



**VALIDASI KINERJA RANCANG BANGUN RAKITAN
MANDIRI PCR SEMI-OTOMATIS**

SKRIPSI

**untuk memenuhi persyaratan
dalam menyelesaikan program sarjana Strata-1 Kimia**

Oleh:

**TIARA ELMA
NIM 2211012320002**

**PROGRAM STUDI S-1 KIMIA
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMBUNG MANGKURAT
BANJARBARU
JUNI 2026**

LEMBAR PENGESAHAN

SKRIPSI

Validasi Kinerja Rancang Bangun Rakitan Mandiri PCR Semi-Otomatis

Oleh:

TIARA ELMA

NIM 2211012320002

Telah dipertahankan di depan Dosen Penguji pada tanggal 16 Juli 2026
Susunan Dosen Penguji:

Pembimbing I



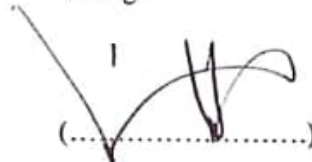
Dr. Tanto Budi Susilo, S. Si., M. Si.
NIP. 197012051999031001

Dosen Penguji:

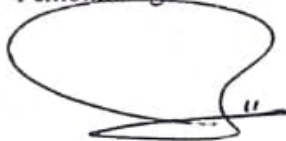
1. Aulia Rhamdani Arfan, S.Si., M.Si.


(Aulia Rhamdani A.)

2. Dr. Arfan Eko Fahrudin, S.Si.,
M.Eng.


(.....)

Pembimbing II



Achmad Ramadhanna'il Rasjava, S.Si., M.Si
NIP. 199802022024061001

Banjarbaru, 16 Juli 2026

Program Studi Kimia FMIPA ULM
Koordinator,



Dr. Ahmad Budi Junaidi, S. Si., M.
Sc
NIP. 197603042001121003

SKRIPSI

Validasi Kinerja Rancang Bangun Rakitan Mandiri PCR Semi-Otomatis

Oleh:

TIARA ELMA
NIM 2211012320002

Disetujui untuk disidangkan

Pembimbing I



Dr. Tanto Budi Susilo, S. Si., M. Si

NIP. 197012051999031001

Pembimbing II



Achmad Ramadhanna'il Rasjava.,
S.Si., M.Si

NIP. 199802022024061001

Koordinator Program Studi S-1 Kimia



Dr. Ahmad Budi Junaidi, S. Si., M. Sc

NIP. 197603042001121003

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Banjarbaru, 30 Juni 2026



Tiara Elma

NIM 2211012320002

ABSTRAK

VALIDASI KINERJA RANCANG BANGUN RAKITAN MANDIRI PCR SEMI-OTOMATIS (Oleh: Tiara Elma; Pembimbing: Dr. Tanto Budi Susilo, S.Si., M.Si. dan Achmad Ramadhanna'il Rasjava., S.Si., M.Si.; 2026; 78 Halaman).

Instrumen PCR komersial laboratorium memiliki keterbatasan berupa biaya pengadaan dan operasional yang tinggi, sehingga diperlukan alternatif alat rakitan mandiri yang ekonomis namun tetap presisi. Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi profil suhu operasional serta penerapan metode amplifikasi DNA menggunakan sistem PCR semi-otomatis rakitan sendiri. Karakterisasi profil suhu dilakukan menggunakan sensor pendeteksi suhu eksternal pada area keliling lingkaran radial chamber selama rentang total 15 menit dimulai dari awal pengujian hingga mencapai kondisi konstan. Penerapan metode amplifikasi diuji melalui reaksi penggandaan wilayah gen *Internal Transcribed Spacer* (ITS) pada sampel tanaman Jeruk Limau Kuit (*Citrus amblycarpa*) secara duplo dan wilayah gen 16S rRNA pada isolat bakteri *Escherichia coli* secara *quadruplicate* dengan optimasi volume reaksi 25 μ L untuk menekan laju penguapan sampel. Hasil pengukuran fisik menunjukkan nilai simpangan baku (SD) yang sangat seragam sebesar 0,1 °C di seluruh fasa dengan nilai deviasi akurasi total sistem sebesar $\pm 0,033$ °C, menunjukkan deviasi suhu batas toleransi yang lebih kecil dari deviasi suhu alat PCR komersial yang digunakan sebagai acuan. Pengujian biologis berhasil menunjukkan visualisasi pendaran pita DNA yang spesifik pada gel elektroforesis agarose. Analisis kurva standar linear Excel untuk sampel tanaman ($R^2 = 0,9967$) menghasilkan rata-rata ukuran fragmen DNA tanaman Limau Kuit sebesar $823,39 \pm 7,01$ bp dengan tingkat presisi tinggi (CV 0,85%) dan galat akurasi sebesar 9,24% terhadap kontrol komersial. Sementara itu, analisis kurva standar linear untuk sampel bakteri ($R^2 = 0,9931$) menghasilkan rata-rata ukuran fragmen DNA bakteri *E. coli* sebesar $1257,64 \pm 44,18$ bp dengan nilai CV sebesar 3,51% dan galat akurasi sebesar 7,76%. Akumulasi nilai galat pengujian biologis yang secara konsisten berada di bawah ambang batas kritis 15% menegaskan bahwa alat PCR rakitan mandiri ini memiliki kesetaraan fungsional yang valid dengan mesin komersial laboratorium dan layak digunakan untuk analisis molekuler dasar.

Kata kunci: PCR semi-otomatis, karakterisasi termal, *Escherichia coli*, Jeruk Limau Kuit, validasi biologis.

ABSTRACT

PERFORMANCE VALIDATION OF SEMI-AUTOMATED PCR SELF-ASSEMBLED DESIGN AND CONSTRUCTION (By: Tiara Elma; Supervisor: Dr. Tanto Budi Susilo, S.Si., M.Si. and Achmad Ramadhanna'il Rasjava., S.Si., M.Si.; 2026; 78 Pages).

Commercial laboratory PCR instruments have limitations in terms of high procurement and operational costs, necessitating an economical yet precise self-assembled device alternative. This study aims to evaluate the operational temperature profile and the application of DNA amplification methods using a self-assembled semi-automated PCR system. Physical thermal characterization was conducted using an external temperature sensor on the radial circumference area of the chamber for a total duration of 15 minutes, spanning from the initial startup until reaching steady-state conditions. The amplification method was tested via the multiplication of the Internal Transcribed Spacer (ITS) gene region in *Citrus amblycarpa* plant samples in duplicate and the 16S rRNA gene region in *Escherichia coli* bacterial isolates in quadruplicate, utilizing an optimized reaction volume of 25 μ L to suppress the micro-evaporation rate. The physical characterization results showed a highly uniform standard deviation (SD) of 0,1 $^{\circ}$ C across all phases, with a total system accuracy deviation value of $\pm 0,033$ $^{\circ}$ C, demonstrating a temperature deviation tolerance limits that are smaller than those of the commercial PCR device used as a reference. Biological testing successfully demonstrated the visualization of specific DNA band luminescence on agarose gel electrophoresis. Evaluation using an Excel linear standard curve for plant samples ($R^2 = 0,9967$) yielded an average DNA fragment size for *Citrus amblycarpa* of $823,39 \pm 7,01$ bp with high precision (CV 0,85%) and an accuracy error of 9,24% compared to the commercial control. Meanwhile, the linear standard curve analysis for bacterial samples ($R^2 = 0,9931$) showed an average DNA fragment size for *E. coli* bacteria of $1257,64 \pm 44,18$ bp with a CV of 3,51% and an accuracy error of 7,76%. The accumulation of biological testing error values, which remained consistently below the critical threshold of 15%, confirms that this self-assembled PCR device possesses valid functional equivalence with commercial laboratory machines and is highly feasible for basic molecular analysis.

Keywords: Semi-automated PCR, thermal characterization, *Escherichia coli*, *Citrus amblycarpa*, biological validation.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat serta karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Validasi Kinerja Rancang Bangun Rakitan Mandiri PCR Semi-Otomatis”. Penyusunan skripsi ini tidak akan terselesaikan tanpa adanya bantuan, dukungan, serta kemurahan hati berbagai pihak. Oleh sebab itu penulis mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada:

1. Dr. Tanto Budi Susilo, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing I dan Achmad Ramadhanna'il Rasjava., S.Si., M.Si selaku Dosen Pembimbing II yang telah bersedia membimbing penulis dari awal penelitian hingga akhir penelitian.
2. Aulia Rhamdani Arfan, S.Si., M.Si. selaku Dosen Penguji Pertama dan Dr. Arfan Eko Fahrudin, S.Si., M.Eng. selaku Dosen Penguji Kedua yang telah memberikan masukan dan evaluasi demi peningkatan kualitas skripsi ini.
3. Bapak/Ibu Dosen Kimia FMIPA ULM yang telah memberikan pengajaran dan dukungan kepada saya.
4. Kedua Orang Tua dan Saudara Perempuan yang sangat saya cintai, Ayah Hasbi Arrasyid dan Ibu Mahneta, serta Alya Rivana yang telah membantu memberikan semangat, doa, kasih harapan dan dorongan moral dan spiritual kepada Penulis dalam menyelesaikan tugas akhir skripsi.
5. Ailsa Dewinta Nur, sebagai teman terkasih Kimia 2022 (Titanium) yang sudah banyak membantu menyemangati dan membantu Penulis dalam pengerjaan tugas akhir skripsi.
6. Zeiwinda Putri Cahya Artini sebagai teman terkasih Kimia 2022 (Titanium) yang sudah banyak membantu menyemangati dan membantu Penulis dalam pengerjaan tugas akhir skripsi.
7. Risa Syalina Zahro sebagai teman terkasih Kimia 2022 (Titanium) yang sudah banyak membantu menyemangati dan membantu Penulis dalam pengerjaan tugas akhir skripsi.

8. Anggy Putri Emelly sebagai teman terkasih Kimia 2022 (Titanium) yang sudah banyak membantu menyemangati dan membantu Penulis dalam pengerjaan tugas akhir skripsi.
9. Teman-teman penulis angkatan 2022 dan lainnya yang telah menemani hari-hari penulis selama masa perkuliahan yang selalu membantu dan memberikan motivasi, serta seluruh pihak yang telah membantu penulis selama proses penelitian ini, baik secara langsung maupun tidak langsung.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih belum sempurna karena keterbatasan pengetahuan dan pengalaman yang dimiliki penulis. Oleh karena itu berbagai kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan untuk perbaikan penulisan selanjutnya.

Banjarbaru, 30 Juni 2026



Tiara Elma

NIM 2211012320002

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
PRAKATA.....	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	3
1.3. Tujuan.....	4
1.4. Manfaat.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1. <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR).....	6
2.1.1. Prinsip Termodinamika dan Kinetika Amplifikasi DNA	6
2.1.2. Optimasi Suhu Annealing dan Kompensasi Termal Instrumen	8
2.2. <i>Thermal Cycler</i> Konvensional dan <i>Low-Cost</i>	8
2.2.1. Evolusi dan Arsitektur <i>Thermal Cycler</i> Komersial	8
2.2.2. Pengembangan Sistem <i>Low-Cost</i> dan <i>Open Source</i> PCR.....	9
2.3. Standarisasi dan Validasi Kinerja Instrumen PCR.....	10
2.3.1. Parameter Pengujian Fisik Berdasarkan Standar Internasional	10
2.3.2. Metode Validasi Fisik dan Biologis.....	11
2.4. Penanda Genetik Target Validasi Biologis	11
2.4.1. Wilayah <i>Internal Transcribed Spacer</i> (ITS) DNA Tumbuhan.....	11
2.4.2. Gen 16S rRNA sebagai Target Identifikasi Bakteri	12
2.4.3. Pasangan Primer ITSF, ITSr, 27F, dan 142R.....	12
2.5. Karakteristik Spesimen Uji Validasi Instrumen	12

2.5.1. Limau Kuit (<i>C. amblycarpa</i>).....	12
2.5.2. Bakteri Model <i>E. coli</i>	13
2.6. Kebaruan Penelitian	13
BAB III METODE PENELITIAN	15
3.1. Waktu dan Tempat Penelitian	15
3.2. Alat dan Bahan	15
3.3. Prosedur Kerja.....	17
3.3.1. Validasi Fisik Instrumen dan Profil Pemetaan Termal	17
3.3.2. Isolasi dan Preparasi Templat DNA Spesimen Uji.....	17
3.3.3. Preparasi Campuran Reaksi Amplifikasi Skala Mikro	20
3.3.4. Operasional Siklus Termal.....	21
3.3.5. Elektroforesis Gel Agarosa dan Analisis Fragmen Amplikon.....	22
3.4. Analisis Data Kuantitatif dan Statistik	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	28
4.1. Realisasi Fisik Instrumen PCR Semi-Otomatis.....	28
4.2. Hasil Karakterisasi Termal Rancang Bangun PCR Semi-Otomatis.....	28
4.3. Analisis Kestabilan Sirkuit dan Fluktuasi Termal Kontroler Omron-SSR 29	
4.4. Hasil Validasi Biologis Amplifikasi DNA Tanaman dan Bakteri	31
4.4.1. Metodologi Analisis Semi-Log dan Parameter Kurva Standar Gel Elektroforesis	31
4.4.2. Analisis Keberhasilan Amplifikasi Wilayah Gen ITS Tanaman Jeruk Limau Kuit.....	33
4.4.3. Analisis Keberhasilan Amplifikasi Wilayah Gen 16S rRNA Bakteri <i>E. coli</i>	35
4.4.4. Analisis Kinerja Keseluruhan Instrumen PCR Rakitan Mandiri	39
BAB V PENUTUP	40
5.1. Kesimpulan.....	40
5.2. Saran	41
DAFTAR PUSTAKA	41
LAMPIRAN	45

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Komposisi reagen reaksi PCR skala mikro (volume total 25 μL).....	21
Tabel 2. Profil ringkasan parameter termal pada area keliling lingkaran radial <i>chamber</i>	28
Tabel 3. Ringkasan analisis fragmen DNA <i>C. amblycarpa</i> hasil amplifikasi PCR komersial dan PCR rakitan	34
Tabel 4. Ringkasan analisis fragmen DNA <i>E. coli</i> hasil amplifikasi PCR komersial dan PCR rakitan.....	37

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Diagram skematik profil program perubahan suhu terhadap waktu dalam satu siklus reaksi PCR; (a) Optimasi siklus termal untuk amplifikasi wilayah gen ITS limau kuit; (b) Optimasi siklus termal untuk amplifikasi wilayah gen 16S rRNA bakteri <i>E. coli</i>	7
Gambar 2. Struktur visual komponen antarmuka kontroler digital Omron E5CC yang menampilkan indikator PV dan SV (Omron, 2023).....	8
Gambar 3. Wujud Alat Rancang Bangun PCR Semi-Otomatis; (a) Foto Fisik Unit Hasil Rakitan Mandiri, (b) Ilustrasi Skematik Tata Letak Komponen Instrumen.	28
Gambar 4. Diagram Blok Alur Hubungan Kelistrikan Sistem Kontrol Suhu Digital Omron-SSR.....	28
Gambar 5. Grafik kestabilan termal kontroler Omron-SSR terhadap suhu kalibrasi selama 15 menit; (a) Fasa denaturasi target 95 °C, (b) Fasa <i>annealing</i> target 56 °C, (c) Fasa elongasi target 72 °C.....	29
Gambar 6. Kurva standar nilai logaritma ukuran fragmen marka <i>DNA ladder</i> terhadap jarak migrasi pada; (a) Gel agarose pengujian bakteri <i>E. coli</i> , dan (b) Gel agarose pengujian limau kuit.....	33
Gambar 7. Grafik perbandingan ukuran fragmen DNA limau kuit.....	34
Gambar 7. Hasil visualisasi elektroforesis pita DNA sampel Ast1 dan Ast2 amplifikasi wilayah gen ITS limau kuit.....	35
Gambar 8. Visualisasi elektroforesis gel agarose kegagalan amplifikasi uji coba bakteri tahap awal; (a) Kegagalan akibat retensi waktu simpan sampel yang memicu aktivitas <i>primer dimers</i> dominan, (b) Kegagalan akibat efek evaporasi mikro ekstrem pada reaksi volume berukuran kecil (10 μ L).....	36
Gambar 10. Hasil visualisasi elektroforesis gel agarose amplifikasi wilayah gen 16S rRNA bakteri <i>E. coli</i> menggunakan replikasi teknis <i>quadruplicate</i> ; (a) Kelompok fragmen DNA hasil instrumen PCR	

rakitan mandiri, (b) Kelompok fragmen DNA hasil instrumen PCR komersial lab sebagai kontrol positif.....	37
Gambar 11. Grafik perbandingan ukuran fragmen DNA <i>E. Coli</i>	38

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Diagram Alur Penelitian.....	45
Lampiran 2. Hasil Analisis.....	49
Lampiran 3. Perhitungan.....	60
Lampiran 4. Dokumentasi Penelitian.....	61