

Perakitan Mandiri PCR Sederhana Untuk Pembelajaran Amplifikasi DNA *In Vitro*

Tanto Budi Susilo*¹, Tiara Elma¹, Oni Soesanto², Dewi Sri Susanti³, Sutomo⁴, Badruzaufari⁵, Arfan Eko Fahrudin⁶, Yuyun Hidayat⁷, Lalu Rudyat Telly Savalas⁸

¹Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

²Program Studi Matematika Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

³Statistika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

⁴Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

⁵Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

⁶Fisika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung Mangkurat

⁷Jurusan Statistika, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Padjadjaran,

⁸Program Studi Kimia, FKIP, Universitas Mataram

Penulis korespondensi: tbsusilo@ulm.ac.id

Received: 20 Februari 2024 / Accepted: 26 Februari 2024

Abstract

In the last two decades, Polymerase Chain Reaction (PCR) is a method used in the science education curriculum, especially closely related to bioinformatics courses in biological sciences, chemistry, pharmacy, physics, statistics, and mathematics. This method is a tool capable of amplifying DNA outside the cell (*in vitro*). The principle of the PCR method is to measure the activity of the DNA polymerase enzyme with DNA amplification indicators *in vitro*. Meanwhile, the assembly uses a heating element, electric current regulator and chamber. This tool is assembled in the Organic and Biochemistry Laboratory, Chemistry Study Program, Faculty of Mathematics and Natural Sciences (FMIPA), Universitas Lambung Mangkurat (ULM). For validation of the PCR method, the assembly used *cox* mtDNA fragments of kichung fish (*Channa lucius*) and have practiced by 5th semester students of the Chemistry and Mathematics Study Program. Elaboration with the Structural Equation Modeling (SEM) method was used to determine student perceptions of this simple PCR tool. Furthermore, a total of 48 students responded to the assembly of simple PCR tools. The results were respondents really understood (9.70%), understood (75.72%), less understood (14.58%) and did not understand (0%). So that the assembly of this simple PCR tool is expected to be an alternative for strengthening the science education curriculum.

Keywords: PCR, DNA polymerase

Abstrak

Pada dua dekade terakhir, *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan suatu metode yang digunakan dalam kurikulum pendidikan sains terutama terkait erat dengan matakuliah bioinformatika pada sains biologi, kimia, farmasi, fisika, statistika, dan matematika. Metode ini berupa alat yang mampu mengamplifikasi DNA secara luar sel (*in vitro*). Prinsip metode PCR adalah mengukur aktivitas enzim DNA *polymerase* dengan indikator amplifikasi DNA secara *in vitro*. Sedangkan, perakitan menggunakan elemen pemanas, regulator arus listrik dan *chamber*. Alat ini dirangkai di Laboratorium Organik dan Biokimia, Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Lambung Mangkurat (ULM). Untuk validasi metode PCR rakitan menggunakan fragmen *cox* mtDNA ikan kichung (*Channa lucius*) dan telah dipraktekkan oleh mahasiswa semester 5 Program Studi kimia dan matematika. Elaborasi dengan metode *Structural Equation Modelling* (SEM) digunakan untuk mengetahui persepsi mahasiswa terhadap alat PCR sederhana ini. Selanjutnya, sebanyak 48 mahasiswa memberikan respon terhadap perakitan alat PCR sederhana. Hasilnya adalah responden sangat mengerti (9,70%), mengerti (75,72%), kurang mengerti (14,58%) dan tidak mengerti (0%). Sehingga perakitan alat PCR sederhana ini diharapkan menjadi alternatif untuk penguatan kurikulum pendidikan sains.

Kata kunci: PCR, DNA *polymerase*

1. PENDAHULUAN

1.1 Mitra

Mitra dalam program kegiatan masyarakat (PKM) ini adalah mahasiswa yang mengambil matakuliah bioinformatika, di program Studi Kimia dan Matematika FMIPA yang berdiri sejak tahun 2000 di ULM, Banjarbaru, Kalimantan Selatan. Tujuan PKM merupakan upaya memberi pendidikan/pembelajaran ulang para mahasiswa/*millenial* dewasa (*renaissance andragogical*) terkait nilai-nilai fundamental teknologi, yang telah menyelamatkan kisaran 6,5 milyar generasi manusia akibat pandemi Covid-19 pada 4-5 tahun lalu. Teknologi yang dimaksudkan yaitu *Polymerase Chain Reaction* (PCR), teknologi yang mampu mengkuantisasi, dan mengkuualisasi aktivitas enzim DNA *polymerase thermophylics* dengan panasea atau kemampuan (*efficacy*) yang tinggi. Secara umum teknologi PCR telah menjadi populer dan dikenal dikalangan masyarakat umum sejak pandemi Covid-19. Teknologi ini menjadi pijakan utama dalam *renaissance andragogical* pada matakuliah bioinformatika.

1.2 Sasaran

Program kegiatan masyarakat (PKM) dilakukan terhadap responden *millenial* dengan memberi umpan balik lewat *ipod broadcasting* (*podcast*) dan/atau *google form* terhadap pembelajaran/pendidikan perakitan mandiri PCR. Pada akhir tahun 2022, *World Health Organisation* (WHO) dan pemerintah Republik Indonesia telah mencabut kedaruratan pandemi covid-19. Ini bukan berarti secara akademis bahwa teknologi PCR pendeteksi virus covid 19 itu, sudah tidak berguna lagi. Bahkan telah nyata teknologi PCR menjadi tulang punggung (*back bone*) pada proeck *genome*, seperti *The Human Genom Projact* (HGP), *Neanderthal Genome Project* (NGP), 1000 HGP, *Music Genome Project* (MGP), 10.000 HGP dan project pemetaan bakteri patogen dunia. Oleh karena itu, PKM ini memiliki *renaissance andragogical* yang urgensif dengan melakukan perakitan mandiri PCR sederhana.

1.3 Teknologi PCR

Teknologi *Polymerase Chain Reaction* (PCR) merupakan instrumen untuk amplifikasi *deoxyribose nucleotide acid* (DNA) *in vitro*, yang berperan strategis dan luas pada bidang klinis (Saiki, *et. al.*, 1985), forensik, bioteknologi, DNA *ancient* (Pääbo, 1989; Susilo, 2010), *de-extinction* dan biologi molekul. Prinsip PCR adalah mengukur aktivitas enzim DNA *polymerase thermophilic* pada luar sel atau *in vitro*. Produk yang dihasilkan aktivitas enzim ini berupa fragmen DNA dengan satuan pasang basa (pb).

Pada gambar 1, merupakan beberapa tokoh yang memberikan sumbangsih besar pada masa depan perkembangan peradaban manusia (<https://www.nobelprize.org/prizes/lists/all-nobel-prizes/>). Diawali dengan penentuan struktur DNA oleh Watson dan Crick tahun 1953, dan tRNA oleh Hoagland dan Zamecnik tahun 1958, dan geralisasi pembacaan *genetic code* DNA oleh Bernfield dan Nirenberg kisaran 12 tahun sesudah temuan struktur DNA (Watson and Crick, 1953; Susilo, *et. al.*, 2023a). Di tangan Kary, teknologi amplifikasi luar sel (*in vitro*) atau PCR berhasil dikembangkan. Prinsip *denaturation*, *annealing* dan *elongation* cetakan (*template*) DNA merupakan gagasannya yang merujuk pada *dogma central* kehidupan, yaitu *replication*, *transcription* dan *translation* DNA (Saiki, *et. al.*, 1985). Di tangan Sanger, urutan DNA berhasil dikembangkan dengan metode *sequensing dideoxyribose nucleotide triphosphate* (ddNTP) atau metode Sanger (Sanger, *et. al.*, 1977, 1980). Di tangan Charpentier dan Daudna, masa depan sistem informasi urutan DNA atau *palindromic* DNA dikenal, atau sisi pengenalan DNA oleh enzim pemotong (*endonuclease*) (Alison, A., 2016 dan Jinek, *et. al.*, 2012). Pada bagian *palindromic* ini merupakan tempat atau sisi untai DNA sebagai target rekayasa genetika, yaitu sisi pengenalan DNA untuk dipotong dan/atau disambung dengan DNA lain, dan untuk menyimpan sisipan informasi DNA vaksin secara alami sebanyak 2% dari genom manusia.



Gambar 1. Penemu dan aplikator metode PCR. Penemu metode PCR oleh Kary Mullis (2A), dan Frederick Sanger (2B), Immanuelle Charpentier (2C), Jennifer Doudna (2D), Svante Paabo (2E), Drew Weissman (2F), dan Katalin Kariko (2G) sebagai aplikator metode PCR pada bidang rekayasa genetika (2B, 2C, 2D), DNA *ancient* (2E), dan vaksin (2F, 2G) (<https://www.nobelprize.org/prizes/lists/all-nobel-prizes/>).

Di tangan Paabo, masa belakang (lalu) urutan DNA purba (*ancient*) dapat dikembangkan dengan prinsip primer *multiplex*. Potensi DNA *ancient* berperan strategis pada bidang pembangkitan yang punah (*de extinction*) atau *archeogenetics* (Pääbo, 1989). Itulah mengapa masa depan manusia ditentukan oleh perkembangan biologi molekuler masa belakangan ini. Terakhir, di tangan Weissman dan Kariko pula, prinsip vaksin modern dikembangkan dari mRNA untuk mengatasi pandemi Covid-19, yaitu vaksin *pfiser* dan *moderna*. Pemakaian vaksin mRNA berperan strategis dan efisien karena dengan satu untai mRNA dapat diamplifikasi 1000an kali protein vaksin yang dapat mengeblok permukaan virus Covid-19 atau sarCov (Kariko, *et. al.*, 2005 dan Pardi, *et. al.*, 2018).

2. METODE

Mahasiswa Program Studi Matematika dan Kimia FMIPA ULM, yang mengambil matakuliah bioinformatika dan metabolisme diajarkan mengenai teknik merakit (tabel 1) alat PCR dari bahan sederhana selama 1 semester. Beberapa video perakitan dan seminar nasional PCR ada pada link youtube (<https://youtu.be/7W1XHq6bE7Y?si=w5i2YTKqvqhDpxVn>, https://youtu.be/UuoEHu_hw6s, <https://www.youtube.com/watch?v=V9mJRqOz0g8>, <https://www.youtube.com/watch?v=L5hcX4OZN4g>, https://www.youtube.com/shorts/xUgz2GFnQ_M). Kemudian, metode *Structural Equation Modelling* (SEM) digunakan untuk mengetahui respon terhadap perakitan alat PCR tersebut. Sebanyak 48 mahasiswa matematika dan kimia terlibat sebagai responden dalam metode SEM ini (Susilo, *et. al.*, 2022a, 2022b).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Perakitan dan Validasi PCR Sederhana

Perakitan mandiri PCR rakitan, merupakan konstruksi alat amplifikasi DNA *in vitro* dengan menggunakan beberapa komponen elektronik dan mekanik (tabel 1). Deskripsi perbedaan dan kesamaan antara PCR pabrikan dan PCR sederhana terletak pada sistem otomatisasi dan sistem pendingin. Sedangkan uji validasi atau fungsional PCR sederhana menggunakan fungsional referensi atau pembandingan PCR pabrikan, seperti pada rakitan *gas chromatography* (GC) dan rakitan tabung *cryoprotectant* (Susilo, *et. al.*, 2023b, 2023c). Untuk uji metode PCR rakitan menggunakan aktivitas DNA *polymerase* pada template target fragmen *cox* mtDNA ikan kihung (*Channa lucius*) dan dipraktekkan oleh mahasiswa semester 5 Program Studi matematika dan Kimia (https://youtu.be/UuoEHu_hw6s, unpublsh). Untuk teknologi *in vitro* yang digunakan berupa elemen panas yang melibatkan tiga proses yaitu *denaturation* (90°C), *annealing* (50°C) dan *elongation* (70°C) template DNA. Beberapa komponen rakitan mandiri PCR ini adalah detektor *thermal* PCR sederhana dan *block* mesin PCR telah didaftarkan pada kementerian Kementerian Hukum Dan Hak Asasi Manusia, Republik Indonesia dengan no. Pencatatan 000568192 dan no. Hak cipta EC002023135238 dan EC00202018613.

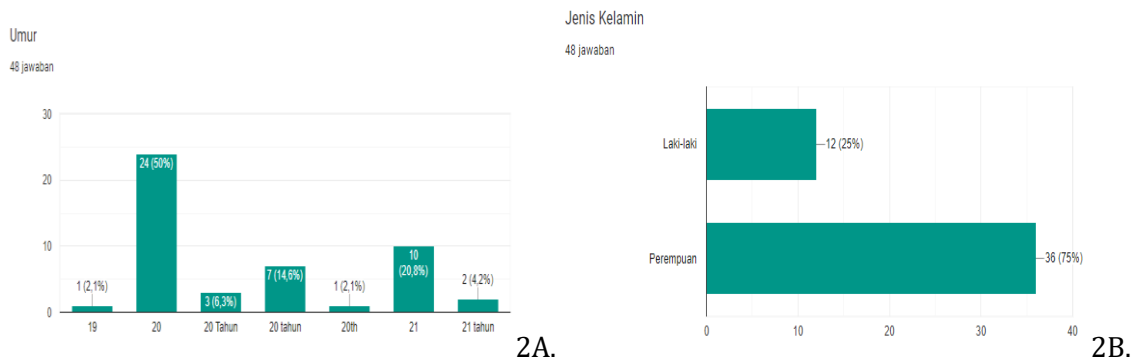
Tabel 1. Deskripsi perbedaan antara PCR pabrikan dan PCR sederhana

No	Desain	PCR Pabrikan	PCR Sederhana
1.	<i>Thermostat control</i>	otomatis	manual
2.	Element panas	√	√
3.	Sistem amplifikasi DNA <i>In Vitro</i>	otomatis	manual
4.	Sistem pendingin	√	-
5.	Unit <i>biochemical</i> PCR	√	√

Keterangan; √ : ada; - : tidak ada

3.2 Respon Rakitan Mandiri PCR Sederhana

Sebanyak 48 mahasiswa memberikan respon setelah mengikuti perakitan alat PCR sederhana. Hasil kuisisioner menunjukkan bahwa responden sangat mengerti (9,70%), mengerti (75,72%), kurang mengerti (14,58%) dan tidak mengerti (0%) (tabel 2. dan gambar 2.). Perakitan mandiri PCR sederhana telah diuji untuk dapat digunakan mengamplifikasi DNA target. Hasil amplifikasi DNA target (*amplicon*) dengan PCR rakitan mandiri mirip dengan *amplicon* menggunakan alat PCR pabrikan.



Gambar 2. Distribusi umur dan gender responden. Distribusi umur kisaran 19-21 tahun (2A). Distribusi gender laki-laki (25%) dan perempuan (75%).

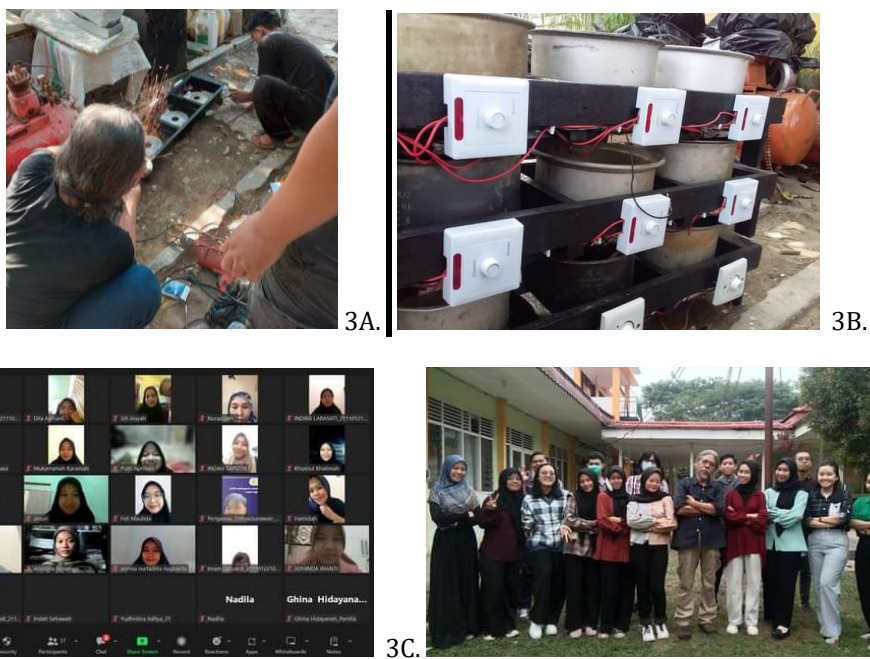
Tabel. 2. Hasil ringkasan SEM terkait dengan perakitan mandiri PCR. Sederhana.

No.	Pertanyaan	Prosentase (%)			
		Sangat mengerti	Mengerti	Kurang mengerti	Tidak mengerti
1.	Hasil perakitan mandiri PCR sederhana	14,6	85,4	0	0
2.	Hubungan PCR dengan bioteknologi, bioinformatika dan rekayasa genetika	8,3	77,1	14,6	0
3.	Fungsi PCR sebagai amplifikator DNA <i>in vitro</i>	8,3	60,4	31,3	0
4.	Hubungan amplicon, urutan DNA dan bank DNA	8,3	68,8	22,9	0
5.	Sikap mental selama mengikuti perakitan PCR	8,3	81,3	10,4	0
6.	Sikap mental setelah mengikuti perakitan PCR	10,4	81,3	8,3	0
	Rata-rata	9,70	75,72	14,58	0

3.4 Wawancara Perakitan Mandiri PCR Sederhana dan Dokumentasi

Beberapa orang yang pernah memakai jasa PCR dalam selama pandemi atau memakai dalam kegiatan akademisi, antara lain; **Tanto B. Susilo**, (biokimiawan, staf pendidikan Kimia FMIPA, ULM): “Perakitan mandiri PCR sederhana tidak saja menjawab soal kelangkaan instrumen ini pada dunia pendidikan, tetapi rakitan mandiri alat ini menjawab tantangan kini dan depan pada bidang biokimia dan bioinformatika. **Lalu Rudiyyat Telly Savalas**, (biokimiawan, staf pendidikan Kimia, FKIP, UNRAM): “PCR rakitan mandiri telah dapat digunakan untuk mengamplifikasi DNA target. Hasil amplifikasi DNA target dengan PCR rakitan mandiri mirip dengan hasil yang didapatkan ketika amplifikasi dilakukan menggunakan alat PCR pabrikan”. **Oni Soesanto**, (matematikawan pengampu matakuliah bioinformatika): “Perakitan mandiri PCR sederhana telah dipraktikkan pada mahasiswa matematika pengambil matakuliah bioinformatika, berdampak positif dan menambah kedalaman materi kuliah”. **Dewi Sri Susanti** (Pengajar statistika, FMIPA ULM), “Terkumpulnya data (DNA) dari alat PCR rakitan mandiri ini akan menambah ketersediaan data berdimensi besar yang mendukung pengembangan kajian mata kuliah *Big Data and Data Analytics* yang tercantum pada Kurikulum Sarjana Statistika”. **Sutomo** (Pengajar Farmasi, FMIPA, ULM): “PCR merupakan metode yang penting dalam bidang kesehatan termasuk mendesain obat dan vaksin. Pada bidang obat-obatan, aplikasi PCR dapat memberikan informasi penting terkait efektivitas suatu obat melalui perhitungan kopi gen. Dalam industri farmasi juga dapat meningkatkan produktivitas dan kecepatan terkait pengembangan produk yang diperlukan, termasuk didalamnya adalah pembuatan vaksin yang memerlukan alat dengan akurasi yang sangat tinggi. Dalam ilmu farmasi hal tersebut dapat dipelajari pada matakuliah bioteknologi farmasi dan teknologi farmasi”. **Badruzsaufari** (Pengajar Biologi, FMIPA, ULM): “Mesin *thermalcycler* rakitan sederhana ini sangat penting dalam memberikan pemahaman dasar peranan enzim proses amplifikasi DN (PCR) secara *in vitro* bagi mahasiswa yang mengambil matakuliah biologi molekuler dan biokimia. **Arfan Eko Fahrudin** (Pengajar Fisika, FMIPA, ULM): “Peralatan ini sederhana tetapi sangat berguna bagi bioteknologi, dan sangat bermanfaat untuk mahasiswa, khususnya dalam menambah pengetahuan tentang prinsip kerja dari PCR”. **Yuyun Hidayat** (Pengajar Statistika, FMIPA, Universitas Padjadjaran) “Saya pernah test PCR menunjukkan gejala yang negatif Covid-19, dengan keterangan tambahan pada dokumen selama sample mencukupi untuk diuji”.

Pada gambar 3. menunjukkan dokumentasi perakitan mandiri alat PCR sederhana sebelum (3A dan 3B) dan sesudah (3C dan 3D) dipraktikkan kepada mahasiswa matematika dan kimia semester 5.



Gambar 3. Perakitan mandiri alat PCR sederhana. Salah satu proses perakitan mandiri PCR sederhana, yaitu menata elemen pemanas dan regulator listrik (3A). Hasil perakitan lima unit PCR sederhana (3B). Diskusi *online* tentang hasil praktikum PCR rakitan dengan mahasiswa (3C). Dokumentasi mahasiswa prodi Matematika dan Kimia setelah praktikum PCR rakitan (3D).

4. KESIMPULAN

Alat PCR bisa dirakit secara mandiri dan sederhana dengan prinsip yang mirip dengan PCR pabrikan. Komponen-komponen perakitan mudah didapat dengan harga kompetitif. Responden menilai positif atas rakitan mandiri PCR sederhana. Diharapkan alat ini dapat menjadi pilihan yang mudah dan sederhana dalam pembelajaran amplifikasi DNA *in vitro*.

Ucapan Terimakasih:

Ucapan terimakasih ditujukan pada Dr. Didin Hidayatur Mursyidin (kepala Laboratorium Biologi Molekuler dan Biokimia) dan Albert Gampong, S. Si (Laboran), FMIPA, ULM atas dukungan terhadap uji kelayakan rakitan mandiri PCR sederhana.

DAFTAR PUSTAKA

- Alison, A., (2016), The quiet revolutionary: How the co-discovery of CRISPR explosively changed Emmanuelle Charpentier's life, *Nature*. **532** (7600): 432-434. [doi:10.1038/532432a](https://doi.org/10.1038/532432a)
- Jinek, M., Chylinski, K., Fonfara, I., Hauer, M., Doudna, J. A., and Charpentier, E., (2012), A Programmable Dual-RNA-Guided DNA Endonuclease in Adaptive Bacterial Immunity, *Science*, Vol. 337, ssue 6096, pp. 816-821, <https://doi.org/10.1126/science.1225829>

- Kariko, K., Buckstein, M., Ni, H., and Weissman, D., (2005), Suppression of RNA recognition by Toll-like receptors: the impact of nucleoside modification and the evolutionary origin of RNA, *Immunity*, **23** (2): 165–75. doi:10.1016/J.IMMUNI.2005.06.008
- Pääbo, S., (1989), Ancient DNA: extraction, characterization, molecular cloning, and enzymatic amplification, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **86** (6), 1939-1943 <https://doi.org/10.1073/pnas.86.6.1939>
- Pardi, N., Hogan, M. J., Porter, F. W., and Weissman, D., (2018), mRNA Vaccines-A New Era In Vaccinology, *Nature Reviews Drug Discovery*, volume 17, pages 261–279.
- Saiki, R. K., Scharf, S., Faloona, F., Mullis, K. B., Horn, G. T., Erlich, H. A., Arnheim, N., (1985). Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*, **230** (4732): 1350–4., doi:10.1126/science.2999980
- Sanger, F., Nicklen, S., and Coulson, A., (1977). DNA sequencing with chain-terminating inhibitors, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. **74** (12): 5463–5467. doi:10.1073/pnas.74.12.5463.
- Sanger, F., Coulson, A. R., Barrell, B. G., Smith, A. J., and Roe, B. A., (1980), Cloning in single-stranded bacteriophage as an aid to rapid DNA sequencing, *Journal of Molecular Biology*, **143** (2): 161–178. doi:10.1016/0022-2836(80)90196-5
- Susilo, T. B. (2010), Penentuan Laju Mutasi dan Pusat Sebaran D-loop mtDNA Manusia Ancient Sangiran, Disertasi, ITB (unpublish).
- Susilo, T. B., Soesanto, O., Wahjono, S. C., Manik, T. N., Susanti, D. S., Dares, G. B., Thresye, Krisdianto, Hidayat, Y (2023a), Epistemologi Teknologi PCR Bagi Millinneal Post Covid-19 Di Minggu Raya, *Ilung*, Vol. 3, No. 2 November 2023, Hal. 247-262 DOI: <https://doi.org/10.20527/ilung.v3i2>
- Susilo, T. B., Fitria, R., Sidabariba, G. I. D. S., Mufidhah, S. A., Jariyah, A., Agustina, N., dan Safarina, T., (2022a), Penyimpan Gas Cair Khusus, *Jurnal Pengabdian Ilung*, Vol. 2, No. 2 November 2022, Hal. 330-336 DOI: <https://doi.org/10.20527/ilung.v2i2>.
- Susilo, T. B., Mustikasari, K., Sobah, N., & Rani S., (2022b), Studi biogeografis ikan kihung berbasis berat dan jenis molekul protein, dari Situs Bukit Bangkai, *Bioscientiae*, Volume 19, Nomor 1, Halaman 11-30 <https://ppjp.ulm.ac.id/journals/index.php/bioscientiae>.
- Susilo, T. B., Yunus, R., Sanjaya, R. E., Soesanto, O., Akbar, A. R. M., dan Hidayat, Y., (2023b), Penyuluhan Asal Mula Teknologi Vaksin Bagi Millinneal Pasca Covid-19 Di Minggu Raya, *Ilung*, Vol. 3, No. 2 November 2023, Hal. 229-237 DOI: <https://doi.org/10.20527/ilung.v3i2>
- Susilo, T. B., Yunus, R., Irwan, A., Soesanto, O., Akbar, A. R. M., Fitria, R., dan Muktiningsih, (2023c), Perakitan Gas Chromatography Sederhana Untuk Pembelajaran Instrumen Pemisahan Senyawa Kimia, *Ilung*, Vol. 2, No. 4 Mei 2023, Hal. 691-697 DOI: <https://doi.org/10.20527/ilung.v2i4>
- Watson, J. D., and Crick, F. H. C., (1953), Molecular Structure of Deoxypentose Nucleic Acids, *Nature*, Vol. 171