

---

---

## PILOT STUDY: PEMANAS UNTUK *THERMAL CYCLER*

Nugroho Budi Wicaksono<sup>1</sup>, Sukma Meganova Effendi<sup>2</sup>, Agatha Mahardika Anugrayuning Jiwatami<sup>3</sup>

Author Adress; nug@usd.ac.id

<sup>1,3</sup> Program Studi Teknologi Elektromedis, Universitas Sanata Dharma, Sleman, Yogyakarta, Indonesia

<sup>2</sup> Program Studi Mekatronika, Universitas Sanata Dharma, Sleman, Yogyakarta, Indonesia

**Received:** 10 Desember 2022

**Revised:** 13 Januari 2023

**Accepted:** 10 April 2023

---

---

**Abstract:** During the Covid-19 pandemic, DNA amplification technique – the Polymerase Chain Reaction (PCR) method became the gold standard for virus diagnosis and measuring the amount of viral target nucleic acid in a clinical sample and delivering quantitative results. This PCR method is implemented as Thermal Cyclers or PCR machine. One of the main components in the Thermal Cyclers is the heater. Three heaters, such as: Peltier Device 12715, Ceramic Heater PTC 12 V<sub>DC</sub>, and Customized Heater 12 V<sub>DC</sub> were tested for their performance by being connected to 3-well aluminium block. Two pieces of PTC Ceramic Heaters 12 V<sub>DC</sub> with a total power of 120 W showed the best performance compared to the other 2 heaters and were able to provide a heating ramp rate of 0,13 /second.

**Keywords:** Polymerase Chain Reaction, PCR, Thermal Cyclers

**Abstrak:** Pada masa pandemi Covid-19, teknik penggandaan DNA dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR) menjadi gold standard untuk diagnosis virus dan penghitungan sampel klinis. Metode PCR ini diimplementasikan pada alat dengan nama Thermal Cyclers atau mesin PCR. Salah satu komponen utama dalam Thermal Cyclers adalah pemanas. Tiga buah pemanas, yakni: Peltier Device 12715, Ceramic Heater PTC 12 V<sub>DC</sub>, dan Customized Heater 12 V<sub>DC</sub> diuji kinerjanya dengan dihubungkan pada blok aluminium. Dua buah Ceramic Heater PTC 12 V<sub>DC</sub> dengan daya total sebesar 120 W menunjukkan kinerja terbaik dibandingkan 2 pemanas lainnya dan mampu memberikan laju pemanasan sebesar 0,13 °C/detik.

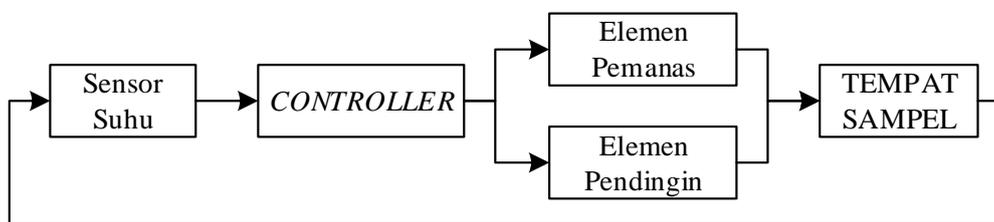
**Kata kunci:** Polymerase Chain Reaction, PCR, Thermal Cyclers

## PENDAHULUAN

Sebelum ditemukan teknik penggandaan DNA dengan metode Polymerase Chain Reaction (PCR), studi mengenai DNA dapat dikatakan susah. Banyak informasi genetik yang terdapat pada molekul DNA dan mengisolasi bagian DNA tertentu (*snippet*) untuk dipelajari juga merupakan tantangan tersendiri. Teknik penggandaan DNA dengan menggunakan PCR memiliki 3 tahapan penting yang sering digunakan (Lo & Chan, 2006; Wicaksono, 2013), yakni *denaturation*, *annealing*, dan *extension*. Tahap *denaturation*, tahap ini merupakan tahap dimana untai ganda DNA dipisah menjadi 2 buah untai tunggal dan dilakukan pada suhu 94 °C – 96 °C. Tahap *annealing* (penempelan) merupakan tahap awal sintesis DNA secara *in vitro*. Suhu yang ditentukan untuk tahap *annealing* ini tergantung pada komposisi dan

panjang basa dan konsentrasi dari *primer* yang digunakan. Umumnya menggunakan suhu 55 °C. Tahap yang ketiga adalah *extension* (pemanjangan), merupakan proses yang dilakukan pada suhu 72 °C. Tiga tahapan tersebut merupakan 1 siklus penggandaan, untuk menghasilkan hasil penggandaan yang banyak dibutuhkan beberapa kali pengulang siklus. Pengaturan suhu pada setiap tahapan di atas juga tergantung pada kebutuhan. Pada masa pandemi Covid-19, PCR menjadi *gold standard* untuk diagnosis virus dan penghitungan sampel klinis (Damo et al., 2021; Tahamtan & Ardebili, 2020).

Metode PCR yang ditemukan oleh Kary Mullis (Mullis & Faloona, 1987; Saiki et al., 1985) ini kemudian dikembangkan menjadi alat yang biasa disebut Mesin PCR atau *Thermal Cycler*. Pengaturan suhu menjadi faktor penting dalam desain rancang bangun *thermal cycler*, blok diagram sederhana *thermal cycler* ditunjukkan pada Gambar 1 (Wicaksono, 2013).



**Gambar 1.** Blok diagram sederhana *thermal cycler*

Sensor suhu diletakkan pada sebuah tempat sampel. Tempat sampel tersebut digunakan sebagai tempat untuk meletakkan *tube* PCR. Sensor suhu pada blok diagram sederhana tersebut berfungsi sebagai umpan balik pada sistem untuk dibandingkan dengan pengaturan *set point*. Tempat sampel pada mesin PCR biasanya terbuat dari Aluminium. Aluminium menjadi pilihan utama dalam penelitian ini dikarenakan faktor ketersediaan bahan yang lebih banyak dan keterjangkauan harga. Sailaja (Sailaja & Raju, 2019) menyebutkan juga bahwa aluminium merupakan material yang banyak digunakan pada *thermal cycler*.

Penelitian grup riset kami yang lalu (Wicaksono & Effendi, 2022) berfokus pada laju pendinginan dan pemanasan dengan menggunakan tempat sampel berupa aluminium dan menggunakan elemen pemanas dengan daya rendah. Pada penelitian ini, fokus topik penelitian adalah ketepatan pemilihan komponen pemanas untuk mendapatkan laju pemanasan yang tinggi dan pengujian komponen pemanas yang dipilih pada *plant* sistem yang akan diimplementasikan.

## METODE PENELITIAN

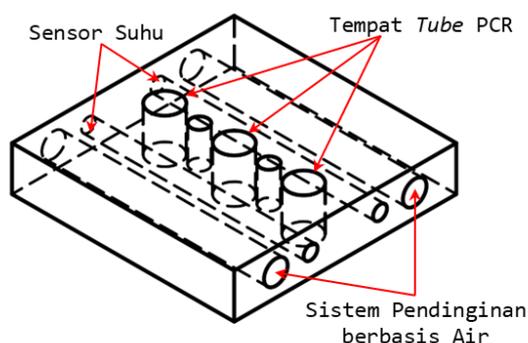
Implementasi pengaturan suhu dengan mengangkat dan mencelupkan blok sampel (*dip and dunk – automated hand transfer*) pada beberapa bejana yang sudah diatur suhunya diklaim sebagai metode yang paling cepat oleh Wong (Wong et al., 2015). Namun, kontroler membutuhkan komputasi yang cukup rumit karena digunakan untuk mengontrol dan menjaga suhu 3 buah aktuator pemanas; serta pengaturan awal dari alat yang dibuat oleh Wong (Wong et al., 2015) harus didefinisikan dengan menggunakan persamaan-persamaan tertentu.

Gambar 1 menunjukkan adanya 2 komponen aktuator utama, yaitu komponen pemanas dan pendingin. Komponen yang sering digunakan sebagai komponen pemanas sekaligus pendingin pada *thermal cyclers* adalah *thermoelectric Peltier* (Miralles et al., 2013; Sailaja & Raju, 2019). Komponen Peltier ini digunakan pada *thermal cyclers* commercial yang tersedia di pasaran. Antara lain: BioRad (Model: iCycler IQ), Stratagene (Model: Mx4000 dan Mx3000P), Applied Biosystems (Model: ABI Prism 7000 dan ABI Prism 7900 HT), dan MJ Research (Model: DNA Engine Opticon2) (Logan & Edwards, 2009).

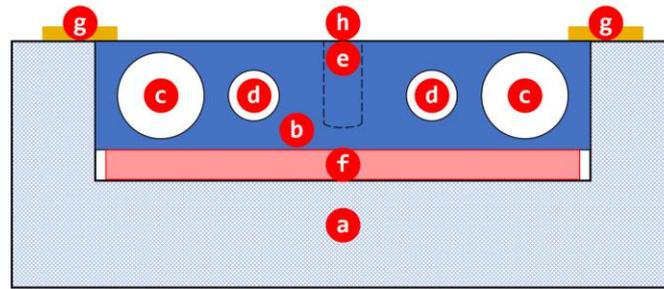
Signifikansi komponen pemanas dan pendingin pada *thermal cycler* terletak pada spesifikasi laju pemanasan dan pendinginan, atau biasa disebut sebagai *ramp rate*. Merujuk pada (Regional Office for South-East Asia, 2016), umumnya *thermal cycler* memiliki *ramp rate* adalah 2-3 °C/detik. Untuk mendapatkan data tersebut, maka grup riset kami melakukan studi pendahuluan pengujian 3 komponen pemanas dengan spesifikasi daya maksimum hingga 300W untuk mengetahui tingkat efektivitas laju pemanasan.

### 1. Desain Mekanik

Tiga buah *tube* PCR dengan volume 1,5 ml dan diameter 11 mm dapat diletakkan pada sebuah blok aluminium seperti ditunjukkan pada Gambar 2. Blok aluminium di atas dilengkapi dengan kanal air untuk sistem pendinginan. Dimensi blok aluminium dari Gambar 2 adalah sebagai berikut: 80 mm × 80 mm × 16 mm untuk panjang, lebar, dan tinggi.



**Gambar 2.** Detail dan pandangan 3D isometric blok aluminium

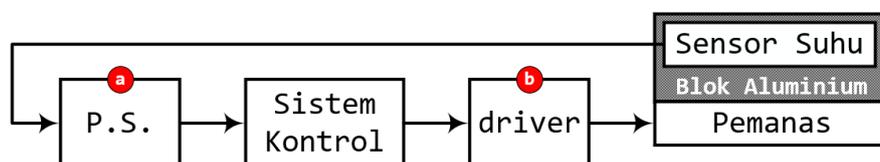


**Gambar 3.** Ilustrasi penempatan blok aluminium, sensor suhu, dan pemanas. (a) alas/tatakan berbahan kayu, (b) blok aluminium, (c) kanal air/saluran air, (d) kanal untuk sensor suhu, (e)  $3 \times 1,5$  ml tube PCR  $\varnothing$  11 mm, (f) pemanas, (g) klem/penjepit/clamp, dan (h) penempatan probe thermocouple dari alat ukur Fluke 568.

Alas dengan bahan kayu dengan klem digunakan sebagai tempat untuk menaruh pemanas dan blok aluminium. Dua buah sensor suhu *thermocouple* (TC) tipe K diletakkan pada Gambar 3 (d). Tiga buah pemanas diletakkan pada Gambar 3 (f) secara bergantian. Klem atau penjepit digunakan untuk memastikan bahwa pemanas dan blok aluminium tertempel dengan baik dan juga dibantu dengan menggunakan *thermal paste*.

## 2. Desain Elektronik

Desain elektronik diimplementasikan berdasarkan diagram blok yang ditunjukkan pada Gambar 4. Grup riset kami menggunakan sensor suhu TC tipe-K dengan rangkaian pengondisi sinyal (Gambar 4 (a)) berbasis *integrated circuit* (IC) MAX31855 (Maxim Integrated, 2015). IC ini memiliki kemampuan untuk mengkonversi sinyal analog menjadi digital dengan resolusi 14-bit. IC ini juga memiliki kemampuan untuk mengkompensasi dan mengoreksi *cold-junction* pada salah satu ujung dari kaki sensor suhu TC. Sebelum menghasilkan konversi dari tegangan *thermoelectric* (berdasarkan prinsip kerja dari TC – *Seebeck effect*), IC MAX31855 melakukan kompensasi perhitungan dari perbedaan antara kaki TC (sisi *cold-junction* – berdasarkan dari suhu ruangan) dan referensi  $0^{\circ}\text{C}$  virtual.



**Gambar 4.** Diagram blok desain elektronik. (a) adalah rangkaian pengondisi sinyal dan (b) rangkaian pengemudi (*driver*).

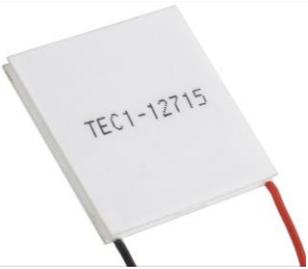
Bahan metal yang digunakan sebagai elemen *sensing* pada TC adalah Alumel (kaki T-) dan Chromel (kaki T+) dan dapat bekerja pada rentang suhu  $-270^{\circ}\text{C}$  sampai dengan  $1372^{\circ}\text{C}$  (Maxim Integrated, 2015). Karakteristik terkait sensitivitas sensor TC tipe-K adalah sebagai

berikut: sensitivitas pada rentang suhu 0 °C sampai dengan 1000 °C adalah 41,276 $\mu$ V/°C dan sensitivitas pada *cold-junction* pada rentang suhu 0 °C sampai dengan 70 °C adalah 40,73  $\mu$ V/°C. Berdasarkan data tersebut, maka diperoleh persamaan (1) untuk memperoleh konversi dari suhu menjadi tegangan. Dimana  $V_{OUT}$  adalah tegangan keluaran dari TC tipe-K dalam satuan  $\mu$ V;  $T_R$  (dalam satuan °C) adalah suhu pada *remote-junction*; dan suhu ruangan dinyatakan dalam  $T_{AMB}$  (dalam satuan °C).

$$V_{OUT} = \left( 41,276 \mu V / ^\circ C \right) \times (T_R - T_{AMB}) \quad (1)$$

Rangkaian pengemudian (*driver*) yang ditunjukkan pada Gambar 4 (b) diimplementasikan dengan IC dari STMicroelectronics dengan seri VNH2SP30-E. VNH2SP30-E adalah IC yang didedikasikan untuk aplikasi di otomotif dengan spesifikasi arus keluaran maksimum ( $I_{OUT-max}$ ) adalah 30 A dan tegangan sumber maksimum ( $V_{CC-max}$ ) sebesar 41 V (STMicroelectronics, 2017). Pemanas yang digunakan untuk pengujian berjumlah 3 buah, yakni: *Peltier Device* 12715, *Ceramic Heater* PTC 12 V<sub>DC</sub>, dan *Customized Heater* 12 V<sub>DC</sub> seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Pemanas-pemanas tersebut dihubungkan pada rangkaian *driver* VNH2SP30-E dan rangkaian driver terhubung secara langsung dengan sistem kontrol berupa Arduino Uno. Panas yang terkonduksi ke blok aluminium di-*sensing* oleh sensor suhu TC.

**Tabel 1.** Jenis-jenis pemanas

No	Nama/Jenis Pemanas dan Spesifikasi Singkat	Ilustrasi Gambar
1	<i>Peltier Device</i> 12715 (PD) (1 buah) – memiliki daya hingga 180 W	
2	<i>Ceramic Heater</i> PTC 12 V <sub>DC</sub> (CHPTC) (2 buah) – masing-masing memiliki daya hingga 60 W	

- 3 *Customized Heater* 12 V<sub>DC</sub> (CH)  
(1 buah) – memiliki daya hingga  
300 W



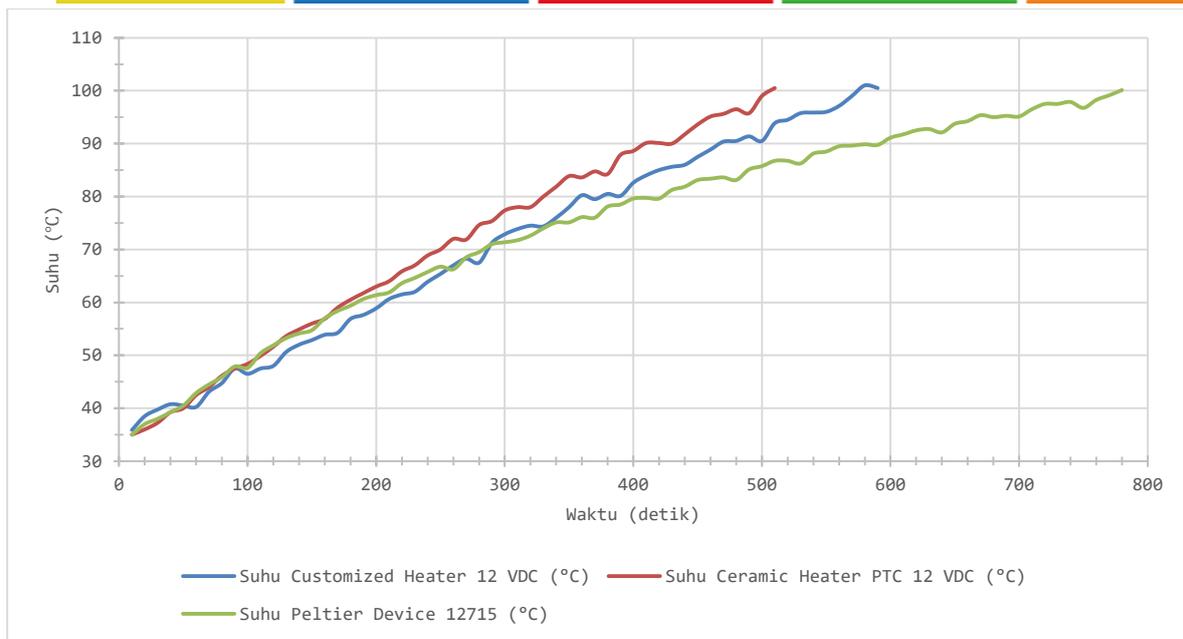
### 3. Pengujian

Ada 2 tahapan pengujian yang dilakukan pada penelitian ini. Pengujian pertama adalah pengujian kinerja dari 3 buah pemanas. Masing-masing pemanas diuji dengan alat ukur dari Fluke 568 Contact & Infrared Temp Gun. Pengujian masing-masing pemanas dilakukan sesuai dengan Gambar 3, Fluke 568 dikonfigurasi sebagai Contact Termometer – sehingga menggunakan *probe* TC tipe-K. *Probe* TC tipe-K diletakkan sesuai yang ditunjukkan Gambar 3 (h). Pemanas dengan laju pemanasan tertinggi kemudian dijadikan acuan sebagai pengujian selanjutnya. Pengujian kedua adalah pengujian dari pemanas dengan laju pemanasan tertinggi. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan konfigurasi seperti ditunjukkan Gambar 4. Ada 2 buah sensor suhu TC tipe-K yang digunakan, hasil pembacaan masing-masing sensor suhu diolah dengan menggunakan *Simple Moving Average* (SMA) seperti yang ditunjukkan pada persamaan (2). Dimana  $x$  adalah sinyal input dari sensor suhu TC yang diolah rangkaian pengondisi sinyal MAX31855,  $y$  adalah sinyal output hasil dari SMA, dan  $N$  adalah jumlah data yang direratakan. *Window N* yang digunakan pada penelitian ini adalah 10. Pengolahan SMA dilakukan oleh *development board* Arduino Uno dan data ditampilkan pada *Serial Monitor* Arduino IDE setiap 1 detik. Data yang ditampilkan pada *Serial Monitor* Arduino IDE merupakan hasil rata-rata dari SMA sensor TC 1 dan SMA sensor TC 2.

$$y[i] = \frac{1}{N} \sum_{j=0}^{N-1} x[i-j] \quad (2)$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

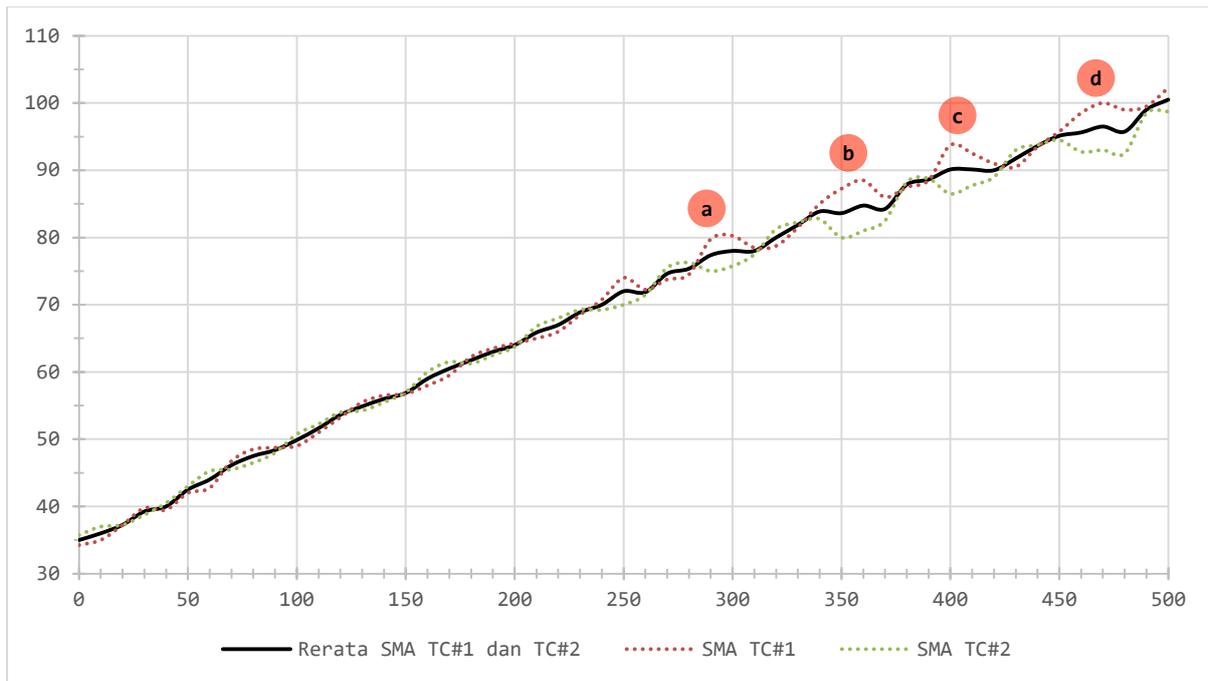
Hasil dari pengujian pertama ditunjukkan pada Gambar 5. Hasil pengujian dengan *probe* TC tipe-K Fluke 568 menunjukkan bahwa 2 buah pemanas Ceramic Heater PTC dengan spesifikasi 12 V<sub>DC</sub> dan masing-masing dayanya adalah 60 W; menghasilkan laju pemanasan yang lebih cepat dibandingkan 2 pemanas lainnya.



**Gambar 5.** Perbandingan kinerja 3 buah pemanas

Waktu yang dibutuhkan oleh CH, CHPTC, dan PD untuk mencapai 100 °C adalah 590 detik, 510 detik, dan 780 detik. Hal ini menunjukkan bahwa CHPTC memiliki kinerja 15,69% lebih baik daripada CH dan 52,94% lebih baik daripada PD. PD tidak menunjukkan kinerja maksimal disebabkan oleh tidak adanya media yang menghantarkan panas pada sisi yang menghadap ke alas/tatakan berbahan kayu (Gambar 3 (a)). Konsiderasi yang harus dimiliki pada saat mengimplementasikan PD sebagai pemanas adalah dibutuhkannya penghantar panas, media penghantar panas yang biasa diimplementasikan adalah heat sink dilengkapi dengan kipas (Tellurex Corporation, 2010). Sedangkan CH tidak dapat memberikan kinerja yang maksimal ditengarai karena kontak antara pemanas dan blok aluminium yang tidak merata, walaupun sudah menggunakan *thermal paste*. Berdasarkan data kinerja pemanas di atas, maka pengujian dilanjutkan pada tahap ke-2, yakni pengujian 2 buah CHPTC.

Akuisisi data suhu pada pengujian kedua ini menggunakan 2 buah sensor TC tipe-K sesuai dengan blok diagram yang ditunjukkan pada Gambar 4. Pengujian dilakukan dari suhu ruang (35 °C) hingga mencapai 100 °C, suhu 100 °C dicapai dalam waktu 500 detik. Hasil yang diperoleh dari pengujian kedua ditunjukkan pada Gambar 6.



**Gambar 6.** Pengujian kinerja CHPTC

Terdapat selisih hasil pembacaan yang cukup besar dari beberapa titik, antara lain titik a, titik b, titik c, dan titik d. Titik a (detik ke-290) terdapat selisih  $4,75\text{ }^{\circ}\text{C}$  antara pemanas 1 (yang diukur oleh TC#1) dan pemanas 2 (yang diukur oleh TC#2), titik b (detik ke-350) terdapat selisih  $7,25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , titik c (detik ke-400) terdapat selisih  $7,25\text{ }^{\circ}\text{C}$ , dan titik d (detik ke-480) terdapat selisih  $6,5\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Hasil tersebut menunjukkan bahwa pemanas CHPTC yang diukur oleh TC#1 memiliki tingkat pemanasan yang lebih tinggi daripada CHPTC yang diukur oleh TC#2. Walaupun 2 CHPTC tersebut memiliki spesifikasi teknis yang sama, tetapi memberikan keluaran berupa suhu yang berbeda. Hal ini dapat disebabkan karena resistansi pemanas yang berbeda dari 2 CHPTC tersebut. Hasil dari pengujian kedua ini didapatkan laju pemanasan (*heating ramp rate*) sebesar  $7,8\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{menit}$  atau  $0,13\text{ }^{\circ}\text{C}/\text{detik}$ , dengan  $\Delta T = 65^{\circ}\text{C}$  dan durasi waktu 500 detik.

## SIMPULAN DAN SARAN

Studi pendahuluan thermal cycler dengan daya rendah ini telah dilakukan dengan hasil pengujian berupa 2 buah *Ceramic Heater PTC* (CHPTC)  $12\text{ V}_{\text{DC}}$  dengan total daya sebesar  $120\text{ W}$  menunjukkan kinerja  $15,69\%$  lebih baik dibandingkan *Customized Heater* (CH)  $12\text{ V}_{\text{DC}}$  dengan daya  $300\text{ W}$  dan kinerja  $52,94\%$  lebih baik dibandingkan *Peltier Device* (PD) 12715. Akuisisi data suhu pada blok aluminium yang terhubung dengan 2 buah pemanas CHPTC dengan sensor suhu *thermocouple* tipe-K menghasilkan laju pemanasan sebesar  $0,13$

°C/detik. Saran untuk *pilot study* lanjutan adalah meningkatkan daya pemanas untuk mendapatkan laju pemanasan yang lebih tinggi dan penggantian blok aluminium menjadi blok tembaga.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Grup riset kami mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Sanata Dharma, yang telah mendanai penelitian ini melalui Hibah Penelitian Dosen Muda dengan No. 007/Penel./LPPM-USD/II/2022.

## DAFTAR PUSTAKA

- Damo, N. Y., Porotu'o, J. P., Rambert, G. I., & Rares, F. E. S. (2021). Diagnostik Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) dengan Pemeriksaan Laboratorium Mikrobiologi Klinik. *EBIOMEDIK*, 9(1), 77–86. <https://doi.org/https://doi.org/10.35790/ebm.v9i1.31899>
- Lo, Y. M. D., & Chan, K. C. A. (2006). Introduction to the polymerase chain reaction. *Methods in Molecular Biology (Clifton, N.J.)*, 336, 1–10. <https://doi.org/10.1385/1-59745-074-x:1>
- Logan, J. M. J., & Edwards, K. J. (2009). An Overview of Real-Time PCR Platforms. In J. Logan, K. Edwards, & N. Saunders (Eds.), *Real-time PCR: Current Technology and Applications*. Caister Academic Press.
- Maxim Integrated. (2015). Cold-Junction Compensated Thermocouple-to-Digital Converter. In *MAX31855 Data sheet*. Maxim Integrated.
- Miralles, V., Huerre, A., Malloggi, F., & Jullien, M.-C. (2013). A Review of Heating and Temperature Control in Microfluidic Systems: Techniques and Applications. *Diagnostics*, 3(1), 33–67. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/diagnostics3010033>
- Mullis, K. B., & Faloona, F. A. (1987). [21] Specific synthesis of DNA in vitro via a polymerase-catalyzed chain reaction. In *Recombinant DNA Part F* (Vol. 155, pp. 335–350). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0076-6879\(87\)55023-6](https://doi.org/https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)55023-6)
- Regional Office for South-East Asia, W. H. O. (2016). *Establishment of PCR laboratory in developing countries, 2nd edition*. WHO Regional Office for South-East Asia. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/249549>
- 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), 1350–1354. <https://doi.org/10.1126/science.2999980>
- Sailaja, V., & Raju, K. N. (2019). A Review on Heating and Cooling system using Thermo electric Modules. *IOSR Journal of Electrical and Electronics Engineering (IOSR-JEEE)*, 14(1), 49–57. <https://doi.org/https://doi.org/10.9790/1676-1402014957>

- STMicroelectronics. (2017). VNH2SP30-E - Automotive fully integrated H-bridge motor driver. In *VNH2SP30-E Datasheet* (pp. 1–35). <https://www.st.com/en/automotive-analog-and-power/vnh2sp30-e.html>
- Tahamtan, A., & Ardebili, A. (2020). Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, 20. <https://doi.org/10.1080/14737159.2020.1757437>
- Tellurex Corporation. (2010). *Frequently Asked Questions About Our Cooling And Heating Technology*. [www.tellurex.com](http://www.tellurex.com)
- Wicaksono, N. B. (2013). Mesin PCR. In R. Mengko (Ed.), *Instrumentasi Laboratorium Klinik* (pp. 125–137). Penerbit ITB.
- Wicaksono, N. B., & Effendi, S. M. (2022). Heating and Cooling Rate Study on Water Cooling Thermal Cycler using Aluminium Block Sample. *Journal of Electronics, Electromedical Engineering, and Medical Informatics*, 4(2), 55–61. <https://doi.org/10.35882/jeeemi.v4i2.1>
- Wong, G., Wong, I., Chan, K., Hsieh, Y., & Wong, S. (2015). A Rapid and Low-Cost PCR Thermal Cycler for Low Resource Settings. *PLOS ONE*, 10(7), e0131701-. <https://doi.org/https://doi.org/10.1371/journal.pone.0131701>