

Nama : Wahyu Kurniawan
NPM : 1714191009
Jurusan : Proteksi Tanaman
Matkul : Ilmu Penyakit Benih

Tugas!

1. Jenis-Jenis Teknik PCR

- ❖ *Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP)*; metode ini digunakan untuk membedakan organisme berdasarkan analisis model derifat dari perbedaan DNA.
- ❖ *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.
- ❖ *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.
- ❖ *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
- ❖ *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.

- ❖ *Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD)* bertujuan untuk mendeteksi polimorfisme pada tingkat DNA. Metode ini dikembangkan oleh Welsh and Mc Clelland (1990) dengan cara mengkombinasikan teknik PCR menggunakan primer – primer dengan sequens acak untuk keperluan amplifikasi lokus acak dari genom.

2. Prinsip Kerja PCR

Reaksi Polimerase Berantai atau dikenal sebagai Polymerase Chain Reaction (PCR), merupakan suatu proses sintesis enzimatis untuk melipatgandakan suatu sekuens nukleotida tertentu secara *in vitro*. Metode ini dikembangkan pertama kali oleh Kary B. Mulis pada tahun 1985. Metode ini sekarang telah banyak digunakan untuk berbagai macam manipulasi dan analisis genetik. Pada awal perkembangannya metode ini hanya digunakan untuk melipatgandakan molekul DNA, tetapi kemudian dikembangkan lebih lanjut sehingga dapat digunakan pula untuk melipatgandakan dan melakukan kuantitas molekul mRNA. dengan adanya tiga tahapan penting dalam proses PCR yang selalu terulang dalam 30-40 siklus dan berlangsung dengan cepat yaitu denaturasi, annealing, dan pemanjangan untai DNA.

Referensi:

Jurnal Saintek Vol 5, No 6, Tahun 2010 *Polymerase Chain Reaction (Pcr)*. Zuhriana K.Yusuf

Karya Tulis Ilmiah. *Peranan Teknik Polymerase Chain Reaction (Pcr) Terhadap Perkembangan Ilmu Pengetahuan*. Elliwati Hasibuan, S.Si, M.Si