

BIOLOGI MOLEKULER

PERTEMUAN 9

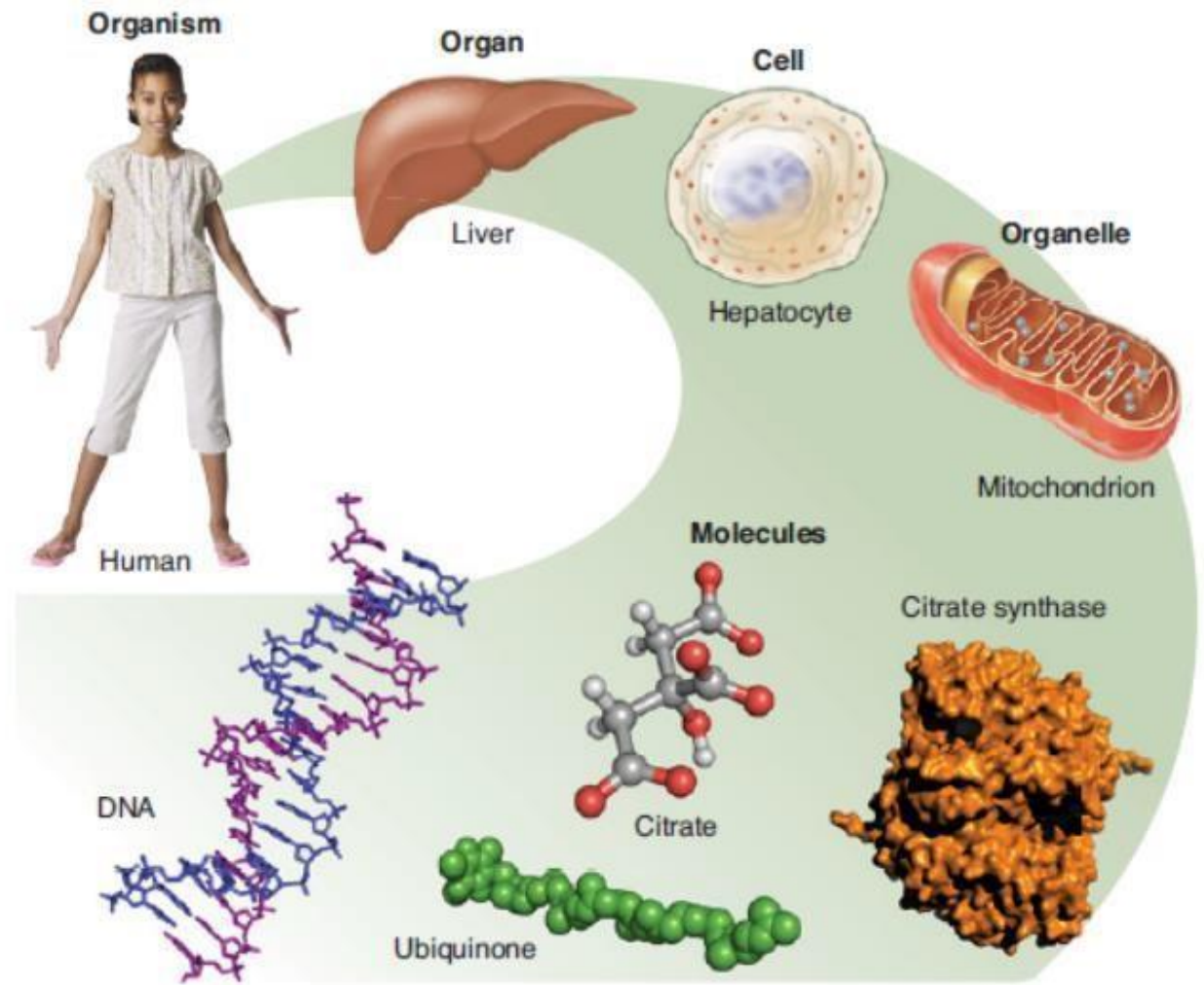
PCR DAN ELISA

Desi Novita R

BIOASSAY

Bioassay adalah sebuah metode yang dirancang untuk menganalisis suatu senyawa biologi (mahluk hidup)

Prinsip Bioassay → Untuk membandingkan sampel dengan sediaan Standar yang sama (Identifikasi sampel)



POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

1. PCR adalah metode buatan untuk memperbanyak DNA didalam laboratorium
2. Tujuan : memperbanyak jumlah sekuen spesifik DNA
3. Cara kerja : teknik PCR memperbanyak jumlah sekuen spesifik DNA.
4. Tiap siklus reaksi menggandakan jumlah DNA. Reaksi standar PCR 30 siklus mampu menggandakan DNA hingga lebih dari 1 milyar salinan
5. PCR terjadi pada alat pengatur siklus panas dan menggunakan suhu yang bervariasi untuk mengatur replikasi DNA.

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

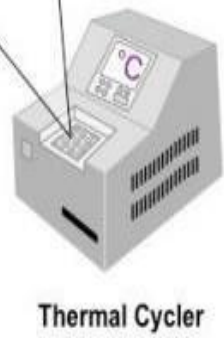
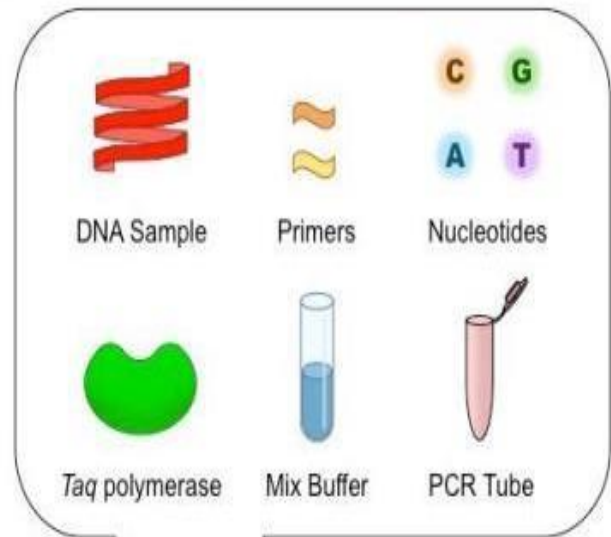
1. Merupakan metode perbanyakan gen (DNA) menggunakan reaksi berantai
2. Dibantu oleh enzim DNA polimerase
3. Memerlukan primer → DNA spesifik dengan panjang 18-24 pb
4. Terdiri dari 3 tahap :

Denaturasi → pemisahan untai ganda DNA

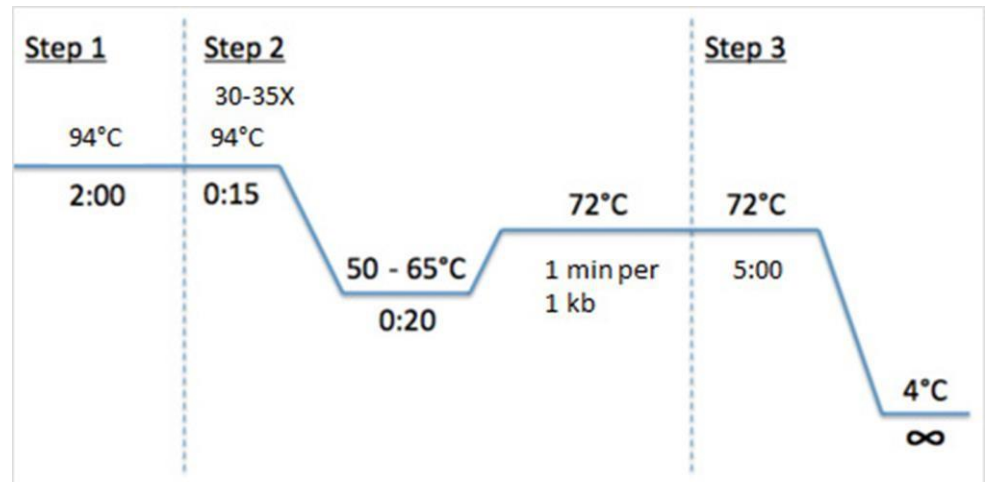
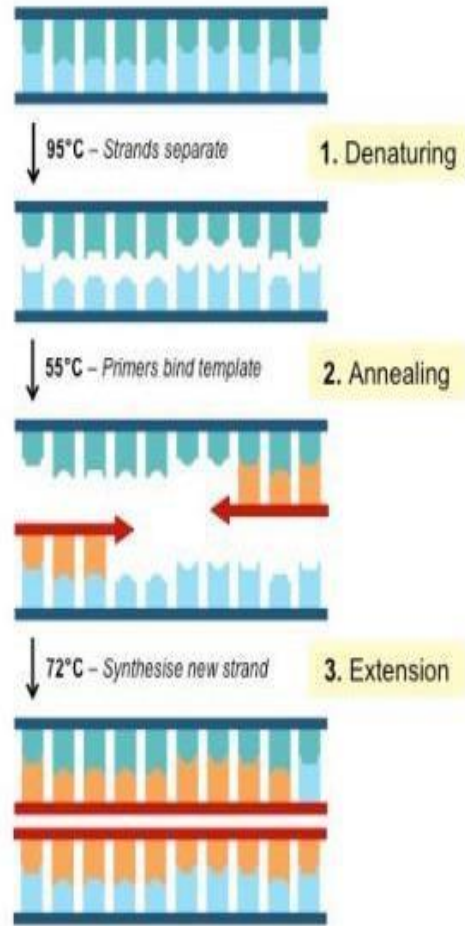
Annealing → penempelan primer pada DNA

Elongasi → pembentukan DNA/gen baru

Komponen PCR

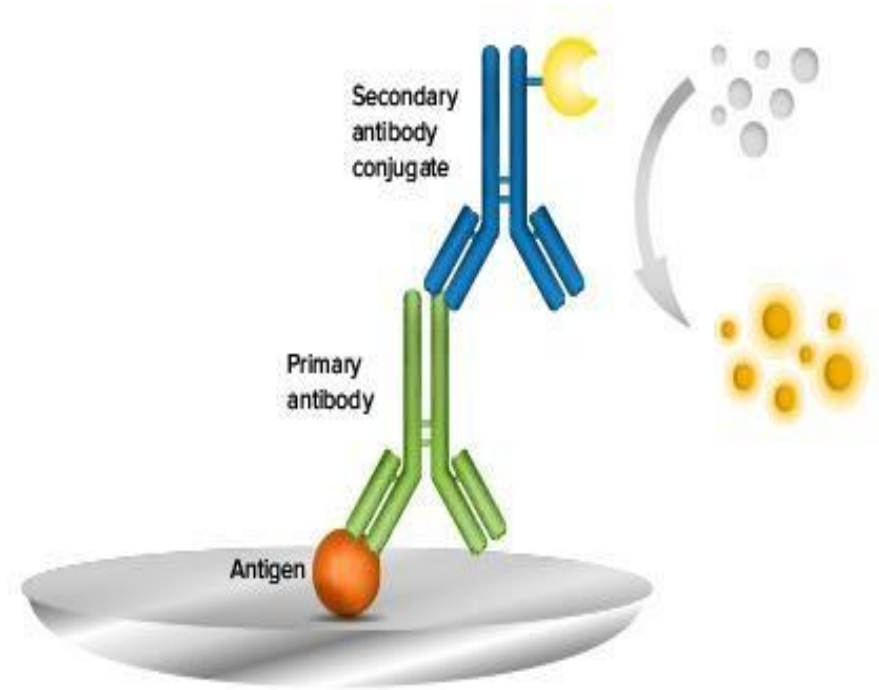


Proses PCR satu siklus



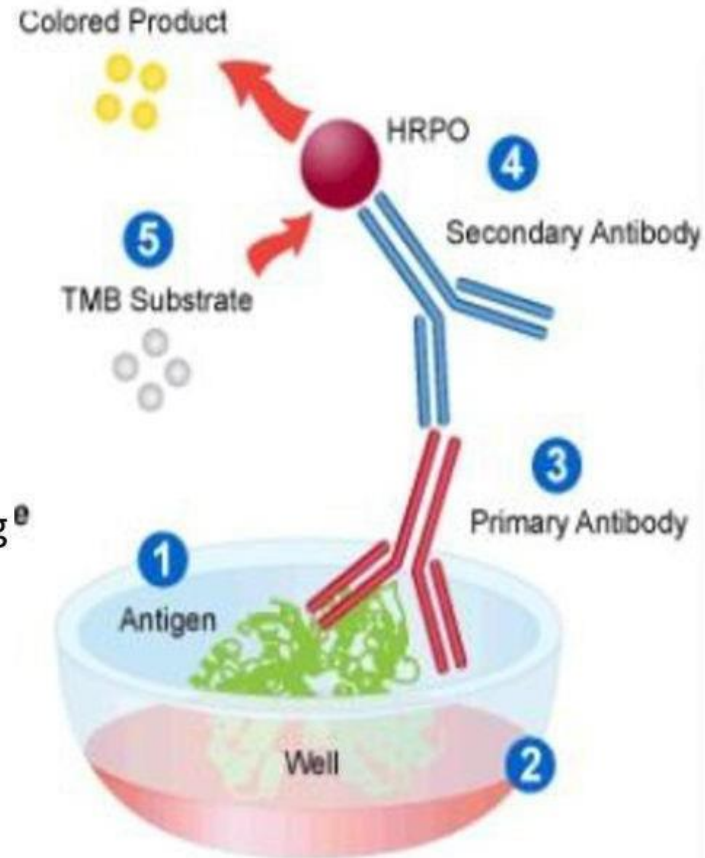
ELISA ***(ENZYME-LINKED IMMUNOSORBENT ASSAY)***

1. Merupakan uji serologik untuk mendeteksi antigen atau antibodi pada berbagai jenis penyakit infeksius, non-infeksius, kanker, autoimun, hormon, dan alergen makanan.
2. ELISA memberikan pengukuran antigen atau antibodi yang baik secara relatif maupun kuantitatif.
3. ELISA dapat digunakan untuk mendeteksi adanya antigen yang dikenali oleh antibodi atau dapat digunakan untuk menguji antibodi yang mengenali antigen.



Prinsip Dasar ELISA

1. Antigen/sampel ditambahkan ke *plate*
2. *Blocking buffer* ditambahkan untuk menghalangi tempat pengikatan protein
3. Tambahkan antibodi primer yang sesuai
4. Tambahkan konjugat antibodi sekunder-enzim yang sesuai yang mengenali dan berikatan dengan antibodi primer
5. Tambahkan substrat TMB yang akan dikonversi oleh enzim menjadi bentuk yang terdeteksi



ANTIGEN VERSUS ANTIBODY

An antigen is any substance that triggers an immune response in the body

Also called immunogens

Can be either proteins, carbohydrates, lipids or nucleic acids

Interacting domain with the antibody is called the epitope

Cause either diseases or allergic reactions

The four types include exogenous antigens, endogenous antigens, autoantigens, and neoantigens

An antibody is a blood protein that is produced against a specific antigen

Also called immunoglobulins

Glycoproteins

Variable site can bind to the epitope

Protect the body from antigens either by immobilizing the antigen or lysing the pathogen

The four types include IgM, IgG, IgE, IgD, and IgA