

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	i
BAB 1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Tujuan Khusus Riset.....	2
1.3 Manfaat Riset.....	2
1.4 Urgensi Riset	2
1.5 Temuan yang Ditargetkan	2
1.6 Kontribusi Riset.....	2
1.7 Luaran Riset.....	2
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Gel Elektroforesis.....	2
2.2 Jenis Gel dalam Elektroforesis Asam Nukleat	3
2.2.1 Gel Agarosa	3
2.2.2 Gel Poliakrilamida.....	4
2.3 <i>DNA ladder</i>	4
BAB 3. METODE RISET	
3.1 Waktu dan Tempat	5
3.2 Bahan dan Alat	5
3.3 Variabel Riset	5
3.4 Tahapan Riset	5
3.5 Prosedur Riset.....	5
3.5.1 Pengumpulan Darah dan Isolasi DNA	5
3.5.2 <i>Polymerase Chain Reaction</i>	6
3.5.3 Elektroforesis.....	8
3.5.4 <i>DNA ladder</i>	8
3.6 Indikator Capaian Setiap Tahapan.....	8
3.7 Teknik Pengumpulan Data	8
3.8 Analisis Data	8
3.9 Cara Penafsiran.....	8
3.10 Penyimpulan Hasil Riset	9
BAB 4. BIAYA DAN JADWAL KEGIATAN	
4.1 Anggaran Biaya	9
4.2 Jadwal Kegiatan.....	9
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	
Lampiran 1. Biodata Ketua, Anggota serta Dosen Pendamping	11
Lampiran 2. Justifikasi Anggaran Kegiatan	17
Lampiran 3. Susunan Organisasi Tim Pelaksana dan Pembagian Tugas	19
Lampiran 4. Surat Pernyataan Ketua Pelaksana.....	20

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Perkembangan teknik biologi molekuler yang pesat memicu peningkatan penggunaan *polymerase chain reaction* (PCR). Hasil amplifikasi DNA dari PCR akan divisualisasi dengan elektroforesis gel agarosa. Studi menggunakan metode ini sangat berperan dalam rekayasa genetika. Elektroforesis merupakan suatu metode pemisahan zat bermuatan berupa kation ataupun anion seperti protein, DNA, dan RNA dengan memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan oleh elektroda-elektroda dari kutub yang berlawanan (Garibyan dan Avashia 2013).

Hasil elektroforesis memerlukan *DNA ladder* sebagai pembanding berat molekul atau panjang pasang basa (bp). Sayangnya, saat ini *DNA ladder* yang digunakan di Indonesia, seluruhnya mengandalkan produksi luar negeri. Harga yang cukup tinggi dan transportasi yang menguras waktu merupakan kekurangan dari impor bahan tersebut. Oleh karena itu, sebagai bentuk realisasi transformasi ekonomi menuju Indonesia mandiri, *DNA ladder* perlu diproduksi secara lokal.

Sekali pemakaian memerlukan 0,5 µg (5 µL) *DNA ladder*. *DNA ladder* komersial tersedia dengan berat 50 µg dan 250 µg dengan kisaran harga masing-masing Rp 1,0 juta dan Rp. 4,2 juta. Jika diperkirakan, biaya yang digunakan untuk sekali pemakaian *DNA ladder* adalah Rp8.400-Rp10.000. Namun, biaya tersebut masih di luar biaya pengiriman. Produksi *DNA ladder* secara mandiri akan memberikan biaya yang lebih terjangkau.

Kebutuhan farmasi saat ini didominasi barang impor, termasuk *DNA ladder*. Tren impor industri farmasi mengalami peningkatan nilai selama 2018-2020. Peningkatan permintaan selama pandemi Covid-19 berujung pada kelangkaan dan naiknya nilai barang. Besarnya nilai impor menyebabkan defisit neraca perdagangan industri farmasi. Pada tahun 2020, neraca perdagangan industri farmasi mengalami peningkatan defisit hingga USD 1,05 miliar. Tingginya ketergantungan impor merupakan permasalahan penting yang dihadapi Indonesia, terkhusus industri farmasi (Kemenperin, 2021).

Jumlah penduduk Indonesia yang terbesar di Asia Tenggara dan terbesar keempat di dunia, yaitu sebanyak 270,20 juta jiwa, merupakan pasar farmasi yang sangat prospektif. Industri farmasi memiliki peluang yang baik untuk tumbuh ditandai dengan peningkatan kuantitas industri farmasi selama 5 tahun terakhir (2015-2019). Pasar farmasi nasional tersebut didominasi oleh perusahaan farmasi lokal sebanyak 73% (Kemenperin, 2021). Oleh karena itu, sangat disayangkan jika *DNA ladder* dengan permintaan yang tinggi, tidak mengandalkan produksi lokal.

Penelitian ini menyadari pentingnya membuat dan memproduksi *DNA ladder* secara mandiri. Selain alasan ekonomis dan efisiensi waktu, *DNA ladder* yang dibuat secara mandiri membuktikan kualitas peneliti Indonesia. Penggunaan bahan dan alat buatan Indonesia dalam penelitian akan mengurangi pemakaian produk impor sehingga Indonesia dapat mencapai predikat negara maju.

1.2 Tujuan Khusus Riset

1. Menghasilkan *DNA ladder* 100 bp buatan sendiri.
2. Membandingkan kualitas *DNA ladder* 100 bp buatan sendiri dengan *DNA ladder* komersial.

1.3 Manfaat Riset

1. Mengurangi biaya penggunaan *DNA ladder* 100 bp dalam pekerjaan biologi molekular.
2. Menghindari waktu menunggu pembelian *DNA ladder* 100 bp komersial sehingga memudahkan penelitian biologi molekular.

1.4 Urgensi Riset

Biaya, lama pengiriman, dan dependensi produksi *DNA ladder* 100 bp terhadap negara lain menjadi alasan penelitian ini dilakukan.

1.5 Temuan yang Ditargetkan

DNA ladder 100 bp.

1.6 Kontribusi Riset

Hasil penelitian ini berkontribusi terhadap peningkatan efisiensi harga terkait pengetahuan biologi molekuler, pengrajan secara mandiri, khususnya di bidang kedokteran dan sains.

1.7 Luaran Riset

Luaran yang diharapkan dari penelitian ini adalah laporan kemajuan, laporan akhir, dan publikasi artikel ilmiah pada jurnal nasional.

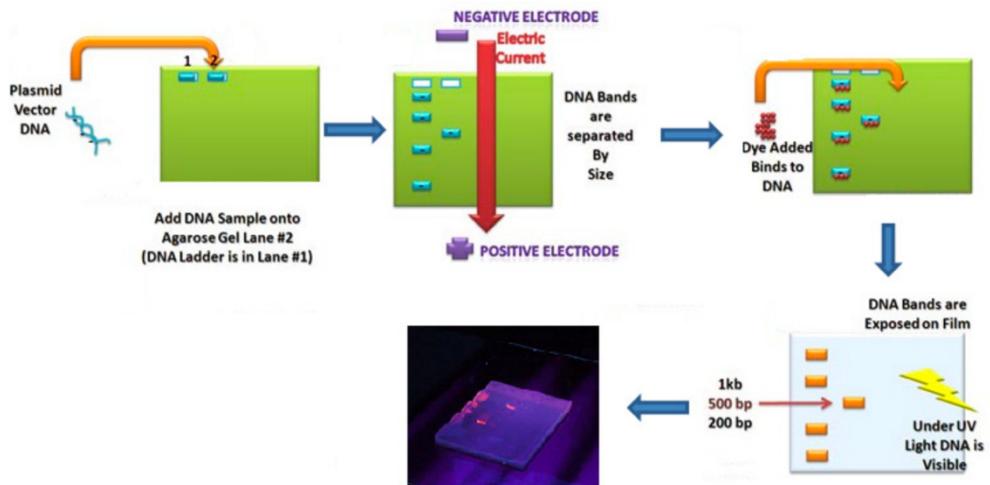
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Gel Elektroforesis

Studi elektroforesis DNA dimulai pada tahun 1964, ketika tiga kelompok peneliti mengukur mobilitas. Mereka menemukan bahwa mobilitas tidak tergantung pada ukuran molekul DNA yang lebih besar dari 400 pasangan basa (bp), dan divariasikan dengan kekuatan ionik dan identitas dan valensi kation. Ada waktu yang hampir bersamaan, terinspirasi oleh pemisahan protein dalam matriks gel sintetik, peneliti lain mulai menggunakan matriks serupa untuk memisahkan molekul RNA dan DNA berdasarkan massa molekul (Magdeldin, 2012).

Elektroforesis merupakan metode pemisahan zat memanfaatkan medan listrik yang dihasilkan oleh elektroda-elektroda dari kutub yang berlawanan untuk memisahkan senyawa-senyawa seperti protein, DNA maupun RNA (Gambar 1). Elektroforesis membutuhkan media pemisah berpori berupa fase diam seperti gel agarosa, dan larutan dapar. Hasil elektroforesis berupa pita-pita pemisahan senyawa (*DNA ladder*). Kecepatan dan waktu gerak molekul bergantung pada rasio muatan terhadap massanya, bentuk, dan ukuran molekul (Harahap, 2018).

Teknik biologi molekuler, seperti PCR, banyak digunakan untuk aplikasi medis, forensik, dan penelitian. Dalam virologi, PCR menawarkan sensitivitas dan reproduktifitas untuk mendeteksi genom dan karakterisasi strain virus. Deteksi fragmen DNA hasil PCR terkait dengan matriks elektroforesis produk PCR. Elektroforesis gel agarosa atau poliakrilamida adalah metode standar yang digunakan untuk memisahkan, mengidentifikasi, dan memurnikan asam nukleat, karena kedua gel ini berpori (Stellwagen, 2009).



Gambar 1.1. Prinsip Kerja Elektroforesis Gel (Magdeldin, 2012)

2.2 Jenis Gel dalam Elektroforesis Asam Nukleat

2.2.1 Gel Agarosa

Agarosa adalah polimer linier alami yang diekstraksi dari rumput laut. Ia membentuk matriks gel dengan cara ikatan hidrogen ketika dipanaskan dalam dapur dan memadat ketika suhunya menurun. Untuk sebagian besar aplikasi, hanya komponen tunggal agarosa yang diperlukan sedangkan katalis polimerisasi tidak diperlukan. Oleh karena itu, gel agarosa sederhana dan cepat dipersiapkan. Gel agarosa adalah media populer untuk pemisahan asam nukleat berukuran sedang dan besar serta memiliki rentang pemisahan yang luas tetapi daya pisah relatif rendah. Pita yang terbentuk dalam gel agarose cenderung kabur dan menyebar terpisah. Ini adalah akibat dari ukuran pori-pori dan sebagian besar tidak bisa dikendalikan (Magdeldin, 2012).

Gel agarosa mudah dicetak dan ditangani dibandingkan dengan matriks lainnya, karena pengaturan gel lebih merupakan perubahan fisik daripada perubahan kimia. Sampel juga mudah untuk memisah. Setelah percobaan selesai, gel yang dihasilkan dapat disimpan dalam kantong plastik di lemari es (Mesapogu *et al.*, 2013).

Elektroforesis gel agarosa adalah metode yang rutin digunakan untuk memisahkan protein, DNA, atau RNA. Asam nukleat dipisahkan menurut ukuran molekul dengan bantuan medan listrik. Molekul bermuatan negatif bermigrasi menuju kutub anoda (positif). Aliran migrasi ditentukan semata-mata oleh berat molekul dengan molekul berbobot kecil bermigrasi lebih cepat daripada yang lebih besar. Selain pemisahan ukuran, fraksinasi asam nukleat menggunakan

elektroforesis gel agarosa dapat menjadi langkah awal untuk pemurnian lebih lanjut dari pita yang diinginkan. Perpanjangan teknik ini termasuk memotong "pita" dalam gel agarose yang telah diwarnai dengan etidium bromide memanfaatkan transilluminator UV (Levings dan Pring, 1976).

Elektroforesis gel agarosa memberikan banyak keuntungan. Misalnya, asam nukleat tidak berubah secara kimiawi selama proses pemisahan dan gel agarosa dapat dengan mudah divisualisasi dan ditangani. Selanjutnya, sampel asam nukleat dapat diperoleh kembali dan diekstraksi dari gel agarosa untuk penelitian lebih lanjut. Selain itu, gel agarosa dapat disimpan dalam kantong plastik dan didinginkan. Tergantung pada dapar selama elektroforesis untuk menghasilkan arus listrik yang sesuai dan untuk mengurangi panas yang dihasilkan oleh arus listrik, menjadi teknik elektroforesis (Lodge *et al.*, 2007).

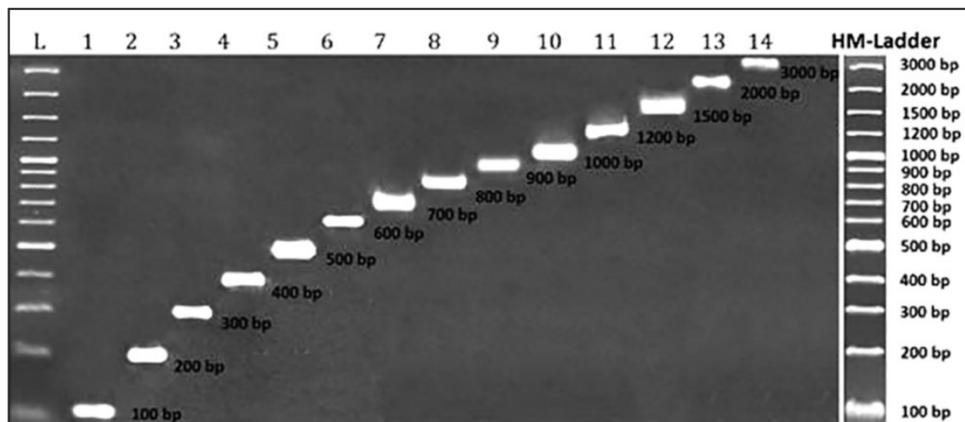
2.2.2 Gel Poliakrilamida

Gel poliakrilamida adalah gel ikatan silang kimia yang dibentuk oleh polimerisasi akrilamida dengan zat pengikat silang, biasanya N,N'-metilenbisakrilamida. Reaksinya adalah polimerisasi radikal bebas, biasanya dilakukan dengan amonium persulfat sebagai inisiator dan N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine (TEMED) sebagai katalis. Gel ini lebih sulit untuk dipersiapkan dan digunakan daripada gel agarosa. Gel ini memiliki keunggulan dalam daya pisah yang lebih besar, dan menampung sampel dalam jumlah yang lebih besar tanpa kehilangan sampel yang signifikan. Sampel yang diperoleh dari gel poliakrilamida sangat murni. Selain itu, ukuran pori gel poliakrilamida dapat diubah dengan mengubah konsentrasi dua monomer. Selain itu, poliakrilamida bersifat neurotoksik (bila tidak dipolimerisasi) (Magdeldin, 2012).

2.3 DNA ladder

DNA ladder adalah larutan DNA dengan panjang bp berbeda yang digunakan dalam elektroforesis gel (Gambar 2). Ini digunakan sebagai referensi untuk memperkirakan ukuran molekul DNA yang dipisahkan berdasarkan mobilitasnya dalam medan listrik melalui gel (Lan *et al.*, 2012). Pengukuran ini mulai dari beberapa bp hingga mega bp (Mofid *et al.*, 2015). *DNA ladder* digunakan bersamaan dengan elektroforesis asam nukleat di laboratorium biologi molekular. Dua jenis *DNA ladder* yang sering terdapat di laboratorium biologi molekular adalah 100 bp dan 1 kb.

Sumber larutan *DNA ladder* ini berasal dari DNA organisme yang berbeda-beda. Umumnya, *DNA ladder* diproduksi oleh enzim pencernaan dari plasmid *E. coli* atau DNA genom bakteriofag. Namun, *DNA ladder* bisa juga berasal fragmen DNA dari organisme lainnya asalkan memiliki bp atau *expected amplicon length* yang sesuai (Wang *et al.*, 2010).



Gambar 2.1. Gel Elektroforesis 100-3000 bp (Mofid *et al.*, 2015)

BAB 3. METODE RISET

3.1 Waktu dan Tempat

Penelitian ini akan dilakukan selama 4 bulan di Laboratorium Terpadu, Fakultas Kedokteran, Universitas Sumatera Utara.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan dalam riset ini adalah darah manusia, *agarose*, *PCR master mix*, DNA, dapar TAE 1X, *DNA extraction kit*, set primer, dan *6X DNA loading buffer*.

Alat yang digunakan dalam riset ini adalah *micropipette sets*, *micropipette tip sets*, *Erlenmeyer flask*, sarung tangan, *PCR tube*, *microtube 1.5 mL*, *Biorad electrophoresis system*, *thermal cycler* (mesin PCR), dan *gel documentation system*.

3.3 Variabel Riset

Variabel riset berupa i) band DNA hasil amplifikasi PCR berukuran 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, dan 1000 bp, ii) konsentrasi amplicon dari masing-masing band, dan iii) formula *DNA ladder* 100 bp.

3.4 Tahapan Riset

Riset ini akan melalui tahapan-tahapan sebagai berikut: pengumpulan sampel darah, isolasi DNA asal darah, penentuan kemurnian dan konsentrasi DNA hasil isolasi, optimasi kondisi PCR, penentuan kemurnian dan konsentrasi DNA hasil PCR, elektroforesis DNA, formulasi jumlah *DNA ladder* 100 bp, analisis data, dan penarikan kesimpulan.

3.5 Prosedur Riset

3.5.1 Pengumpulan Darah dan Isolasi DNA

Pengumpulan darah sebanyak ≥ 3 mL dilakukan oleh tenaga terampil dan dimasukkan dalam tabung berisi EDTA. Darah akan dibawa ke laboratorium terpadu FK USU untuk isolasi DNA.

Darah disentrifugasi pada kecepatan 13000 g. Supernatan dibuang dan pelet diresuspensi dengan 1 mL PBS pH 7,4. DNA diisolasi menggunakan metode *spin-*

column dan kit isolasi DNA (GIN170, Sigma). Kuantitas dan kualitas DNA hasil isolasi ditentukan kaidah spektrofotometri (NanoPhotometer® N50, Implen).

Rata-rata konsentrasi (kuantitas) DNA (ng/μL) ditentukan dari nilai bacaan spektrofotometri yaitu pada pembacaan panjang gelombang penyerapan 260 nm (A_{260}). Kualitas DNA ditentukan oleh rasio absorbansi pada 260 dan 280 nm ($A_{260/280}$) yang menunjukkan perkiraan kemurnian DNA.

3.5.2 Polymerase Chain Reaction

Polymerase chain reaction (PCR) digunakan untuk mengamplifikasi gen-gen dari sampel DNA hasil ekstraksi. Set primer untuk masing-masing gen telah didesain dengan menggunakan *software* Primer-BLAST NCBI (Tabel 3.1).

Tabel 3.1 Set Primer untuk PCR

Ladder (bp)	Nama Gen	Gene ID	F/R	Primer Sequence	Expected amplicon length
100 bp	Homo sapiens notch receptor 2 (NOTCH2), RefSeqGene on chromosome 1	NG_008 163.1	F	TGCCTCAGGTG GCATTGATT	100
			R	AGGCCAAACTA TTGGGGAGC	
200 bp	Homo sapiens mitochondrion, complete genome	NC_012 920.1	F	ACACAATTCTC CGATCCGTCC	200
			R	GCTTACTGGTT GTCCTCCGAT	
300 bp	Homo sapiens chromosome 2, GRCh38.p13 Primary Assembly	NC_000 002.12	F	CTGGGCACCAA ATGAAAGCC	302
			R	TCTATCCGGCTC CCTTGTCA	
400 bp	Homo sapiens chromosome 10, GRCh38.p13 Primary Assembly	NC_000 010.11	F	ATGCTCCTTCCC TCAGACCT	400
			R	TCGCAAAACAT GGCCACAAG	
500 bp	Homo sapiens chromosome 12, GRCh38.p13 Primary Assembly	NC_000 012.12	F	ATGCTCCTTCCC TCAGACCT	499
			R	TCGCAAAACAT GGCCACAAG	
600 bp	Homo sapiens chromosome 9, GRCh38.p13	NC_000 009.12	F	CTTCCTCCGA AGCCCATT	600
			R	GTGC GGATGAG GGTGGG	

	Primary Assembly				
700 bp	Homo sapiens chromosome 12, GRCh38.p13 Primary Assembly	NC_000012.12	F	CTGAGACGGGT TCACAGACC	700
			R	GGTGCAGATGA GGGTGGG	
800 bp	Homo sapiens chromosome 2, GRCh38.p13 Primary Assembly	NC_000002.12	F	TGCTGTAGGTT CAGCAGTGG	799
			R	GGCTGTGCCAT TCCCTAACT	
900 bp	Homo sapiens chromosome 9, GRCh38.p13 Primary Assembly	NC_000009.12	F	CGGCCAGGTAT ACGGTCATC	900
			R	GCGGATGAGGG TGGGG	
1000 bp	Homo sapiens chromosome 9, GRCh38.p13 Primary Assembly	NC_000009.12	F	CTGAGACGGGT TCACAGACC	1000
			R	CTTCTGCTGCCG CCCTAATC	

Sampel DNA yang dianalisis beserta komponen reaksi PCR dimasukkan dalam tabung PCR dengan volume tertentu (Tabel 3.2). Kondisi PCR akan diselenggarakan dalam 3 fase dengan kondisi masing-masing disesuaikan dengan set primer (Tabel 3.3). Suhu *annealing* pada masing-masing set primer akan mengikuti rekomendasi *manufacturer*. Optimasi PCR akan dilakukan menggunakan metode *gradient PCR* atau *touchdown PCR*. Suhu optimum yang akan didapatkan, digunakan pada PCR untuk membentuk komponen akhir *DNA ladder*.

Tabel 3.2 Komponen Reaksi PCR

Komponen	Volume Reaksi PCR (μL)
PCR-grade water	5,5
2x KAPA2G Fast Readymix	12,5
10 μM forward primer	1,0
10 μM reverse primer	1,0
DNA	5,0
Total	25,0

Tabel 3.3 Siklus Pengoperasian PCR

Fase	Proses	Suhu	Durasi	Siklus
------	--------	------	--------	--------

1	Denaturasi awal	94°C	5 menit	1
	Denaturasi	94°C	1 menit	
2	<i>Annealing</i>	X °C	45 detik	35
	Ekstensi	72°C	45 detik	
3	Ekstensi akhir	72°C	5 menit	1
	<i>Hold</i>	4°C	-	-

3.5.3 Elektroforesis

Sebanyak 5 µL hasil PCR akan dipisahkan dengan elektroforesis gel agarosa 1% (b/v). Elektroforesis DNA dijalankan dengan kondisi 80 mV, 400 mA, selama 90 menit. Hasil elektroforesis direkam dengan *gel documentation system*. Band dengan ukuran bp yang sesuai harapan akan diiris dan menjadi *DNA template* PCR kedua. Hasil PCR kedua akan kembali diperiksa untuk konsentrasi, kemurnian, dan ukuran bp.

3.5.4 DNA ladder

DNA ladder dibuat dengan campuran dari seluruh hasil PCR dengan mempertimbangkan ukuran bp dan jumlah (*amount*) masing-masing amplicon per 5 µL larutan *DNA ladder*. *DNA ladder* buatan sendiri akan dibandingkan dengan satu *DNA ladder* komersial.

3.6 Indikator Capaian Setiap Tahapan

Tabel 3.4 Indikator Capaian Setiap Tahapan

No.	Tahapan	Capaian
1.	Pengumpulan darah	Tersedia 5 subjek dan sampel darah
2.	Isolasi DNA darah	Kuantitas dan kualitas DNA darah
3.	PCR	Band DNA berukuran 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800, 900, 1000 bp
4.	Formulasi <i>DNA ladder</i>	<i>DNA ladder</i> buatan sendiri
5.	Perbandingan <i>DNA ladder</i> buatan sendiri dengan <i>DNA ladder</i> komersial	Elektroforesis gel agarose 1%

3.7 Teknik Pengumpulan Data

Konsentrasi dan kemurnian DNA akan ditentukan menggunakan alat nanophotometer (Implen™). Ukuran DNA hasil PCR dan kualitas *DNA ladder* buatan sendiri akan ditentukan melalui elektroforesis gel agarosa 1% (b/v).

3.8 Analisis Data

Data hasil elektroforesis *DNA ladder* buatan sendiri akan dianalisis secara kualitatif deskriptif.

3.9 Cara Penafsiran

DNA ladder buatan sendiri yang baik memiliki ukuran molekul yang sama dengan *DNA ladder* komersial.

3.10 Penyimpulan Hasil Riset

Kualitas *DNA ladder* buatan sendiri dibandingkan dengan *DNA ladder* komersial.

BAB 4. BIAYA DAN JADWAL KEGIATAN

4.1 Anggaran Biaya

Anggaran biaya yang diperlukan dalam penelitian ini, sebagai berikut:

Tabel 4.1 Rekapitulasi Rencana Anggaran Biaya

No	Jenis Pengeluaran	Sumber Dana	Besaran Dana (Rp)	
1	Bahan habis pakai	Belmawa	4.200.000	
		Perguruan Tinggi	600.000	
		Instansi Lain (jika ada)	-	
2	Sewa dan jasa	Belmawa	1.050.000	
		Perguruan Tinggi	150.000	
		Instansi Lain (jika ada)	-	
3	Transportasi lokal	Belmawa	700.000	
		Perguruan Tinggi	100.000	
		Instansi Lain (jika ada)	-	
4	Lain-lain	Belmawa	1.050.000	
		Perguruan Tinggi	150.000	
		Instansi Lain (jika ada)	-	
Jumlah			8.000.000	
Rekap Sumber Dana		Belmawa	7.000.000	
		Perguruan Tinggi	1.000.000	
		Instansi Lain (jika ada)	-	
Jumlah			8.000.000	

4.2 Jadwal Kegiatan

Tabel 4.2 Jadwal Kegiatan

No	Jenis Kegiatan	Bulan				Penanggungjawab
		1	2	3	4	
1	Pemesanan primer ke <i>supplier</i>					Putri
2	Pengumpulan darah dan isolasi DNA					Luthfi, Ilmam, Putri, dan Oryza
3	Optimasi PCR					Luthfi dan Ilmam
4	Penentuan kemurnian dan konsentrasi DNA					Putri dan Oryza
5	PCR rutin untuk seluruh set primer					Luthfi, Ilmam, Putri, dan Oryza

6	Penentuan jumlah (amount) setiap band DNA ladder				Luthfi
---	--	--	--	--	--------

DAFTAR PUSTAKA

- Garibyan, L. dan Avashia, N. 2013. Polymerase chain reaction. *Journal of Investigative Dermatology*. 133(3):1–4.
- Kemenperin. 2021. *Membangun Kemandirian Industri Farmasi Nasional*. Edisi ke-2. Jakarta.
- Lan, V.T.T., Loan, P.T.T., Duong, P.A.T., Thanh, L.T., Ha, N. dan Thuan, T.B. 2012. Straightforward procedure for laboratory production of DNA ladder. *Journal of Nucleic Acids*. 2012.
- Levings, C.S. dan Pring, D.R. 1976. Restriction Endonuclease Analysis of Mitochondrial DNA from Normal and Texas Cytoplasmic Male-Sterile Maize. *Science*. 193(4248):158–160.
- Lodge Lund Peter A., Minchin S., dan Julia. 2007. *Gene cloning : principles and applications*. Taylor & Francis Group. New Yor: Abingdon [England].
- Magdeldin, S. 2012. *Gel Electrophoresis - Principles and Basics*.
- Mesapogu, S., Jillepalli, C.M., dan Arora, D.K. 2013. Agarose Gel Electrophoresis and Polyacrylamide Gel Electrophoresis: Methods and Principles. pp. 73–91.
- Mofid, M., Abbasian, M., Seyedi, H.A. dan Boroujeni, Z. 2015. Easy method for production of a home-made DNA ladder in every laboratory. *Advanced Biomedical Research*. 4(1):70.
- Ridwan Harahap Program Studi Kimia, M. & Sains dan Teknologi UIN Ar-Raniry Banda Aceh, F. 2018. Elektroforesis: Analisis Elektronika Terhadap Biokimia Genetika. 2(1):21–26.
- Stellwagen, N.C. 2009. *Electrophoresis of DNA in agarose gels, polyacrylamide gels and in free solution, Electrophoresis*. 30(SUPPL. 1).
- Wang, T.Y., Guo, L. dan Zhang, J.H. 2010. Preparation of DNA ladder based on multiplex PCR technique. *Journal of Nucleic Acids*. 2010.

LAMPIRAN**Lampiran 1. Biodata Ketua, Anggota serta Dosen Pendamping****Biodata Ketua****A. Identitas Diri**

1	Nama Lengkap	Luthfi Umam Hakim Nasution
2	Jenis Kelamin	Laki-laki
3	Program Studi	Pendidikan Dokter
4	NIM	190100007
5	Tempat dan Tanggal Lahir	Medan, 12 Juli 2001
6	Alamat E-mail	lutfihakim10122@gmail.com
7	Nomor Telepon/HP	087869678867

B. Kegiatan Kemahasiswaan yang Sedang/Pernah Diikuti

No	Jenis Kegiatan	Status dalam Kegiatan	Waktu dan Tempat
1	HMI Komisariat FK USU	Formateur / Ketua Umum	2022
2	SCORE PEMA FK USU	Manajer Jurnal	2021
3	PEMA FK USU	Sekdep Pengabdian Masyarakat	2021
4	PHW ISMKI	Staff Community Empowerment	2020

C. Penghargaan yang Pernah Diterima

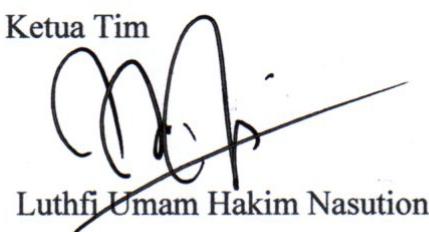
No	Jenis Penghargaan	Pihak Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Juara 1 Literatur Review	Synovia FK UNS	2021
2	Juara 3 Essay Ilmiah	MERC EXIT	2022
3	Juara 2 Essay Ilmiah	Perhimpunan Nefrologi Sumut-Aceh	2022

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan PKM-RE.

Medan, 11-3-2022

Ketua Tim



Luthfi Umam Hakim Nasution

Biodata Anggota

A. Identitas Diri

No	Nama Lengkap	Muhammad Ilmam Bariqi
1	Jenis Kelamin	Laki-laki
2	Program Studi	Pendidikan Dokter
3	NIM	200100212
4	Tempat dan Tanggal Lahir	Padang, 3 Desember 2001
5	Alamat E-mail	ilmambariqim@gmail.com
6	Nomor Telepon/HP	085364342355

B. Kegiatan Kemahasiswaan yang Sedang/Pernah Diikuti

No	Jenis Kegiatan	Status dalam Kegiatan	Waktu dan Tempat
1	Forum Studi Kedokteran Mahasiswa Muslim (FOSKAMI) Pemerintahan Mahasiswa FK USU	Ketua Umum	2022
2	Tim Bantuan Medis (TBM) FK USU PEMA FK USU	Anggota	2021-2022
3	Himpunan Mahasiswa Islam Komisariat FK USU	Anggota Bidang P3A	2020-2022

C. Penghargaan yang Pernah Diterima

No	Jenis Penghargaan	Pihak Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Juara 1 Esai Ilmiah	Perhimpunan Nefrologi Sumut-Aceh	2022
2	Juara Favorit Lomba Poster Publik ISMI ALI	FSKI FK Universitas Andalas	2022
3	Summer Research Program	Univeristy of Tsukuba	2021

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan PKM-RE.

Medan, 11-3-2022

Anggota Tim



Muhammad Ilmam Bariqi

Biodata Anggota

A. Identitas Diri

No	Nama Lengkap	Putri Chalya Firjatu
1	Jenis Kelamin	Perempuan
2	Program Studi	Pendidikan Dokter
3	NIM	200100110
4	Tempat dan Tanggal Lahir	Medan, 17 Mei 2002
5	Alamat E-mail	putrichalyaa@gmail.com
6	Nomor Telepon/HP	085210619889

B. Kegiatan Kemahasiswaan yang Sedang/Pernah Diikuti

No	Jenis Kegiatan	Status dalam Kegiatan	Waktu dan Tempat
1	Badan Analisis dan Pengembangan Nasional ISMKI	Anggota	2020-2021
2	Pemerintahan Mahasiswa (PEMA)	Wakil Bendahara	2021-2023
3	<i>Standing Committee on Research Exchange</i>	Sekretaris Manajer Divisi Jurnal	2022-2023

C. Penghargaan yang Pernah Diterima

No	Jenis Penghargaan	Pihak Pemberi Penghargaan	Tahun
1	Juara 1 Esai Ilmiah	Perhimpunan Nefrologi Sumut-Aceh	2022
2	Juara 2 Lomba Poster Karya Tulis Ilmiah Nasional	Universitas Negeri Medan	2021
3	Juara 2 LTKI Nasional CHEACO	Universitas Muhammadiyah Purwokerto	2019
4	Juara 3 LTKI Nasional EPTION TL EXPO	Universitas Diponegoro	2019

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi. Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan PKM-RE.

Medan, 11-3-2022
Anggota Tim

Putri Chalya Firjatu

Biodata Anggota

A. Identitas Diri

No	Nama Lengkap	Oryza Sativa Lubis
1	Jenis Kelamin	Perempuan
2	Program Studi	Ilmu Keperawatan
3	NIM	201101105
4	Tempat dan Tanggal Lahir	P. Siantar, 05 November 2001
5	Alamat E-mail	oryzasativalubis5@gmail.com
6	Nomor Telepon/HP	082282615757

B. Kegiatan Kemahasiswaan yang Sedang/Pernah Diikuti

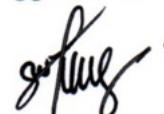
No	Jenis Kegiatan	Status dalam Kegiatan	Waktu dan Tempat
1	Himpunan Mahasiswa Islam (HMI)	Departemen Perguruan Tinggi Kemahasiswaan dan Kepemudaan (PTKP)	2020-2021
2	Himpunan Mahasiswa Islam (HMI)	Ketua Bidang Pengembangan, Penelitian, dan Pembinaan Anggota (P3A)	2022-2023

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan **PKM-RE**.

Medan, 14 Maret 2022

Anggota Tim



Oryza Sativa Lubis

Biodata Dosen Pendamping

A. Identitas Diri

1	Nama Lengkap	dr. Zulham, M. Biomed, PhD
	Jenis Kelamin	Laki-laki
	Program Studi	Kedokteran Umum
	NIP/NIDN	197407022002121002
	Tempat dan Tanggal Lahir	Medan, 2 Juli 1974
	Alamat E-mail	zulham@usu.ac.id
	Nomor Telepon/HP	081266075812

B. Riwayat Pendidikan

No	Jenjang	Bidang Ilmu	Institusi	Tahun Tamat
1	S1	Ilmu Dokter	Universitas Sumatera Utara	1997
2	Profesi		Universitas Sumatera Utara	1999
3	S2	Biomedik	Universitas Indonesia	2008
4	S3	Biokimia	Universitas Kebangsaan Malaysia	2019

C. Rekam Jejak Tri Dharma PT

Pendidikan/Pengajaran

No	Nama Mata Kuliah	Wajib/Pilihan	SKS
1	Keterampilan Dasar Laboratorium	Wajib	2
2	Biologi Molekular	Wajib	3

Penelitian

No	Judul Penelitian	Penyandang Dana	Tahun
1	Efek Ekstrak Daun Binahong (Anredera Cordifolia) terhadap Penyembuhan Luka pada Tikus Hiperglikemia melalui Modulasi Ekspresi Matrix Metalloproteinase-9 di Jaringan Luka	USU	2020
2	Karakterisasi bakteri <i>Neisseria gonorrhoeae</i> resisten terhadap antimikroba menggunakan <i>real time PCR</i>	USU	2019

Pengabdian Kepada Masyarakat

No	Judul Pengabdian Kepada Masyarakat	Penyandang Dana	Tahun
1	Sosialisasi tentang penyakit menular untuk anggota Aisyiyah Cabang Medan Johor	Mandiri	2018
2	Sosialisasi Gaya Hidup Sehat Untuk Badan Pengurus Pusat Persatuan Istri Pegawai PT Pelabuhan Indonesia I (Persero)	PT Pelabuhan Indonesia I (Persero)	2018

Semua data yang saya isikan dan tercantum dalam biodata ini adalah benar dan dapat dipertanggungjawabkan secara hukum. Apabila di kemudian hari ternyata dijumpai ketidaksesuaian dengan kenyataan, saya sanggup menerima sanksi.

Demikian biodata ini saya buat dengan sebenarnya untuk memenuhi salah satu persyaratan dalam pengajuan PKM-RE.

Medan, 12-3-2022
Dosen Pendamping



Zulham

Lampiran 2. Justifikasi Anggaran Kegiatan

No	Jenis Pengeluaran	Volume	Harga Satuan (Rp)	Total (Rp)
1	Belanja Bahan			
	Tip mikropipet putih	1 pack (100 pcs)	90.000	90.000
	Tip mikropipet kuning	1 pack (100 pcs)	90.000	90.000
	<i>Laboratory grade agarose</i>	Sudah tersedia	-	-
	Tabung darah berisi EDTA	20 tube	6.000	120.000
	Sarung tangan	3 kotak	50.000	150.000
	TAE 10X	Sudah tersedia	-	-
	Microtube 1,5 mL	Sudah tersedia	-	-
	PCR tube	Sudah tersedia	-	-
	Schott Duran Bottle	5 Botol	100.000	500.000
	DNA ladder 100 bp komersial	1 set	350.000	350.000
	Set primer 100 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 200 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 300 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 400 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 500 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 600 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 700 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 800 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 900 bp	1 set	350.000	350.000
	Set primer 1000bp	1 set	350.000	350.000
	PCR Master Mix	Sudah Tersedia	-	-
	SUB TOTAL			4.800.000
2	Belanja Sewa			
	Sewa centrifuge	1 x 4 Bulan	50.000	200.000
	Sewa autoclave	1 x 4 Bulan	50.000	200.000
	Sewa lemari es	1 x 4 Bulan	50.000	200.000
	<i>Sewa Biorad electrophoresis system</i>	1 x 4 Bulan	50.000	200.000

	Sewa <i>gel documentation system</i>	1 x 4 Bulan	50.000	200.000
	Sewa UV Transluminator	1 x 4 Bulan	50.000	200.000
	SUB TOTAL		1.200.000	
3	Perjalanan lokal			
	Pengiriman bahan primer dari Jakarta menggunakan JNE		100.000	100.000
	Kegiatan pendampingan		700.000	700.000
	Kegiatan penelitian di Laboratorium		400.000	400.000
	SUB TOTAL		1.200.000	
4	Lain-lain			
	Masker	4 kotak	90.000	360.000
	Hand sanitizer	2 botol	20.000	40.000
	Kuota internet	1 paket x 4 bulan	100.000	400.000
	SUB TOTAL		800.000	
	GRAND TOTAL		8.000.000	
	GRAND TOTAL (Delapan Juta Rupiah)			

Lampiran 3. Susunan Organisasi Tim Pelaksana dan Pembagian Tugas

No	Nama/NIM	Program Studi	Bidang Ilmu	Alokasi Waktu (jam/minggu)	Uraian Tugas
1	Luthfi Umam Hakim Nasution / 190100007	Pendidikan Dokter	Biomedik	4	Membuat proposal, merekrut subjek, menyusun laporan
2	Muhammad Ilmam Bariqi / 200100212	Pendidikan Dokter	Biomedik	4	Kerja biologi molekular
3	Putri Chalya Firjatu / 200100110	Pendidikan dokter	Biomedik	4	Bendahara, kerja biologi molekular, analisis data
4	Oryza Sativa Lubis / 201101105	Keperawatan	Biomedik	4	Membantu membuat proposal dan Menyusun laporan

Lampiran 4. Surat Pernyataan Ketua Pelaksana

SURAT PERNYATAAN KETUA TIM PELAKSANA

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Ketua Tim	:	Luthfi Umam Hakim Nasution
Nomor Induk Mahasiswa	:	190100007
Program Studi	:	Pendidikan Dokter
Nama Dosen Pendamping	:	dr. Zulham, M. Biomed, PhD
Perguruan Tinggi	:	Universitas Sumatera Utara

Dengan ini menyatakan bahwa proposal PKM-RE saya dengan judul Inovasi **“DNA Ladder 100bp Berbasis PCR”** yang diusulkan untuk tahun anggaran 2022 adalah asli karya kami dan belum pernah dibiayai oleh lembaga atau sumber dana lain.

Bilamana di kemudian hari ditemukan ketidaksesuaian dengan pernyataan ini, maka saya bersedia dituntut dan diproses sesuai dengan ketentuan yang berlaku dan mengembalikan seluruh biaya yang sudah diterima ke kas negara.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dengan sebenarnya benarnya.

Medan, 14-3-2022

