

Perancangan dan Implementasi Sistem Deteksi Sekuen DNA Penentu Kualitas Beras

Gilbert Jonatan¹, Naila Fadhilah Fithriah², Muhammad Arbi Minanda³, Elvayandri M., S.Si, M.T., Dr. Waskita A., S.T., M.T.

Sekolah Teknik Elektro dan Informatika, Institut Teknologi Bandung
Jalan Ganeca 10, Bandung, Jawa Barat, Indonesia

¹gilbertjonatan@gmail.com, ²nailafdhilh@gmail.com, ³arbiminanda10@gmail.com

Abstract— Sekuen DNA penentu kualitas beras dapat dideteksi melalui beberapa tahapan. Tahapan pertama yaitu ekstraksi DNA beras, tahapan ini dilakukan oleh pengguna di laboratorium. Campuran hasil ekstraksi akan melalui 2 tahapan utama yaitu replikasi sekuen DNA dan pemisahan sekuen DNA sebelum sekuen DNA dapat dideteksi. Replikasi sekuen DNA dilakukan dengan menggunakan *Polymerase Chain Reaction* pada *PCR Device*, sedangkan pemisahan (elektroforesis) dan deteksi sekuen DNA dilakukan pada *Identification Device*. *PCR Device* akan menyediakan suhu untuk *Polymerase Chain Reaction* yang terdiri dari *denaturation* (95 °C), *annealing* (50-60 °C), dan *extension* (72 °C). Keluaran *PCR Device* berupa campuran berisi sekuen DNA yang sudah diperbanyak, selanjutnya akan masukkan ke dalam medium *gel agarose* dan dipisahkan dengan prinsip elektroforesis. *Identification Device* akan memberi tegangan 100V pada medium *gel agarose* selama durasi waktu tertentu. Setelah sekuen DNA sudah terpisah, deteksi dapat dilakukan dengan menggunakan kamera. Dari hasil implementasi, semua sub-sistem sudah bekerja dengan baik.

Index Terms— DNA, Polymerase Chain Reaction, Elektroforesis.

I. INTRODUCTION

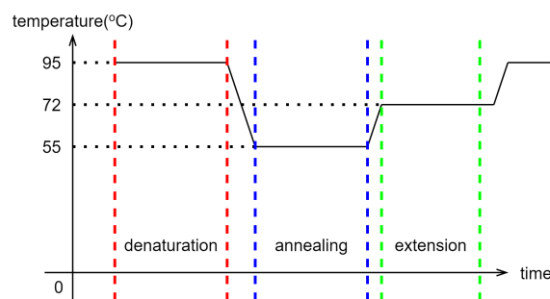


Figure 1 PCR Temperature Profile

Dalam melakukan deteksi keberadaan sekuen DNA penentu kualitas beras, DNA beras perlu terlebih dahulu di ekstrak. Sekuen DNA yang diinginkan perlu direplikasi untuk mempermudah deteksi. Untuk melakukan replikasi, ekstrak DNA akan dicampur dengan primer, enzim, dan *nucleotide* sebelum masuk ke *Polymerase Chain Reaction* pada *PCR Device*. Keluaran alat ini berisi sekuen DNA yang tercampur dengan komponen lain. Pemisahan dilakukan dengan menggunakan prinsip elektroforesis. Setelah pemisahan

dilakukan, *Identification Device* akan memberikan sinar UV, mengambil gambar hasil pemisahan, dan menghitung panjang sekuen DNA (dalam *base pair*/BP). Hasil perhitungan akan dibandingkan dengan referensi panjang. Jika panjang sesuai artinya sekuen berhasil ditemukan.

Polymerase chain reaction atau disingkat PCR, adalah metode paling umum yang digunakan untuk menyalin sekuen DNA tertentu. PCR terdiri dari 3 tahapan reaksi, denaturasi, annealing, dan ekstensi seperti pada ilustrasi Figure 2. Denaturasi dilakukan dengan memanaskan sampel pada temperature 95 °C, tahap ini akan memisahkan struktur DNA dari *double helix* menjadi *single strand DNA*. Annealing dilakukan dengan menurunkan suhu sampai 50-60 °C dan bergantung pada jenis primer yang digunakan. Pada tahap ini primer akan menempel pada DNA dan menandai titik awal untuk enzim *taq polymerase*. Terakhir pada tahap ekstensi, sampel akan kembali dipanaskan sampai suhu 72 °C, pada tahap ini enzim *taq polymerase* akan menempel pada primer dan memulai menyalin DNA. Profil suhu 1 siklus PCR dapat dilihat pada Figure 1.

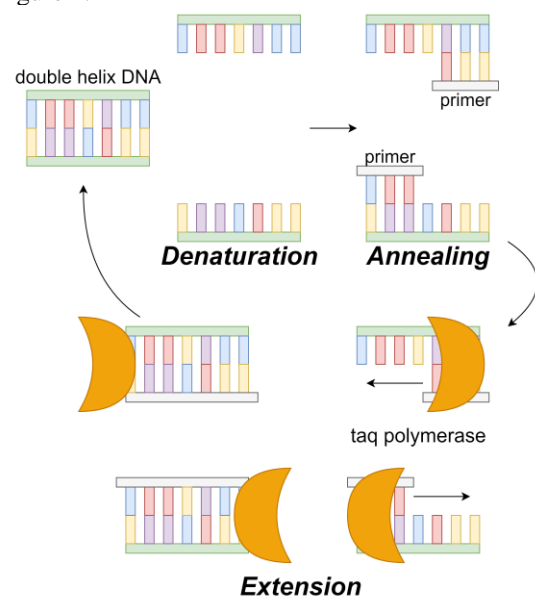


Figure 2 Polymerase Chain Reaction

Pemisahan sekuen DNA dilakukan dengan elektroforesis. DNA bermuatan negative, sehingga apabila diberikan medan listrik DNA akan bergerak kearah kutub positif dari medan

listrik. Ukuran DNA akan menentukan seberapa jauh DNA dapat bergerak, semakin kecil *base pair* (pasangan basa), semakin jauh DNA dapat bergerak. Elektroforesis dilakukan dengan cara memberikan tegangan 80-150V pada kedua ujung medium *gel agarose* selama 45 - 90 menit. Campuran yang sudah ditempatkan di dalam *well* akan bergerak berlawanan arah medan listrik. Elektroforesis memerlukan sebuah *well* referensi atau biasanya disebut *DNA ladder*. *Well* ini berisi sekumpulan DNA dengan panjang BP yang sudah diketahui. Setelah elektroforesis berakhir *well* ini akan tersebar seperti tangga Untuk menentukan panjang DNA sampel, jarak perpindahan sampel akan dibandingkan dengan *DNA ladder*.

Berikut visualisasi dari hasil elektroforesis

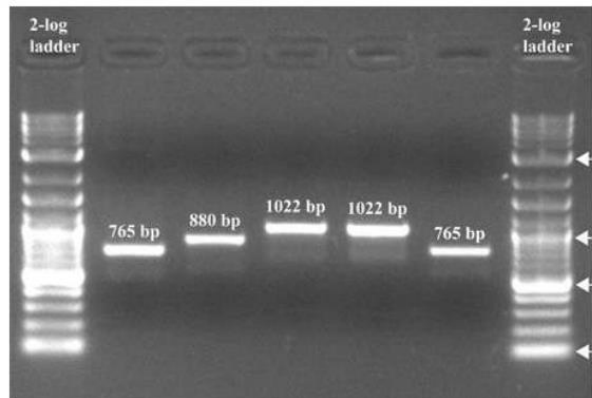


Figure 3 Electrophoresis's Result Visualization

II. SYSTEM DESIGN

A. Perangkat Keras (Hardware)

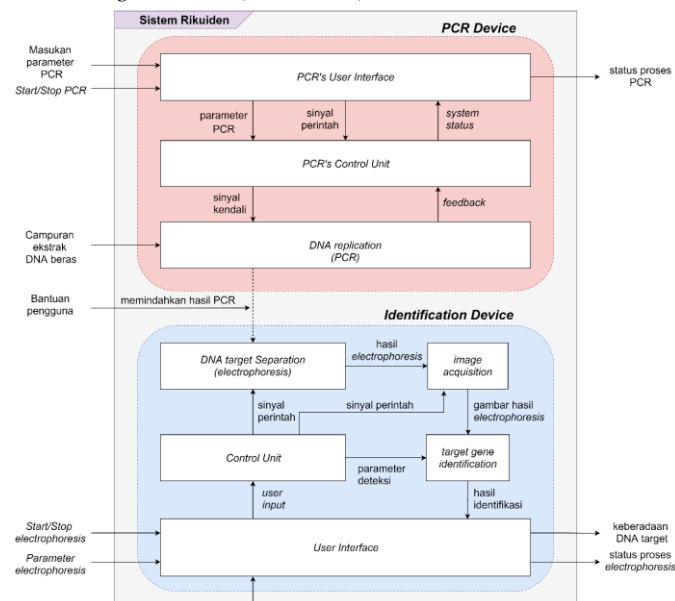


Figure 4 Sistem Rikuiden

Sistem ini terdiri dari 2 alat yaitu PCR Device dan Identification Device, ditunjukkan pada gambar diatas. PCR Device menerima masukan berupa campuran DNA (berisi DNA, primer, enzim *taq polymerase*, dan *nucleotide*). Selanjutnya PCR Device akan melakukan replikasi sekuen

DNA. Keluaran dari PCR Device dipindahkan ke Identification Device oleh pengguna. Identification Device akan melakukan elektroforesis dan mengambil gambar untuk deteksi panjang ketika sudah selesai. Identification Device akan menampilkan hasil deteksi keberadaan sekuen DNA.

PCR Device akan menerima masukan campuran DNA dan parameter reaksi dari pengguna. Masukan parameter reaksi melalui 3 buah tombol utama. Alat akan menampilkan tahapan reaksi, suhu *thermal block*, jumlah siklus, dan sisa waktu pada suatu tahapan reaksi pada layar LCD 4 baris 20 kolom (LCD 2004). Microcontroller yang digunakan adalah ESP32 WEMOS LOLIN32 dengan *framework* ESP-IDF. Aktuator suhu yang digunakan adalah peltier, *heatsink*, dan kipas. Peltier TEC1-12715 (arus max 15A) di-drive dengan menggunakan modul H-bridge motor driver VN2SP30 (arus max 30A). Mendinginkan dan memanaskan dapat dicapai dengan merubah polaritas masukan peltier. Umpan balik suhu diperoleh dari sensor digital ds18b20.

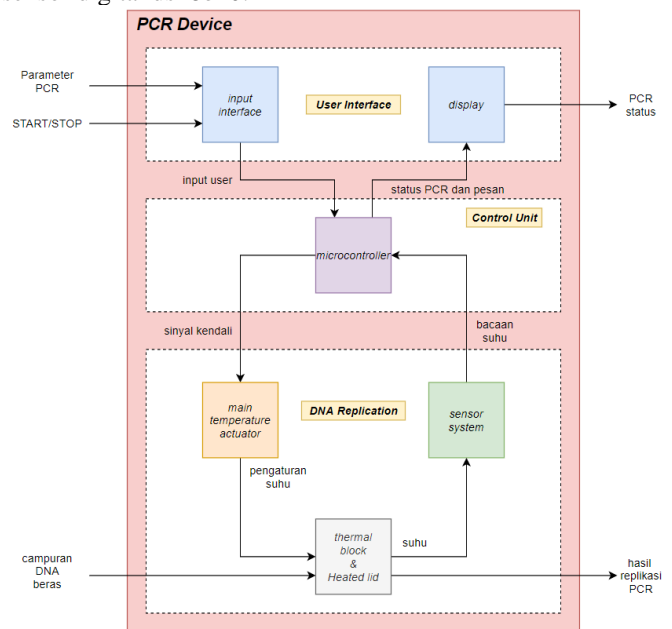


Figure 5 PCR Device Diagram Block

Identification device akan menerima masukan berupa campuran DNA hasil proses PCR. Masukan parameter elektroforesis, pengambilan dan pemrosesan gambar melalui tampilan pada LCD Touchscreen 5". Alat akan menampilkan *countdown timer* proses elektroforesis, rekaman dan hasil tangkapan layar dari *camera*, serta hasil identifikasi DNA. Processing dan Control Unit yang digunakan adalah Raspberry Pi 4 Model B RAM 4 GB. Implementasi *High Voltage Converter* menggunakan Modul DC-DC 8~32V to 45~390V *High Voltage Boost Converter ZVS Step-up Booster*, beserta tambahan kapasitor *output* dan LC Filter sebagai Rangkaian Regulator Tegangan. Implementasi UV Illuminator menggunakan 20 buah LED UV yang tersusun paralel. Keduanya mendapat sinyal *on/off* dari Mini PC melalui Rangkaian *Switching* untuk mengatur *supply* tegangan 12V. Implementasi *Gel Agarose Medium* menggunakan akrilik transparan, *banana plug & socket*, serta kawat nikelin sebagai elektroda. Pengambilan gambar hasil menggunakan Mini Spy

Camera Dv SQ11 Full HD 1080p Night Vision 12MP/Kamera SQ 11.

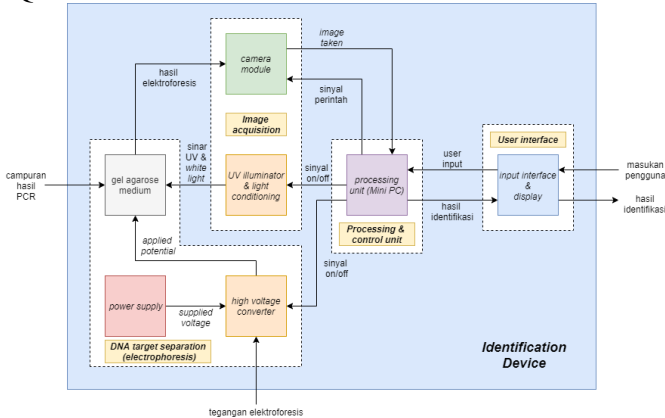


Figure 6 Identification Device Diagram Block

B. Software

Kedua alat menggunakan perangkat lunak yang berbeda, berikut perangkat lunak untuk masing-masing alat.

1) Software PCR Device

PCR Device menggunakan 2 FSM utama untuk menjalankan *Polymerase Chain Reaction*, yaitu *mainFSM* dan *pcrFSM*. *mainFSM* berguna untuk mengatur variable status per dan tampilan layar. Setiap *state* pada *mainFSM* akan menghasilkan keluaran tampilan layar dan status PCR yang berbeda. Variable status PCR digunakan sebagai masukan pada *pcrFSM*. Berikut penjelasan lebih detail untuk kedua FSM

a) *mainFSM*

Pertama pada *S_IDLE*, alat hanya menampilkan *welcome message*. Pada *S_MENU* alat akan menampilkan pilihan menu dan tombol yang harus ditekan, pengguna dapat kembali ke *S_IDLE* dengan menekan tombol putih, untuk masuk ke *S_STORE*, pengguna menekan tombol biru, sedangkan ke proses PCR tombol merah. Pada *S_STORE* terdapat dua buah *state* tambahan, yaitu *state* untuk menampilkan suhu, dan *state* untuk konfirmasi keluar dari *S_STORE*. Untuk memulai PCR, pengguna terlebih dahulu akan memasukkan parameter input pada *S_INPUT*, *state* ini terbagi menjadi 4 bagian. Pengguna dapat memilih jumlah *cycle* PCR (bagian 0), suhu annealing (bagian 1), durasi waktu annealing (bagian 2), dan konfirmasi mulai PCR pada bagian 3 dari *state* *S_INPUT*. Setelah konfirmasi input, sistem akan masuk ke *state* *S_PCR* dan merubah status menjadi *running*, *state* ini memiliki 2 bagian, bagian pertama untuk menampilkan tahapan reaksi, suhu, jumlah *cycle*, dan waktu tersisa pada suatu tahapan. Sedangkan bagian kedua untuk konfirmasi keluar atau batal PCR. Jika reaksi sudah selesai atau pengguna membatalkan PCR, *state* akan berpindah ke *S_DONE* untuk menampilkan jumlah *cycle* yang telah diselesaikan.

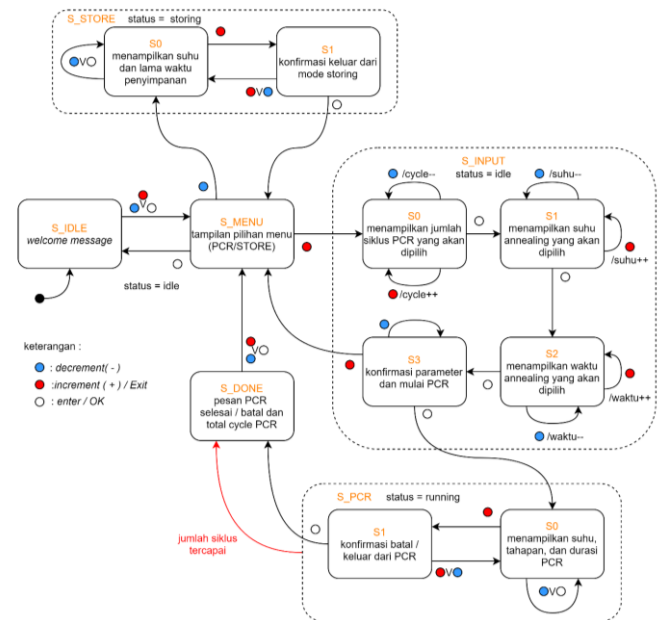


Figure 7 User Interface FSM (mainFSM)

b) *pcrFSM*

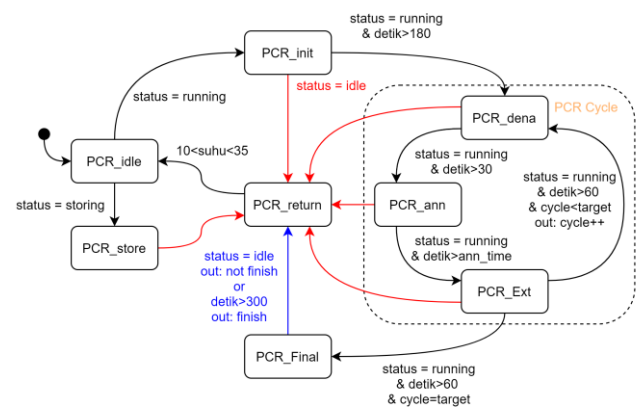


Figure 8 Supervisory Control FSM (pcrFSM)

FSM tersebut berguna untuk mengatur target suhu dari setiap tahapan reaksi. FSM menerima masukan berupa status PCR dan variable waktu dalam detik. Terdapat 8 *state* pada FSM ini dan status PCR hanya memiliki 3 kemungkinan nilai (*idle*, *running*, *storing*). *State* awal adalah *PCR_idle*, pada *state* ini PCR tidak melakukan apapun, jika status menjadi *storing*, sistem akan mendinginkan TB pada 4 °C. Jika status menjadi *running*, sistem akan memulai rangkaian reaksi PCR. Diawali dengan *PCR_init*, sampel dipanaskan pada 95 °C selama 3 menit. Selanjutnya masuk ke tahapan PCR *cycle* yang terdiri dari 3 *state* (*PCR_dena*, *PCR_ann*, dan *PCR_Ext*). Ketiga *state* tersebut akan menjalankan 3 tahapan PCR dengan konfigurasi waktu *default* 30s-30s-60s, sampai siklus target tercapai. *PCR_final* dimasuki ketika jumlah siklus tercapai, tahapan ini akan berlangsung selama 5 menit. Untuk kembali ke *PCR_idle*, sistem harus melalui *PCR_return*, *state* ini berguna untuk mengembalikan suhu TB ke rentang suhu ruangan (25-28 °C).

c) Software Kendali Suhu Hybrid

Sistem kendali yang digunakan adalah sistem kendali *hybrid*. Merupakan campuran dari kendali *on-off* dan kendali PID.

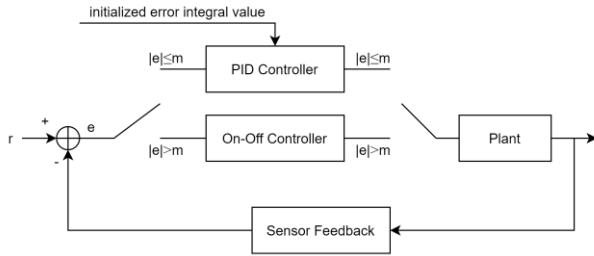


Figure 9 Diagram Blok Sistem Kendali Hybrid

$$u = \begin{cases} u_{on}, & |e| > m \\ u_{PID}, & |e| \leq m \end{cases}$$

Untuk menjalankan kendali suhu, digunakan sebuah *task* bernama *vTaskMainActuator*. *Task* akan membaca dan menghitung kesalahan suhu, melakukan *update* parameter kendali sesuai dengan *state* terkini. Parameter kendali antara lain, suhu target, nilai konstanta PID, *hybrid margin*, dan nilai awal *error integral*. Setelah *update* parameter kendali, *task* akan memilih pengendali yang akan digunakan dan mengatur *enable timer*. Terakhir *task* melakukan *update pcrFSM*

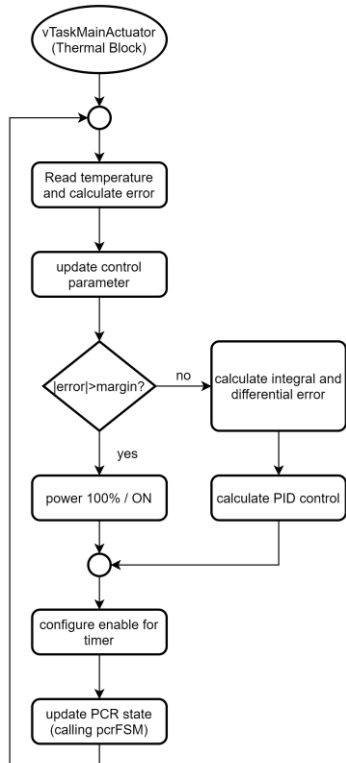


Figure 10 Hybrid Control Task Flowchart

2) Software Identification Device

Identification Device terdiri dari 3 bagian implementasi utama: *User Interface*, *Image Acquisition and Storage*, dan *Image Processing*. Seluruh bagian *software* dari alat ini diatur oleh satu *controlling unit* yaitu Mini PC Raspberry Pi 4.

a) User Interface

GUI dari *Identification Device* dibuat dengan menggunakan *local web server* yang diakses dengan menggunakan Flask/Python. Bahasa pemrograman yang digunakan adalah HTML/CSS dan Javascript/Jquery untuk sisi *front-end* dan Flask/Python untuk sisi *back-end*.

Berikut adalah implementasi dari GUI untuk *Identification Device*.

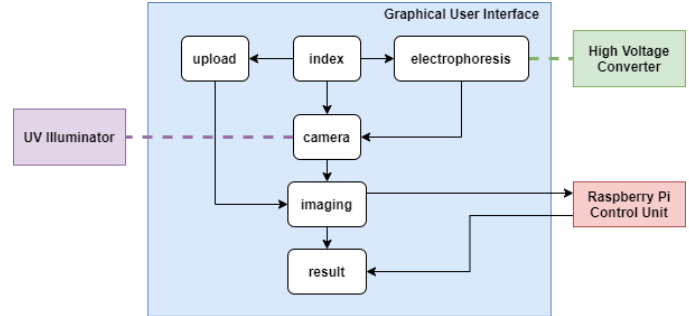


Figure 11 Diagram Implementasi GUI dari Identification Device

b) Image Acquisition and Storage

Implementasi bagian *software* dari *Image Acquisition and Storage* dilakukan bersamaan dengan Implementasi *Graphical User Interface* yang dibuat dengan *web application* yang dapat diakses dari *local server*. Untuk mengakses kamera, digunakan *library* Javascript yaitu **Webcam.js** yang memiliki dokumentasi fungsi agar dapat mengakses kamera melalui hubungan port USB Raspberry Pi dan port Micro-USB pada kamera. Berikut adalah flowchart untuk akuisisi gambar dan penyimpanan gambar hasil elektroforesis.

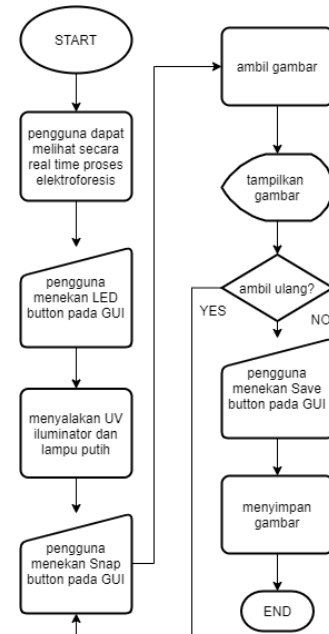


Figure 12 Image Acquisition and Storage Flowchart

c) Image Processing

Implementasi *software* untuk *Image Processing* dilakukan dengan menggunakan OpenCV pada Python. Berikut adalah flowchart utama dari implementasi pengolahan citra digital dari gambar elektroforesis.

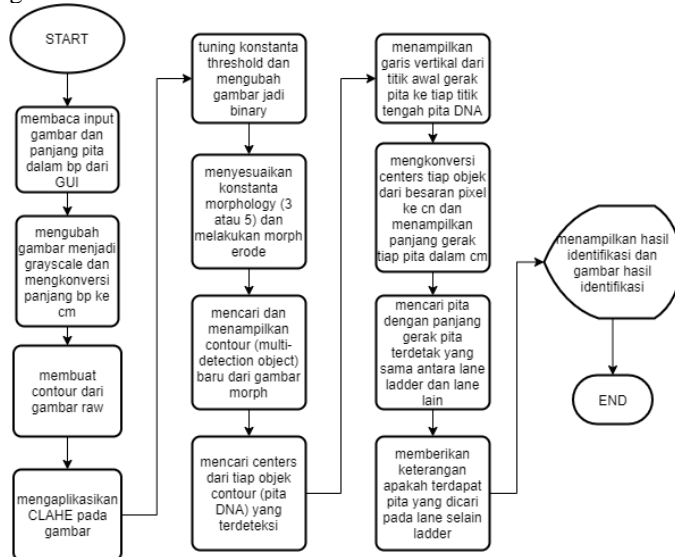


Figure 13 Electrophoresis Image Identification Flowchart

Konsep yang digunakan dalam memroses citra digital hasil elektroforesis adalah menggunakan *thresholding* dan CLAHE, dimana proses yang dilakukan bertujuan untuk mengurangi *noise* pada gambar hasil akusisi elektroforesis sehingga dapat dilakukan *multiple object detection* yang dapat mencari *contours* tiap-tiap pita sekuen DNA sehingga didapatkan titik tengah dari tiap pita. Titik tengah dari tiap pita kemudian diukur dari titik awal mula gerak pita, dan dibandingkan dengan pita *ladder*. Jika panjang basa sekuen DNA sama dengan pita *ladder*, maka identifikasi berhasil dilakukan.

III. IMPLEMENTATION RESULT

A. PCR Device

Berikut ini tabel nilai parameter hybrid

Table 1 Konstanta Kendali Hybrid

PCR State	Kp	Ki	Kd	Margin	Error Integral
Inisialisasi	250	10	1800	5.0	545
Denaturasi					
Annealing	50	250	10	3000	6.5
	51				180
	52				185
	53				190
	54				195
	55				200
	56				205
	57				210
	58				215
	59				220
	60				225
Extension	300	10	2900	6.0	300
Final Extension					
Storing	250	10	1400	1.0	-655

Nilai K_i yang dipilih adalah 10 untuk semua target, nilai diperoleh dari hasil *tuning* dengan pengendali *hybrid* pada suhu 95 °C. Pertimbangan pemilihan nilai adalah waktu untuk mencapai *steady state* dan besarnya osilasi akibat nilai K_i . Nilai margin, K_d dan K_p disesuaikan agar *overshoot* maksimal tidak melebihi 1°C.

Berikut ini hasil pengendali *hybrid* untuk 2 siklus PCR

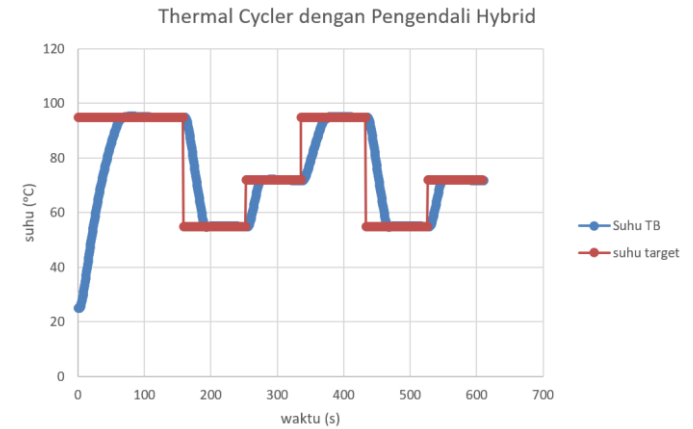


Figure 14 Thermocycler dengan Pengendali Hybrid

Grafik biru menunjukkan suhu dari TB, sedangkan grafik merah menunjukkan suhu target. Konfigurasi waktu yang digunakan pada *thermocycler* untuk melakukan *tuning* parameter adalah 60s-60s-60s. PCR dijalankan tanpa *state* *PCR_init* dan *PCR_final*. Berikut ini hasil implementasi lengkap *thermocycler* PCR dengan *pcrFSM* dan pengendali *hybrid*.



Figure 15 Profil Suhu PCR Device

Pada gambar diatas, sistem menjalankan siklus PCR dengan konfigurasi 30 detik denaturasi, 30 detik annealing, dan 60 detik ekstensi. Sumbu x menunjukkan waktu, dan sumbu y menunjukkan suhu *thermal block*, grafik biru menunjukkan bacaan suhu, dan grafik oranye menunjukkan target suhu. Tahap inisialisasi dilakukan selama 3 menit dan tahap ekstensi akhir dilakukan selama 5 menit. Waktu 1 siklus PCR sebelum integrasi dengan *casing* adalah 3 menit 36 detik atau 216 detik. Setelah integrasi akhir, waktu 1 siklus PCR bertambah 14 detik menjadi 3 menit 50 detik atau 230 detik, terdiri dari 2 menit waktu reaksi dan 1 menit 50 detik waktu transisi. Selisih waktu 14 detik ini disebabkan karena sistem pendingin pada sub-sistem kendali suhu bekerja lebih baik tanpa adanya *casing*.

B. Identification Device

Hasil implementasi *Identification Device* adalah sebagai berikut.

Berikut hasil keluaran dari *High Voltage Converter*.

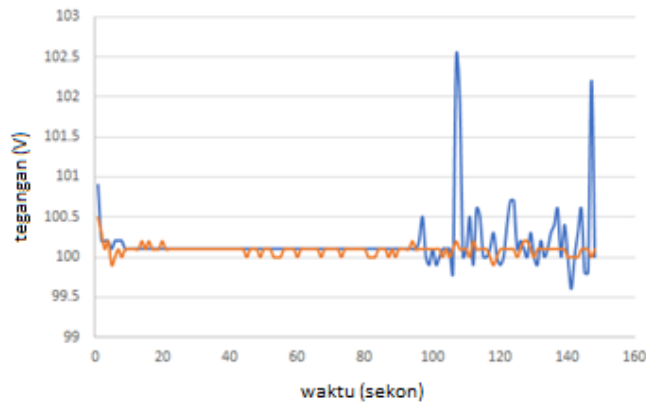


Figure 16 Kurva Keluaran *High Voltage Converter*

Grafik biru menunjukkan tegangan keluaran dari Modul *Boost Converter* tanpa Rangkaian Regulator, sedangkan grafik oranye menunjukkan hasil dengan penambahan Rangkaian Regulator.

Hasil menunjukkan jika keluaran tanpa menggunakan Rangkaian Regulator memiliki *ripple* tegangan yang cukup besar saat Modul *Boost Converter* sudah lama dinyalakan. Penambahan Rangkaian Regulator dapat meminimalisir *ripple* tegangan keluaran sehingga menjadi lebih stabil untuk waktu yang lama.

Berikut hasil keluaran *High Voltage Converter* setiap 10 menit saat dinyalakan 90 menit.

Table 2 Pengujian *High Voltage Converter* selama 90 menit

Menit ke-	Tegangan Keluaran
10	100.2V
20	100.1V
30	100.1V
40	100.2V
50	100.1V
60	100.2V
70	100.2V
80	100.2V
90	100.2V

Berikut adalah gambar alat yang berhasil melakukan kontrol UV *Illuminator* berwarna biru dan *High Voltage Converter* (LED Hijau) melalui GUI.

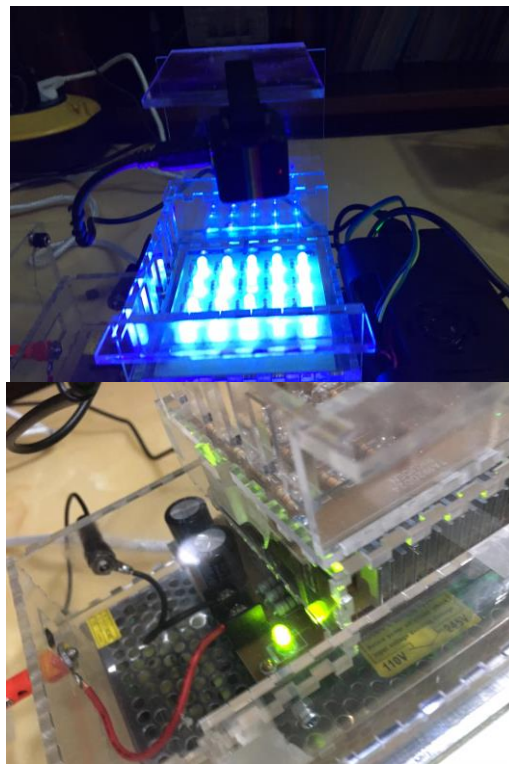


Figure 17 Kontrol UV *Illuminator* (Biru) dan *High Voltage Converter* (Hijau) melalui GUI

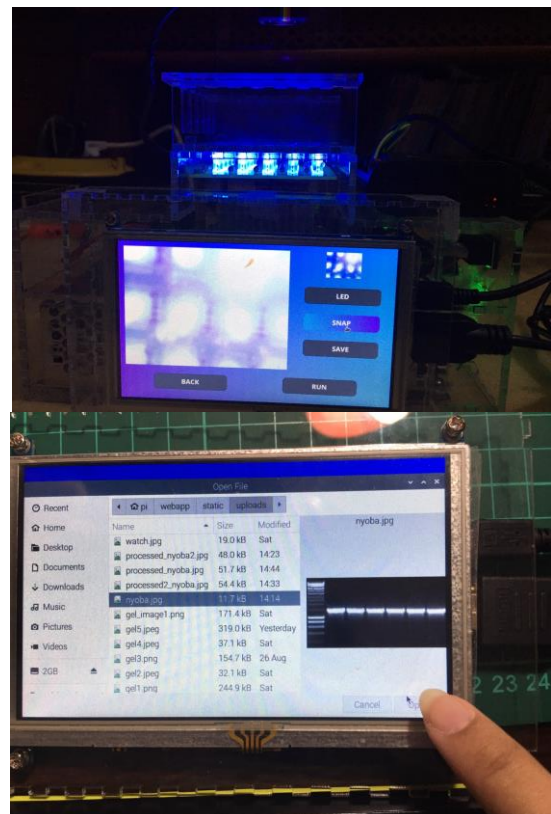


Figure 18 Pengujian Image Acquisition (Pengambilan gambar) dan Storage melalui GUI

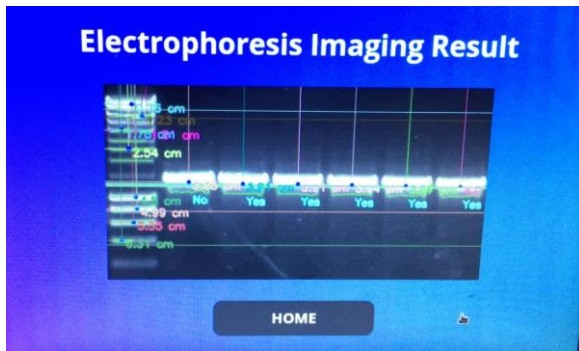


Figure 19 Hasil Image Processing pada Identification Device

Berikut adalah hasil akhir dari PCR Device dan Identification Device.



Figure 20 PCR Device

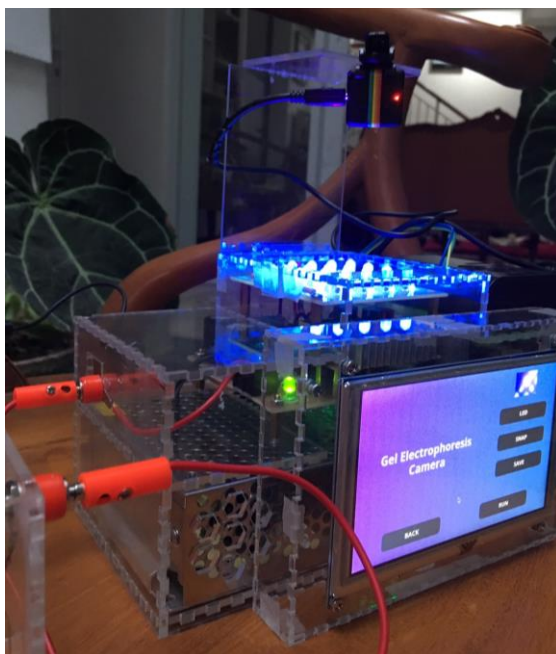


Figure 21 Identification Device

IV. CONCLUSION

Implementasi sistem deteksi sekuen penentu kualitas beras direalisasikan dengan perancangan PCR Device dan Identification Device. PCR Device diimplementasikan dengan kendali *hybrid* pada *thermocycler*, dimana penggunaan kendali *hybrid* dapat mengurangi *settling time* dan *overshoot* dari sistem jika dibandingkan dengan pengendali PI. Total waktu yang diperlukan untuk 1 siklus PCR dengan menggunakan kendali *hybrid* adalah 3 menit 50 detik dengan *overshoot* maksimal tidak melebihi 1 °C. Terdapat perbedaan waktu 1 menit 10 detik dengan alat PCR komersial. Dengan modul termoelektrik yang berdaya lebih besar, dapat dihasilkan waktu yang lebih mendekati dengan alat PCR komersial. Identification Device diimplementasikan dengan penggunaan High Voltage Converter dengan rangkaian regulator yang terdiri dari kapasitor *output* dan LC Filter dengan tujuan agar tegangan keluaran menjadi lebih stabil. Hasil percobaan juga menunjukkan jika High Voltage Converter dapat digunakan untuk proses elektroforesis yang membutuhkan waktu sekitar 45 - 90 menit. UV Illuminator pada Identification Device digunakan untuk menyinari *casting tray* berukuran 8 x 8 cm. Kontrol dari Identification Device diimplementasikan dengan Raspberry Pi 4 dengan Touch Screen LCD sebagai GUI dari alat. Pengguna dapat memulai proses elektroforesis dengan *timer* 60 menit, dan mengambil citra digital hasil elektroforesis dengan kamera. Citra digital dari hasil elektroforesis pada Identification Device dapat diproses oleh sistem sehingga memberikan keluaran apakah sekuen DNA penentu kualitas beras yang dicari telah berhasil diidentifikasi atau tidak. Implementasi proses perbandingan sekuen DNA dengan *ladder* dilakukan dengan memanfaatkan OpenCV pada Python. Keluaran akhir dari sistem ini adalah *user* dapat melihat hasil pemrosesan citra digital dari hasil elektroforesis.

V. REFERENCE

- [1] Qiu, X., & Yuan, J. (2005). Temperature Control for PCR Thermocyclers Based on Peltier-Effect Thermoelectric. [online] Available at: <https://ieeexplore.ieee.org/document/1616249> [Accessed 31 August 2020].
- [2] Agarose Gel Electrophoresis. Tersedia di: <https://www.addgene.org/protocols/gel-electrophoresis/> [Diakses pada 10 December 2019].
- [3] Dostal, Frederik. 2018. Switching Regulator Noise Reduction with an LC Filter - Analog Devices, Inc.. Tersedia di: <https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/tech-articles/switching-regulator-noise-reduction-with-an-lc-filter.pdf> [Diakses pada 15 Maret 2020].
- [4] Robust Dimensioning of the Output Capacitor - Infineon, Tersedia di: https://www.infineon.com/dgdl/Infineon-TLE727x-Output-Cap-Z8F52274290-AN-v01_01-EN.pdf?fileId=5546d4624e24005f014e71dde8c171dc [Diakses pada 15 Maret 2020]
- [5] Xian gyun Y., Ching Y. S., Cheriet M., Eugenia W., "A Recent Development in Image Analysis of Electrophoresis Gels", Vision Interface, Canada, pp, 432-438, 1999. Tersedia di: https://www.etsmtl.ca/ETS/media/ImagesETS/Labo/LIVIA/Publications/1999/Ye_VI99.pdf [Diakses pada 8 Maret 2020]
- [6] Adiga P.S.U., A. Bhomra, "Automatic analysis of agarose gel images," Bioinformatics 17(11), pp. 1084-1090, 2001. https://www.researchgate.net/publication/11630566_Automatic_analysis_of_agarose_gel_images [Diakses pada 8 Maret 2020]