

Sejarah Teknik *Polymerase Chain Reaction* (PCR): Pengulangan Bersiklus dari Proses Denaturasi, Adhesi Primer dan Ekstensi

Oleh: **dr. Darmawi, M.Biomed, Ph.D**
Dosen Fakultas Kedokteran Universitas Riau
Koordinator Prodi Magister Ilmu Biomedis

Di masa pandemi COVID-19 ini tidak bisa dipungkiri semua orang familiar dengan PCR atau *Polymerase Chain Reaction* dengan dan hampir semua orang pernah menjalani pemeriksaan PCR untuk mendeteksi virus SARS-CoV-2 di saluran pernafasannya. Akan tetapi, tidak banyak yang mengetahui tentang sejarah bagaimana teknik ini ditemukan? siapa yang menemukan? dan bagaimana perkembangan teknik ini dari masa ke masa. Tulisan ini adalah rangkumannya secara terperinci dan sederhana.

Teknik PCR pertama kali ditemukan pada tahun 1985, memiliki kemampuan mereplikasi materi genetik (DNA) dan menduplikasikannya menjadi miliaran kopi dalam satuan waktu jam, sehingga dapat menyediakan jumlah DNA yang cukup yang dapat digunakan untuk aplikasi selanjutnya seperti untuk keperluan forensik, test genetik, analisis DNA makhluk purbakala atau diagnosis medis. Prinsip PCR sangat sederhana, pemeriksa hanya memerlukan DNA yang akan diperbanyak (disebut dengan templat), enzim yang dapat menggandakan DNA disebut dengan DNA polimerase, sejumlah basa nukleotida dari DNA (adenin, guanin, timin dan sitosin) dan untaian pendek DNA yang disebut dengan primer yang dapat menempel pada DNA templat dan menjadi titik awal untuk proses replikasi. Layaknya seorang koki, campurkan bahan-bahan di atas dengan komposisi tepat dalam sebuah tabung plastik dan letakkan dalam mesin yang disebut dengan *thermal cycler* dan tunggu keajaiban itu terjadi.

Pertama, campuran bahan-bahan tadi dipanaskan sampai lebih dari 90°C yang bertujuan untuk memutuskan ikatan DNA yang awalnya sepasang untai dipisah menjadi masing-masing satu untai, disebut dengan proses **denaturasi**. Lalu, mesin didinginkan dengan tujuan memberikan waktu untuk primer menempel atau adhesi pada untaian DNA yang kita inginkan – suhu yang diperlukan bergantung pada struktur primernya (pada umumnya berkisar pada angka 60°C), disebut dengan proses **adhesi** atau **annealing**. Selanjutnya, mesin dipanaskan kembali sampai pada suhu 72°C yang bertujuan agar enzim polimerase dapat bekerja menambahkan basa nukleotida pada primer dan menciptakan untaian DNA baru dengan menggunakan DNA templat, disebut dengan proses **ekstensi** atau **elongasi**. Lalu, proses ini dilakukan berulang-ulang: denaturasi untuk memisah ikatan DNA, adhesi untuk menempelkan primer dan ekstensi untuk menciptakan untaian DNA baru. Jumlah untaian DNA pada hasil akhir adalah 2^n (dengan n =jumlah siklus pengulangan proses PCR). Biasanya, siklus PCR dilakukan berulang sekitar 30-45 kali yang membutuhkan waktu kurang dari 2 jam dan hasil akhir sekitar miliaran kopi untaian DNA (dengan perhitungan 2^{30}).

Tidak bisa dipungkiri, setelah penemuan PCR ini membuat ilmu biologi molekuler dan riset biomedis menjadi lebih mudah dan cepat. Para ilmuwan secara cepat dapat menggandakan dan meneliti DNA dengan cara yang tidak pernah terpikirkan sebelumnya dan menjadi titik revolusi

hampir dalam semua keilmuan. Teknik PCR masih dipakai dan masih terus berkembang sampai sekarang.

Sejarah PCR

Darimana revolusi teknologi PCR ini berasal? Tercatat, teknik PCR ditemukan pada tahun 1985 oleh Kary Mullis, yang menang Nobel *Prize* untuk penemuannya ini. Tetapi, bahan-bahan untuk melakukan PCR ini sudah ditemukan sejak awal tahun 1980. Kary Mullis adalah orang yang memikirkan cara kreatif untuk menemukan teknik untuk meramu komposisi bahan-bahan tadi menjadi teknik PCR. Tidak lengkap rasanya, menceritakan tentang sejarah PCR tanpa mundur kebelakang untuk melihat penemuan enzim DNA polimerase yang membuat teknik PCR bisa terwujud. Ilmuan yang menemukan enzim ini adalah Arthur Kornberg yang juga disebut sebagai Bapak Biokimia-DNA.

Arthur Kornberg – Penemu DNA Polimerase

Arthur Kornberg, lahir pada tahun 1918, adalah seorang anak keluarga pekerja imigran Yahudi yang hidup di New York, Amerika. Arthur menyelesaikan sekolah menengah atasnya pada umur 15 tahun dan kuliah kedokteran pada tahun 1937 di *University of Rochester*. Dia tidak pernah bercita-cita menjadi seorang ahli biokimia dan bahkan baginya pelajaran biokimia sangat membosankan. Arthur bermimpi menjadi ahli penyakit dalam dan lebih senang pada dunia riset-akademik. Namun, Arthur gagal mengikuti ujian masuk pendidikan keahlian yang diimpikannya itu dan memilih untuk menggali sendiri keinginannya untuk meneliti dengan mengikuti sampai dimana rasa ingin tahu menuntunnya.

Selama pendidikan, Arthur menyadari ada warna kekuningan di bagian putih bola matanya yang tidak lama kemudian Dia mengetahui bahwa hal itu disebabkan peningkatan kadar bilirubin darah, yang merupakan bahan alami yang terbentuk atas pemecahan sel darah merah. Rasa penasaran membuatnya meneliti hal tersebut dengan pertanyaan seberapa sering kejadian ini bisa terjadi. Dimulai dengan memeriksa secara sistematis kadar bilirubin darah teman-temannya, melakukan pemeriksaan pada ruangan laboratorium yang dipinjamnya pada larut malam dan di akhir pekan.

Arthur akhirnya menemukan adanya penyakit bawaan dimana terjadi penurunan kemampuan tubuh untuk membuang bilirubin dalam darah yang sering ditemukan pada saat itu dan mempublikasikan temuannya pada tahun 1942. Penyakit itu kita ketahui sekarang sebagai kelainan genetik bawaan ringan yang disebut dengan sindrom Gilbert's.

Setelah lulus dari sekolah kedokteran pada pertengahan perang dunia II, Arthur menjadi dokter di kapal angkatan laut. Namun, pekerjaannya ini tidak berlangsung lama. Pada saat itu, pasukan Amerika secara rutin mendapatkan vaksinasi demam kuning (*yellow fever*), namun vaksin itu menyebabkan kejadian luar biasa (KLB) peningkatan darah bilirubin darah disebut dengan jaundice. Para pemangku kebijakan di bidang kesehatan saat itu memulai riset untuk menemukan cara mencegah efek samping vaksin ini. Tulisan Arthur tentang fungsi hati dan kadar bilirubin dahulu mendapatkan perhatian dari direktur *National Institute of Health* (NIH), Amerika dan diminta untuk bekerjasama walaupun tidak memiliki pengalaman formal dalam bidang riset.

Arthur hanyut dalam ilmu biokimia sejak bergabung dengan NIH dan pada akhirnya jatuh cinta pada biokimia. Arthur bekerja di bagian nutrisi, diet sintetik dan vitamin dan dia akan menemukan minat sejatinya yaitu enzim. Arthur sangat kagum dengan bagaimana sel bekerja dimana enzim

memiliki peran penting dalam membuat semua reaksi kimia yang ada di dalam sel dapat berlangsung.

“I responded to the lure of enzymes and have remained faithful to them ever since,” ingat Arthur yang tertulis dalam autobiografinya.

Arthur menjadi ahli dalam mengidentifikasi dan memurnikan enzim yang berperan dalam sistem pernafasan sel, proses untuk memproduksi energi di dalam sel. Setelah itu, Arthur dipercaya menjadi kepala bagian enzim di divisi ilmu nutrisi NIH pada tahun 1947.

Singkat cerita, Arthur pindah ke Washington University dan menjadi kepala departemen mikrobiologi dan memulai riset untuk mengidentifikasi enzim-enzim yang berperan dalam proses DNA replikasi. Dia bekerja sama dengan istrinya yang juga ahli biokimia bernama Sylvy Ruth Levy. Hal ini menjadi perhatian Arthur karena pada tahun 1953, Watson dan Crick baru saja menemukan struktur DNA untai ganda dan menuliskan dalam papernya bahwa sepasang untai DNA kemungkinan dapat menjadi templat untuk mengalami replikasi sehingga menghasilkan dua untai ganda DNA yang identik. Kita akan membahas tentang sejarah penemuan DNA dalam tulisan berikutnya.

Pada saat itu, para ilmuwan berfikir hampir tidak mungkin menciptakan DNA sintetik di luar sel. Namun Arthur memiliki keyakinan yang kuat bahwa hal itu bisa dilakukan dengan kekuatan enzim dan biokimia. Dia memulai melihat unsur penyusun DNA yang ditemukan Watson dan Crick lalu mengidentifikasi bahan-bahan asal dan enzim yang terlibat dalam penyusunan basa nukleotida. Pada tahun 1955, Dia berhasil mensintesis ke empat basa nukleotida (adenin, guanin, sitosin dan timin) di laboratoriumnya dan mulai mengidentifikasi enzim apa saja yang dapat menyusun struktur tersebut.

Dalam penelitiannya, Arthur memecah sel bakteri *E. coli* lalu memisahkan protein-protein yang ada didalam selnya menjadi bagian-bagian kecil dan menambahkan DNA dan basa nukleotida yang telah ditandai dengan radioaktif untuk mencari molekul pada protein *E. coli* tadi yang dapat menempel pada untai DNA yang baru yang menandakan aktivitas replikasi. Hal ini menghabiskan waktu berbulan-bulan untuk mencari tanda DNA replikasi hingga pada tahun 1956 Dia berhasil menemukan dan mengisolasi enzim yang berperan dalam replikasi DNA dan diberi nama DNA polimerase. Pada tahun 1957, Arthur dan Sylvy telah dapat mensintesis DNA di dalam sebuah tabung reaksi menggunakan enzim yang mereka temukan tadi namun hasilnya sangat sedikit dan reaksi yang digunakan sangat tidak efisien.

Pada awalnya, mereka tidak mengetahui apakah produk DNA sintesis tadi secara akurat sama dengan yang aslinya. Untuk itu, Arthur juga menemukan metode pembacaan urutan DNA dengan pelabelan radioaktif dan berhasil mengkonfirmasi penggunaan enzim DNA polimerase dapat menyalin templat DNA secara akurat dan juga membuktikan bahwa hipotesis Watson dan Crick yang menyatakan dua untai DNA masing-masing berjalan secara berlawanan arah. Pada tahun 1959, Arthur Konberg memenangkan Nobel Prize atas risetnya tentang replikasi DNA replikasi.

Arthur menjelaskan dalam autobiografinya yang berjudul “For the love of enzymes” bahwa istrinya memberikan kontribusi yang sangat besar dalam penemuan enzim DNA polimerase,

walaupun istrinya tidak mendapatkan bagian dari Nobe Prize. Pada suatu wawancara Sylve ditanya kenapa dia tidak dapat Nobel Prize juga, Dia menjawab “Saya dirampok” sambil bercanda. Arthur meneruskan kecintaannya pada kimia enzim dan DNA replikasi pada sisa karirnya.

Har Gobind Khorana – Penemu replikasi tunggal

Ilmuan selanjutnya dalam sejarah PCR adalah Har Gobind Khorana. Khorana, anak bungsu dari 5 bersaudara, lahir pada tahun 1922 di desa miskin di Pakistan yang pada saat itu dijajah oleh Inggris. Ayahnya selalu berusaha memberikan anak-anaknya pendidikan yang baik dan mereka adalah sedikit diantara penduduk desa yang bisa membaca.

Usaha ayahnya terbayar. Khorana kuliah ilmu kimia di perguruan tinggi di India dan mendapatkan kesempatan untuk mengenyam pendidikan doktoral di Universitas Liverpool. Setelah itu, Dia bekerja di berbagai universitas termasuk di Universitas Cambridge di lab Alexander Todd, seorang ahli kimia yang memimpin riset tentang protein dan asam nukleat.

Pada tahun 1960, Khorana pindah ke *Institute of Enzyme Research* di *University of Wisconsin*, dimana dia memulai mencoba menerjemahkan kode genetik. Hasil karyanya mendapatkan Nobel Prize pada tahun 1968.

Tidak hanya berhenti dengan menerjemahkan kode genetik, Khorana memasang proyek ambisius untuk menghasilkan gene sintetik pertama dengan merangkai beberapa pasang basa nukleotida. Khorana menggunakan enzim DNA polimerase untuk memperbanyak DNA hasil sintetiknya dan menambahkan primer sintetik dan basa nukleotid sintetik, teknik ini dinamakan *repair replication*.

Dengan mengadaptasi ide Khorana, Kjell Kleppe, kebangsaan Norwegia, pada tahun 1971 berhipotesis dengan memodifikasi teknik Khorana namun menggunakan sistem dua primer yang dapat menggandakan jumlah DNA, akan tetapi Kjell Kleppe tidak bisa membuktikannya di laboratorium bahwa hipotesanya tersebut berhasil atau tidak. Bahkan ide ini tidak menarik perhatian anggota lab Khorana untuk membuktikannya karena dianggap tidak mungkin. Hal ini disebabkan DNA polimerase akan terurai pada suhu 95°C, suhu yang dibutuhkan untuk mendenaturasi untai ganda DNA sehingga setiap siklus harus menambahkan enzim baru yang lebih fresh, dimana ini sangat tidak efisien.

Kary Mullis – Jenius yang beruntung?

Pada tahun 1980, kebanyakan laboratorium sudah biasa dalam penggunaan DNA polimerase ditambah dengan primer pada metode repair replication untuk memperbanyak DNA. Namun, Kary Mullis memikirkan ide cemerlang yang membawa teknik PCR menjadi terwujud.

Mullis belajar kimia di the Georgia Institute of Technology dan mendapatkan gelar PhD nya di bidang biokimia di Universitas California, Berkley. Dia pernah bekerja sebagai post doktoral di Universitas Kansa dan pada akhirnya bekerja pada perusahaan bioteknologi bernama Cetus Corporation. Tugas Mullis di perusahaan itu adalah membuat untai pendek DNA yang disebut dengan oligonukleotida yang biasanya digunakan sebagai primer untuk memperbanyak DNA dengan teknik *repair replication*.

Sedikit tentang perilaku aneh Mullis yang sangat terkenal bagi sesama koleganya di perusahaan itu. Pernah dilaporkan bahwa Mullis meletakkan kunci dalam mesin lab untuk menghentikan ilmuan lain bekerja, bahkan Dia pernah mengancam rekan kerjanya dengan senjata karena telah menggoda wanita idamannya. Tingkah laku Mullis ini membuat orang tidak terkejut apabila mengetahui bahwa Dia mengkonsumsi LSD dan menghabiskan waktunya berbicara dengan teman imajinasinya.

Semakin kesini, pembuatan oligonukleotida semakin otomatis dan membuat Mullis bosan dan mencoba memikirkan hal lain. Dan cerita tentang ide cemerlangnya dimulai, seperti yang tertulis dalam sebuah artikel yang ditulis Mullis pada tahun 1990 di majalah Scientific American yang berjudul "The Unusual Origin of the Polymerase Chain Reaction".

Pada suatu malam Mullis dan pacarnya Jennifer Barnett sedang dalam perjalanan mengendarai mobil di jalan bebas hambatan nomor 101 dari California menuju Mendocino County pada akhir musim semi tahun 1983. Dia menulis:

"She was asleep. U.S. 101 was undemanding. I liked night driving; every weekend I went north to my cabin and sat still for three hours in the car, my hands occupied, my mind free. That night the air was saturated with moisture and the scent of flowering buckeye. The reckless white stalks poked from the roadside into the glare of my headlights."

Pada saat mengemudi, Mullis melayang-layang memikirkan pekerjaannya di lab menggunakan DNA, primer, nukleotida dan DNA polimerase. Dan klik tiba-tiba Dia melihat ide menyempurnakan teknik itu. Mullis tersadar sebagai ganti menambahkan satu primer, dengan menambahkan dua primer yang cocok secara berlawanan di posisi spesifik pada DNA, Dia dapat membuat salinan berjumlah tak terhingga dari DNA templat tadi dengan menggunakan siklus suhu dan DNA polimerase. Pengulangan proses ini: pemisahan untai ganda DNA, pengikatan primer dan penambahan untai DNA dengan DNA polimerase dapat secara eksponensial menggandakan jumlah untai ganda DNA baru setiap waktunya.

Pada tanda jarak 46.7 mil di jalan bebas hambatan nomor 128, Dia tiba-tiba menghentikan laju mobilnya dan menepi. Lalu mengambil sebuah pena dari laci mobil dan menulis:

"I... started drawing lines of DNA molecules hybridizing and extending, the products of one cycle becoming the templates for the next in a chain reaction Jennifer protested again from the edge of sleep. "You're not going to believe this," I crowed. "It's incredible." She refused to wake up. I proceeded to the cabin without further stops."

Malam itu, Mullis tidak bisa tidur dan mendeskripsikan kejadian malam itu dengan "Boom DNA meledak-ledak di Otakku", menggambarkan sketsa dari ide cemerlangnya di atas mobil untuk memastikan idenya itu tidak hilang menguap di panasnya aspal.

Membuat idenya menjadi nyata

Saat kembali bekerja pada hari Senin, pada hari yang cukup dingin, Mullis merasakan ragu untuk dapat mewujudkan idenya tadi. Idenya terlihat sangat sempurna dan sederhana sampai berfikir kenapa tidak ada seorangpun yang punya ide seperti itu sebelumnya. Mullis meminta pustakawan

Cetus untuk mencari semua literatur yang berhubungan dengan DNA polimerase dan tidak menemukan hal yang serupa dengan idenya tadi. Mullis hanya menemukan hipotesis yang belum terbukti oleh Kleppe tentang dua primer yang telah dipublikasi satu dekade sebelumnya dan Dia bekerja di lab untuk membuktikan konsepnya dapat dilakukan walaupun banyak yang tidak percaya bahkan tidak tertarik sama sekali mendiskusikannya.

Pada tahun 1984, Mullis mempresentasikan beberapa hasil pendahuluan tentang teknik PCR pada acara konferensi tahunan perusahaannya. Sayangnya, hasil itu tertutupi oleh perilakunya yang nyeleneh pada acara itu bahkan seminggu setelah itu bahkan Dia terancam dipecat.

Pada saat yang bersamaan, Cetus bekerja pada uji baru untuk keadaan genetik seperti anemia sel sabit. Salah seorang ilmuwan senior pada perusahaan itu berfikir teknik PCR berpotensi untuk meningkatkan jumlah DNA dan pada akhirnya dapat meningkatkan sensitivitas deteksi penyakit itu. Beberapa orang percaya bahwa Mullis adalah seorang jenius yang berandal, oleh karena itu Dia diberi masa percobaan untuk bekerja pada PCR dengan membentuk kelompok riset kecil oleh perusahaannya.

Dua puluh bulan setelah ide cemerlang Mullis keluar di jalan bebas hambatan pada malam hari, seorang teknisi bernama Stephen Scharf melakukan percobaan dan membuktikan idenya dapat dilakukan, memperlihatkan untuk pertama kali salinan DNA spesifik menghasilkan produk yang akurat. Scharf menulis dalam buku catatan laboratoriumnya dengan huruf kapital: "IT WORKS!"

Kelompok kecil tadi terus bekerja secara sistematis untuk mengoptimasi kondisi percobaan dan mengumpulkan data sebanyak-banyaknya sampai cukup untuk membuktikan bahwa mereka berhasil menggandakan bagian spesifik dari DNA sampai 100.000 kali. Data ini menjadi dasar untuk patent awal teknik PCR yang mereka dapat pada tahun 1985. Mullis mendapat bonus 10.000 USD dari perusahaan Cetus untuk penemuan itu, walaupun Dia tidak seberuntung itu pada cerita cinta karena hubungannya dengan Jennifer telah berakhir.

Walaupun penemuan PCR ini adalah suatu terobosan luar biasa, ada satu masalah yang masih menjadi kendala untuk menjalankan teknik ini yang secara fundamental juga tertera dalam tulisannya Kleppe pada tahun 1971. Methoda PCR ini menggunakan DNA polimerase yang dimurnikan dari bakteri *E. coli* yang perlu diganti setiap akhir siklusnya akibat hancur oleh suhu yang tinggi pada tahap denaturasi.

Solusi dari masalah itu datang dari penemuan lain yang sebenarnya sudah ditemukan sejak tahun 1969, dengan jarak sekitar 900 mil dari kantor utama Cetus di California.

Taq and Taq polimerase

Mata air dan air mancur panas yang ada di taman nasional Yellowstone arah barat laut kota Wyoming dapat mencapai suhu 95°C karena adanya magma vulkanik di bawahnya. Suhu ekstrem itu menurut ilmuwan tahun 1960 dianggap merupakan tempat yang tidak kompatibel untuk kehidupan yang memerlukan enzim di dalam sel. Akan tetapi, seorang laki-laki bernama Thomas Brock mempunyai ide gila untuk membuktikan hal tersebut salah.

Mendirikan tempat penelitian di taman itu, Brock berusaha mengumpulkan beberapa sampel bakteri pada mata air panas yang mendidih. Tak disangka, Dia menemukan bakteri aneh berwarna merah muda hidup dalam air tersebut. Dia namakan spesies itu dengan *Thermus aquaticus*. Sayangnya, penemuan Brock ini tidak diminati pada saat itu dan akhirnya menutup status penelitian itu pada tahun 1975 setelah mengirimkan sampel itu ke biobank untuk disimpan.

Singkat cerita, pada tahun 1976, Alice Chien dan John Trela dari Universitas Cincinnati berhasil memurnikan DNA polimerase dari *Thermus aquaticus* dan diberi nama Taq polimerase dan membuktikan bahwa enzim ini dapat bertahan pada suhu lebih dari 90°C.

Enzim inilah yang dibutuhkan oleh tim di perusahaan Cetus untuk membuat PCR menjadi terobosan revolusi teknik laboratorium. Percobaan berhasil membuktikan bahwa dengan menambahkan Taq polimerase pada teknik PCR dan menyempurnakan teknik PCR seperti yang telah kita ketahui sampai saat ini. Percobaan itu dipublikasikan pada tahun 1988, dua tahun setelah Mullis berhenti dari Cetus.

Penemuan mesin *thermal cycler*

Masalah enzim sudah terpecahkan. Namun ada satu masalah lain yaitu bagaimana menyederhanakan perpindahan bahan-bahan PCR dari satu suhu ke suhu lainnya. Pada awalnya, ilmuwan melakukannya dengan memindahkan tabung reaksi dari satu wadah bertemperatur tertentu ke wadah lainnya menggunakan tangan selama berjam-jam, sungguh suatu pekerjaan yang menyakitkan.

Penemuan mesin *thermal cycler* menjadi solusi atas masalah tersebut. Mesin ini dapat secara otomatis melaksanakan program PCR yang bersiklus antara pemanasan dan pendinginan. Ilmuwan hanya perlu meletakkan tabung reaksi kecil kedalam mesin ini dan tunggu selama kurang dari 2 jam akan mendapatkan hasil miliaran salinan dari DNA yang diinginkan. Ini seperti menggunakan mesin foto kopi kertas, namun untuk DNA. Penemu mesin ini adalah Heinz Ulrich Weier dan Joe W. Gray pada tahun 1988 seperti tertulis dalam publikasi mereka yang berjudul “*A Programmable System to Perform the Polymerase Chain Reaction*”.

Pada tahun 1993, Kary Mullis memenangkan Nobel Prize untuk penemuan PCR. Namun, tidak semua orang senang dengan hal itu, para koleganya di perusahaan Cetus sempat tidak senang karena hanya nama Mullis yang memenangkan Nobel Prize. Sangat wajar apabila orang menganggap Mullis memiliki karakter yang kontroversi. Kenyataannya, ide orisinal dari PCR sudah dipublish jauh sebelum Dia bekerja di bidang ini, Dia tidak menemukan satupun komponen yang diperlukan untuk teknik ini, bukan orang yang melakukan percobaan untuk membuktikannya dan bahkan Mullis bukan yang mengembangkan metode PCR menggunakan Taq polimerase. Namun, Mullis hadir dengan pemikiran sederhana yang dapat memformulasikan menjadi cerita yang luar biasa. Jadi, apakah mungkin Mullis seharusnya dipertimbangkan menerima Nobel Prize pada bidang literatur?

Perkembangan eksponensial teknik PCR

Dalam waktu singkat, PCR menyebar ke laboratorium di seluruh penjuru. PCR dinobatkan menjadi teknologi terkemuka dan terpenting pada abad ke 20, dan Taq polimerase menjadi “*Molecule of the year*” oleh jurnal Science pada tahun 1989. Sejak itu, teknik PCR mengalami

beberapa penyempurnaan yang bermakna, contohnya polimerase diganti menggunakan polimerase yang di rekayasa secara genetik dan beberapa adaptasi lainnya yang dapat meningkatkan kecepatan, akurasi dan kontrol kualitas.

PCR adalah teknik yang sangat serbaguna yang bisa diterapkan dalam jangkauan yang sangat luas, mulai dari mengidentifikasi potongan-potongan kecil DNA di tempat kejadian kejahatan atau area bencana, mendiagnosis penyakit dan lain sebagainya.

Salah satu modifikasi teknik PCR adalah RT-PCR (*real time-PCR*) yang dapat memperbanyak RNA (untai tunggal dari DNA). RT-PCR juga disebut dengan PCR kuantitatif yang dapat mengkombinasikan penggandaan bahan genetik dan sekaligus mendeteksi seberapa banyak jumlahnya dalam satu waktu secara langsung dan akurat. Salah satu aplikasi teknologi PCR adalah untuk uji diagnostik seperti kelainan genetik, tumor dan penyakit menular termasuk COVID-19 dan Ebola.

Perkembangan terakhir dari teknik PCR adalah yang dinamakan *Loop-mediated Isothermal Amplification* atau LAMP-PCR. Teknik terbaru ini menggunakan primer yang spesifik dapat membentuk struktur melengkung (loop) dan dapat menggandakan DNA pada suhu yang konstan tanpa perlu menggunakan siklus suhu dan tentunya akan meningkatkan kecepatan prosedur. Uji LAMP-PCR untuk COVID-19 sekarang digunakan di bandara Heathrow, United Kingdom dan hasilnya bisa keluar kurang dari satu jam. Pandemi COVID-19 ini juga mendorong pengembangan teknik PCR menjadi lebih cepat, akurat, murah dan mudah dibawa. PCR sangat dibutuhkan saat ini sebagai salah satu komponen yang dapat mengontrol pandemi.

PCR masih akan tetap beramplifikasi di segala penjuru dunia walaupun telah berumur tiga dekade dari ide cemerlang Mullis dan hampir 50 tahun dari tulisan Kleppe dan Khorana.