-cast, post-staining atau pre-loading/pre-staining). Metode terbaik untuk mendapatkan hasil visualisasi yang tajam adalah metode pre-cast dengan kelemahannya adalah perlunya optimasi konsentrasi agarosa, ukuran DNA dan konsentrasi yang digunakan. Sementara itu metode yang paling stabil untuk digunakan adalah metode pre-loading/pre-staining dengan kelemahan visualisasi pita DNA yang dihasilkan tidak setajam metode pre-cast. Buffer terbaik menurut penelitian ini adalah buffer TAE yang dapat memberikan perbedaan yang jelas untuk visualisasi pita DNA dengan ukuran dari 100 -1000 bp.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kepada LPPM yang telah mendanai penelitian ini.

Referensi (Arial 28 Bold)

Borst, P. (2005). Ethidium DNA agarose gel electrophoresis: How it started. IUBMB Life (International Union of Biochemistry and Molecular Biology: Life), 57(11), 745–747.

GelRed® & GelGreen® - DNA Stains | EtBr Alternatives | Biotium, Inc. (n.d.). Retrieved February 22, 2020,

Kontak : ericksi@fk.untar.ac.id

PEN