

Memfotokopi DNA dengan PCR

(Artikel Pikiran Rakyat 2006)

Pada pertengahan tahun 1980 dunia genetika molekuler seperti mendapatkan anugerah baru dengan ditemukannya teknik PCR oleh Kary B. Mullis. Bagaimana tidak, dengan teknik PCR penelitian-penelitian dalam bidang biokimia atau biologi molekuler yang berhubungan dengan gen/DNA dapat dilakukan secara lebih cepat dan efisien. Masalah utama dalam analisis gen adalah sulitnya mendapatkan molekul DNA spesifik yang menjadi target, terutama dari mamalia, dalam jumlah yang memadai untuk dideteksi/dikuantisasi. Sebelum ditemukannya PCR, untuk memperbanyak (memfotokopi) molekul DNA para peneliti harus menunggu hasil kloning selama berhari-hari, sedangkan dengan teknik PCR proses fotokopi DNA tersebut hanya memerlukan waktu beberapa jam saja.

PCR: proses fotokopi DNA secara *in vitro*

PCR merupakan akronim dari *Polymerase Chain Reaction* atau reaksi rantai polimerase, adalah suatu proses untuk mengamplifikasi (memfotokopi) molekul DNA yang diinginkan secara *in vitro* (diluar tubuh makhluk hidup). Prinsip PCR sendiri diilhami oleh proses penggandaan DNA yang terjadi secara alamiah dalam tubuh makhluk hidup, yang kita kenal dengan istilah replikasi. Pada proses PCR, hasil fotokopi tidak lain merupakan primer yang diperpanjang oleh enzim DNA polimerase, ketika menempel pada salah satu untai templat DNA (molekul DNA yang menjadi target fotokopi). Primer merupakan oligonukleotida (beberapa nukleotida) spesifik yang dirancang untuk membatasi fragmen DNA yang akan diamplifikasi (*seperti diketahui DNA merupakan polinukleotida*). Dengan adanya variasi suhu dan bantuan enzim DNA polimerase, primer tersebut dapat menempel dan menyalin informasi genetik sama persis dengan templat DNA, sehingga akhirnya didapatkan jumlah molekul DNA target yang memadai.

Disamping templat DNA dan primer, enzim DNA polimerase merupakan bagian penting lainnya dalam proses PCR. Ketika awal ditemukannya PCR, para peneliti “agak dibuat repot” karena harus menambahkan enzim DNA polimerase pada setiap siklus, hal

tersebut disebabkan enzim yang dipakai waktu itu tidak stabil pada suhu tinggi, sedangkan dalam proses PCR terdapat tahapan yang harus dilakukan pada suhu tinggi (*lihat tahapan utama dalam proses PCR*). Oleh karena itu penemuan enzim DNA polimerase yang stabil pada suhu tinggi merupakan catatan tersendiri dalam perkembangan teknik PCR, serta telah menjadikan PCR semakin efisien dan efektif.

Tahapan utama dalam proses PCR

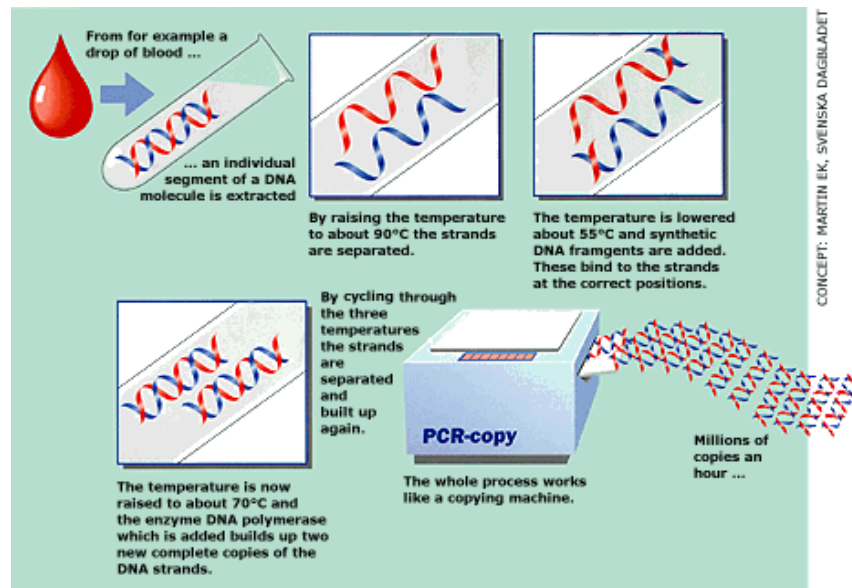
Secara umum proses PCR dibagi menjadi tiga tahap. *Pertama* adalah denaturasi, proses ini bertujuan untuk membuka ikatan rangkap DNA. Seperti yang diketahui DNA mempunyai struktur *double helix*, sehingga untuk memungkinkan terjadinya penempelan primer, maka ikatan rangkap (ikatan hidrogen) yang membangun struktur tersebut harus diputuskan. Pemutusan ikatan tersebut dapat dilakukan pada suhu tinggi (biasanya di atas 90 °C). Kandungan *Guanine* dan *Cytosine* (G+C), yang merupakan pasangan basa nitrogen dengan ikatan rangkap tiga dalam struktur *double helix* DNA, dapat menjadi pertimbangan menentukan suhu denaturasi. Makin tinggi proporsi (G+C) mengakibatkan makin tingginya suhu yang dibutuhkan untuk denaturasi DNA.

Tahapan *Kedua* yang disebut dengan *Annealing*, yaitu penempelan primer kepada untai DNA yang telah terdenaturasi. Penentuan suhu *annealing* menjadi demikian kritis, dalam artian harus tepat. Jika suhu terlalu tinggi penempelan primer menjadi sangat lemah, sehingga bisa mengakibatkan produk yang dihasilkan sangat sedikit. Sebaliknya jika suhu terlalu rendah, bisa mengakibatkan terjadinya penempelan yang tidak spesifik, sehingga menghasilkan fragmen yang tidak diinginkan.

Adapun tahapan yang *Ketiga* adalah *Extension*, yaitu proses perpanjangan primer yang menempel pada templat DNA dengan melibatkan DNA polimerase sebagai katalis. Dikarenakan pada tahap ini terjadi reaksi polimerisasi yang dikatalisis enzim, maka suhu optimum dari enzim yang digunakan harus menjadi pertimbangan dalam menentukan suhu *extension*.

Ketiga tahapan tersebut dapat terus berulang sesuai dengan jumlah siklus yang kita inginkan. Penentuan jumlah siklus PCR tergantung kepada target jumlah *copy* molekul DNA yang ingin dihasilkan. Secara teoritis, jumlah molekul DNA yang dihasilkan dari proses PCR adalah berbanding lurus secara eksponensial dengan jumlah

siklus PCR (2^n , n = jumlah siklus). Sebagai gambaran, jika kita merancang 20-30 siklus, dan menggunakan enzim *Taq polymerase* sebagai katalis, lebih dari satu juta *copy* molekul DNA dapat diperoleh dalam waktu 1,5-2,5 jam.



Sumber foto : nobelprize.org

Aplikasi teknik PCR

Sejak pertama kali dipublikasi 20 tahun yang lalu, teknik PCR telah berhasil menyedot perhatian para ilmuwan/peneliti, hal ini ditandai dengan banyaknya artikel ataupun penelitian yang melibatkan PCR. Dalam perkembangannya, aplikasi teknik PCR ini tidak hanya sebatas untuk memfotokopi DNA saja, akan tetapi PCR juga telah dimanfaatkan untuk berbagai kepentingan di berbagai bidang, seperti identifikasi penyakit AIDS dan flu burung dalam bidang kedokteran.

Sekarang Pak Mullis sepertinya bisa tersenyum bangga, karena selain mendapatkan anugerah nobel pada tahun 1993 untuk teknik PCR yang ditemukannya, penemuannya juga telah banyak dimanfaatkan baik secara langsung ataupun tidak di dalam beberapa bidang, seperti biokimia, biologi molekuler, kedokteran dan yang lainnya.

Gun Gun Gumilar, M.Si.

Staf Pengajar Biokimia & Bioteknologi UPI

<http://www.pikiranrakyat.com/cetak/2006/092006/14/cakrawala/lain03.htm>.