

Nama : Hening Puji Pangestu

NPM : 1814191008

Jurusan : Proteksi Tanaman

Tugas Ilmu Penyakit Benih

1. Jenis-jenis teknik PCR yang digunakan dalam identifikasi penyakit.

Jawab :

Menurut Yusuf (2010), teknik PCR dapat dimodifikasi ke dalam beberapa jenis antara lain, yaitu:

- 1). *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP); metode ini digunakan untuk membedakan organisme berdasarkan analisis model derifat dari perbedaan DNA.
- 2). *Inverse-PCR*, metode ini digunakan ketika hanya satu sekuen internal yang diketahui. Template didigesti dengan enzim restriksi yang memotong bagian luar daerah yang akan diamplifikasi, fragmen restriksi yang dihasilkan ditempelkan dengan ligasi dan diamplifikasi dengan menggunakan sekuen primer yang memiliki titik ujung yang memiliki jarak yang jauh satu sama lain dengan segmen eksternal yang telah tergabung. Metode ini khusus digunakan untuk mengidentifikasi "sekuen antara" dari beragam gen.
- 3). *Nested-PCR*, proses ini memungkinkan untuk mengurangi kontaminasi pada produk selama amplifikasi dari penyatuan primer yang tidak diperlukan. Dua set primer digunakan untuk mendukung metode ini, set kedua mengamplifikasi target kedua selama proses pertama berlangsung. Sekuens DNA target dari satu set primer yang disebut primer inner disimpan di antara sekuens target set kedua dari primer yang disebut sebagai outer primer. Pada prakteknya, reaksi pertama dari PCR menggunakan outer primer, lalu reaksi PCR kedua dilakukan dengan inner primer atau nested primer menggunakan hasil dari produk reaksi yang pertama sebagai target amplifikasi. Nested primer akan menyatu dengan produk

PCR yang pertama dan menghasilkan produk yang lebih pendek daripada produk yang pertama.

- 4). *Quantitative-PCR*; digunakan untuk pengukuran berulang dari hasil produk PCR. Metode ini secara tidak langsung digunakan untuk mengukur kuantitas, dimulai dari jumlah DNA, cDNA, atau RNA. Hasil dari metode ini juga menampilkan copy dari sampel.
- 5). *Reverse Transcriptase (RT-PCR)*; metode ini digunakan untuk amplifikasi, isolasi atau identifikasi sekuen dari sel atau jaringan RNA. Metode ini dibantu oleh reverse transcriptase (mengubah RNA menjadi cDNA), mencakup pemetaan, menggambarkan kapan dan dimana gen diekspresikan.
- 6). *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)* bertujuan untuk mendeteksi polimorfisme pada tingkat DNA. Metode ini dikembangkan oleh Welsh and McClelland (1990) dengan cara mengkombinasikan teknik PCR menggunakan primer – primer dengan sequens acak untuk keperluan amplifikasi lokus acak dari genom.

2. Prinsip kerja PCR.

Jawab :

Prinsip kerja dari teknik PCR adalah memperbanyak bagian spesifik dengan enzim DNA polimerase yang diinisiasi oleh pelekatan primer dengan menghubungkan deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP) dalam reaksi termal. Komponen- komponen yang diperlukan pada proses PCR adalah template DNA; sepasang primer, yaitu suatu oligonukleotida pendek yang mempunyai urutan nukleotida yang komplementer dengan urutan nukleotida DNA templat; dNTPs (Deoxynucleotide trifosfat); buffer PCR; magnesium klorida ($MgCl_2$) dan enzim polimerase DNA. PCR melibatkan banyak siklus yang masing-masing terdiri dari tiga tahap berurutan, yaitu pemisahan (denaturasi) rantai DNA templat, penempelan (annealing) pasangan primer pada DNA target dan pemanjangan (extension) primer atau reaksi polimerisasi yang dikatalisis oleh DNA polimerase (Handoyo dan Rudiretna, 2001).

Sumber Pustaka :

Handoyo, D., dan Rudiretna, A. 2001. Prinsip Umum dan Pelaksanaan Polimerase Chain Reaction (PCR). *Unitas*. 9(1):17-29.

Yusuf, Z.K. 2010. Polymerase Chain Reaction (PCR). *Saintek*. 5(6): 1-6.