

Optimasi RedSafe Nucleic Acid Staining solution dengan Menggunakan Metode Elektroforesis

Attahiyatul Husnia^{1*}, Dwi Hilda Putri¹, Ira Wahyuni²

¹Departemen Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Padang, Sumatera Barat

² Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Padang, Sumatera Barat

*Corresponding author: attahiyatulh@gmail.com

ABSTRACT

Nucleic acid staining is an important step in DNA analysis using agarose gel electrophoresis. Traditional dyes such as ethidium bromide are widely used, but they have toxic and carcinogenic properties. RedSafe Nucleic Acid Staining Solution is a safer and more environmentally friendly dye alternative. This study aims to optimize the use of RedSafe in the electrophoresis process to ensure efficient DNA visualization results. The method used is: electrophoresis. The results of this study show that the GAPDH primer in the forward 5'CATCATCCCTGCCTCTACTG3' sequence has unclear band visualization results and the 5'CCAAATTGCTTGTCATACCAG3' reverse sequence has clear band visualization results.

Keywords : *Redsafe Nucleic Acid Staining Solution, Optimization, GAPDH (Gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase), Elektroforesis*

ABSTRAK

Pewarnaan asam nukleat merupakan langkah penting dalam analisis DNA menggunakan elektroforesis gel agarose. Pewarna tradisional seperti ethidium bromide banyak digunakan, tetapi memiliki sifat toksik dan karsinogenik. RedSafe Nucleic Acid Staining Solution adalah alternatif pewarna yang lebih aman dan ramah lingkungan. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan penggunaan RedSafe dalam proses elektroforesis untuk memastikan hasil visualisasi DNA yang efisien. Metode yang digunakan yaitu: elektroforesis. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa primer GAPDH pada sekuens forward 5'CATCATCCCTGCCTCTACTG3' memiliki hasil visualisasi pita yang kurang jelas dan sekuens reverse 5'CCAAATTGCTTGTCATACCAG3' memiliki hasil visualisasi pita yang jelas.

Kata kunci : *RedSafe Nucleic Acid Staining Solution, Optimasi, GAPDH (Gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase), Elektroforesis*

PENDAHULUAN

Analisis DNA merupakan langkah fundamental dalam biologi molekuler untuk mempelajari struktur, fungsi, dan keberadaan molekul DNA. Pewarnaan DNA adalah proses penting dalam teknik elektroforesis agarose, yang memungkinkan visualisasi fragmen DNA setelah migrasi. Elektroforesis adalah teknik laboratorium yang digunakan untuk memisahkan dan menganalisis molekul bermuatan seperti DNA, RNA, dan protein berdasarkan ukuran dan muatan listriknya dengan menerapkan medan listrik, menyebabkan molekul bermigrasi melalui matriks gel pada tingkat yang bervariasi (Avinash *et al.*, 2024). Pergerakan molekul dalam medan listrik dipengaruhi oleh beberapa faktor, seperti lama elektroforesis, bentuk dan ukuran DNA, besar muatan listrik dan sifat kimia dari molekul (Ramadanti & Putri, 2019).

Salah satu pewarna yang mampu berinterkalasi dengan DNA yang sering dipakai di laboratorium DNA adalah *ethidium bromide* (EtBr). *Ethidium bromide* merupakan senyawa yang populer digunakan karena harganya yang murah, stabil dan memiliki sensitivitas yang tinggi dalam proses visualisasi DNA. *Ethidium bromide* (EtBr) merupakan mutagen karena dapat berinterkalasi dengan DNA utas ganda yang terdapat pada manusia. Adanya interkalasi tersebut dapat mengakibatkan gangguan dalam proses biologis dari suatu sel seperti replikasi DNA dan transkripsi (Lee *et.al.*, 2012).

Sekarang ini, telah banyak alternatif dari *ethidium bromide* yang dapat digunakan untuk visualisasi hasil elektroforesis DNA seperti FAST BLAST (Choi *et al.*, 2010), SYBRSAVE (Scientific, n.d.), GELRED, GELGREEN (Haines *et al.*, 2015) dan Redsafe Nucleic Acid Solution. *RedSafe Nucleic Acid Staining Solution* adalah pewarna non-toksik yang dirancang sebagai alternatif *ethidium bromide* (EtBr). *RedSafe* berikatan dengan DNA dan memancarkan fluoresensi saat terkena sinar UV, tetapi tidak memiliki sifat karsinogenik, sehingga lebih aman untuk pengguna dan lingkungan. Studi menunjukkan bahwa *RedSafe* memiliki sensitivitas yang sebanding dengan EtBr, tetapi dengan risiko kesehatan yang lebih rendah (Kim *et al.*, 2010). Selain itu, kompatibilitas *RedSafe* dengan

gel agarose dan *buffer* standar menjadikannya pilihan yang ideal untuk aplikasi laboratorium rutin.

Berdasarkan yang telah dipaparkan sebelumnya, *redsafe* merupakan alternatif yang menarik untuk digunakan selain *ethidium bromide*. Maka dilakukan penelitian optimisasi *redsafe* nucleic acid solution menggunakan metode elektroforesis. Penelitian ini bertujuan untuk mengoptimalkan penggunaan RedSafe dalam proses elektroforesis untuk memastikan hasil visualisasi DNA yang efektif dan efisien. serta untuk mengoptimalkan penggunaan RedSafe dalam proses elektroforesis.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilaksanakan pada tanggal 01 Juli - 01 Agustus 2024 di Laboratorium Biomedik, Fakultas Kedokteran, Universitas Andalas, Kota Padang, Sumatera Barat. penelitian ini adalah deskriptif kuantitatif. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah Elektroforesis.

1. Sampel

Sampel yang digunakan adalah GAPDH (Gliseraldehida-3-fosfat dehidrogenase), pada sekuens forward 5'CATCATCCCTGCCTCTACTG3' dan sekuens revers 5'CCAAATTGCTTGTCATACCAG3'.

2. Elektroforesis dengan metode *pre-cast (pre-staining)*

- a) Membuat agar atau media gel elektroforesis dengan melarutkan 50 ml agar ke dalam erlenmeyer dengan 100 ml larutan TBE. Larutan dipanaskan dalam *microwave* selama 1-2 menit hingga agarosa benar-benar larut.
- b) Larutan yang sudah di *microwave* ditambahkan dengan 5 µl *redsafe* kemudian dihomogenkan dan dituang ke dalam wadah dengan sisir yang telah ditentukan, memastikan wadah tidak miring. Selanjutnya, larutan agarosa dibiarkan dingin dan gel nya memadat.

- c) Selanjutnya, agarosa yang sudah memadat di letakkan ke alat elektroforesis lalu pastikan gel agarosa terendam sepenuhnya dengan larutan TBE.
- d) Menyiapkan sampel GAPDH-F yang akan dielektroforesis sebanyak 5 μ l. Masukkan sampel dengan cara dipipet ke dalam sumur gel agarose. Pastikan sumur gel agarose tidak tertusuk dengan mikropipet agar hasil elektroforesis tidak terganggu.
- e) Menghidupkan alat elektroforesis dengan volt sebesar 100 volt selama 1 jam. Selanjutnya, klik run.
- f) Hasil elektroforesis dapat dilihat di Transiluminator UV dan di foto.

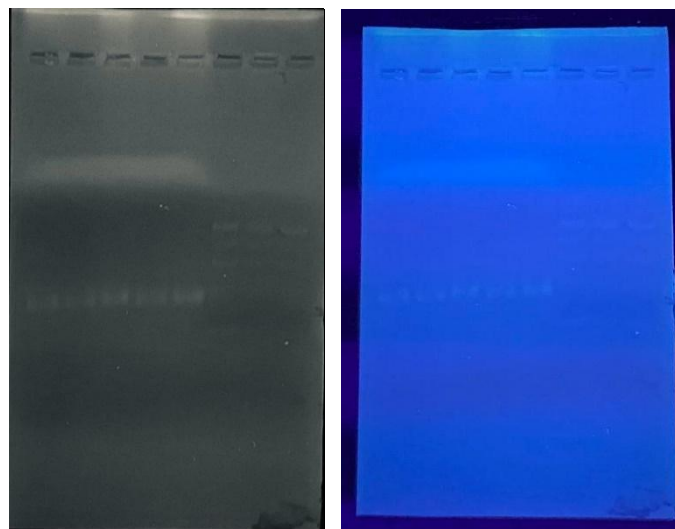
3. Elektroforesis dengan metode *post-staining*

- a) Melarutkan 50 ml agar ke dalam erlenmeyer dengan 100 ml larutan TBE. Larutan dipanaskan dalam microwave selama 1-2 menit hingga agarosa benar-benar larut. Kemudian agar didinginkan pada suhu ruang dan dituang ke dalam wadah dengan sisir yang telah ditentukan, memastikan wadah tidak miring. Selanjutnya, larutan agarosa dibiarkan dingin dan gel nya memadat.
- b) Selanjutnya, agarosa yang sudah memadat di letakkan ke alat elektroforesis lalu pastikan gel agarosa terendam sepenuhnya dengan larutan TBE.
- c) Memasukkan sampel GAPDH-R sebanyak 5 μ l dengan cara dipipet ke dalam sumur gel agarose. Pastikan sumur gel agarose tidak tertusuk dengan mikropipet agar hasil elektroforesis tidak terganggu.
- d) Menghidupkan alat elektroforesis dan dibiarkan selama 1 jam hingga prosesnya selesai.
- e) Melarutkan RedSafe sebanyak 10 μ l di buffer TBE, mengeluarkan agar dari alat elektroforesis dan merendamnya selama 30 menit.
- f) Selanjutnya, hasil elektroforesis dapat dilihat di Transiluminator UV dan di foto.

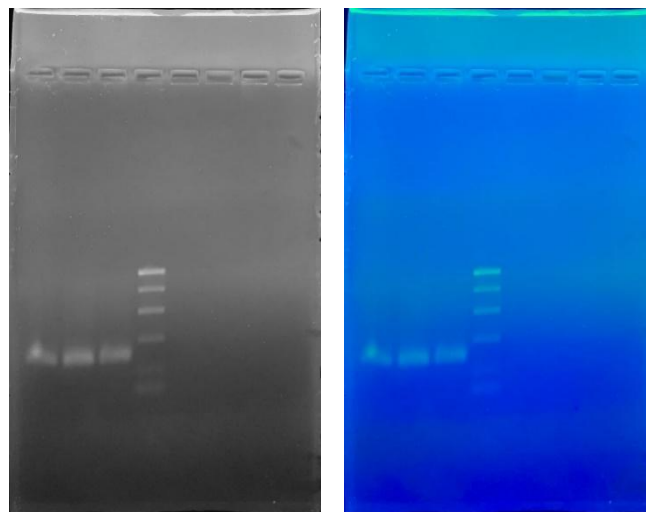
HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan optimasi terhadap *RedSafe Nucleic Acid Staining Solution* dengan menggunakan metode elektroforesis. Dalam penggunaan *RedSafe Nucleic*

Acid Staining Solution untuk visualisasi DNA atau RNA pada gel agarosa, terdapat dua metode utama: *pre-cast (pre-staining)* dan *post-staining*. Metode *pre-cast* melibatkan penambahan *RedSafe* langsung ke dalam larutan agarosa sebelum gel dicetak. Sehingga dalam pengerjaannya tidak memerlukan waktu yang lama karena pewarnaan dan elektroforesis terjadi bersamaan. Sedangkan, metode *post-staining* dilakukan dengan merendam gel dalam larutan *RedSafe* setelah elektroforesis selesai. Elektroforesis dengan metode *post-staining* dapat menghemat pewarna, karena larutan dapat digunakan kembali (jika disimpan dengan benar).



Gambar 1. . Hasil Elektroforesis (GAPDH-F)



Gambar 2. Hasil Elektroforesis (GAPDH-R)

Berdasarkan kerja praktek yang telah dilakukan, hasil elektroforesis pada sekuens *forward* 5'CATCATCCCTGCCTCTACTG3' memiliki hasil visualisasi pita yang kurang tajam atau jelas dan sekuens *reverse* 5'CCAAATTGCTTGTGCATACCAG3' memiliki hasil visualisasi pita yang tajam atau jelas. Seperti yang terlihat pada gambar diatas. Pada gambar 1 dapat dilihat bahwa hasil elektroforesis dengan metode *pre-cast (pre-staining)* menghasilkan visualisasi yang kurang tajam. Hal ini dapat disebabkan karena *RedSafe* yang terdistribusi merata dalam gel yang menyebabkan latar belakang fluoresensi tinggi, sehingga dapat mengurangi kontras visual dan penggunaan lebih banyak pewarna karena seluruh gel mengandung *RedSafe*, meskipun hanya bagian tertentu yang memiliki DNA/RNA. Sedangkan, pada gambar 2 dapat dilihat hasil elektroforesis dengan metode *post-staining* yang menghasilkan visualisasi tajam atau jelas. Hal ini dapat disebabkan karena pewarna hanya mengikat DNA/RNA sehingga menghasilkan kontras yang lebih tinggi dan latar belakang fluoresensi rendah.

Adapun faktor-faktor yang dapat mempengaruhi hasil visualisasi elektroforesis seperti penyimpangan gradien tegangan, diskontinuitas kekuatan ion dan pH, aliran elektroosmotik, dan tidak homogenan termal. Penggunaan tegangan listrik dalam elektroforesis gel perlu diperhatikan, karena tegangan listrik yang terlalu besar dapat mengakibatkan panas yang dapat mengubah bentuk fragmen DNA. Tegangan listrik yang terlalu besar dapat menyebabkan terjadinya *smile effect*. Hal ini bisa disebabkan karena kepadatan gel yang tidak sempurna, sehingga gel menjadi rusak. *Smile effect* dapat terjadi karena beberapa faktor, di antaranya kepadatan gel agarose yang tidak merata (tidak seragam), adanya kotoran dalam gel agarosa dan perubahan arah medan Listrik (Cramer & Westermeier, 2012).

KESIMPULAN

Berdasarkan kerja praktek yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa dari optimasi *RedSafe* menggunakan metode elektroforesis didapatkan hasil yang optimal pada sampel GAPDH sekuens refers 5'CCAAATTGCTTGTGCATACCAG3' memiliki

hasil elektroforesis dengan metode post-staining dengan visualisasi yang jelas. Dimana, Redsafe yang digunakan sebanyak 10 µl dengan 50 ml agarosa. Sedangkan pada sekuens forward 5'CATCATCCCTGCCTCTACTG3' memiliki hasil elektroforesis dengan metode pre-staining dengan visualisasi yang kurang jelas, dengan Redsafe yang digunakan sebanyak 5 µl dan 50 ml agarosa.

DAFTAR PUSTAKA

- Avinash, Singh., Deepika, Dhruve, Singh 2024, 'Electrophoresis'. [doi: 10.58532/nbennurbich6](https://doi.org/10.58532/nbennurbich6)
- Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H 2012, 'Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. Journal of Visualized Experiments, 62'. <https://doi.org/10.3791/3923>
- Choi, H. J., Ko, M., & Ahn, J. H 2010, 'DNA fingerprinting using PCR: a practical forensic science activity'. 43(1), pp. 41–44. <https://doi.org/10.1080/00219266.2008.9656148>.
- Haines, A. M., Tobe, S. S., Kobus, H. J., & Linacre, A 2015, 'Properties of nucleic acid staining dyes used in gel electrophoresis. Electrophoresis, 36(6), pp. 941–944. <https://doi.org/10.1002/ELPS.201400496>.
- Kim, S., et al 2010, 'A novel safe nucleic acid staining solution for gel electrophoresis. BioTechniques', 49(5), pp. 845-849.
- Ramadanti, N. A., & Putri, D. H. (2019). The Effect of Polyacrilamide Gel Electrophoresis Duration on separation of Cassava SSR PCR Fragments. *Bioscience*, 3(1), 14–19.