

 Rumah Sakit Unhas	PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)		
	Nomor Dokumen	Nomor Revisi	Halaman
	4836/UN4.24.0/OT.0 1.00/2023	02	1 dari 2
PROSEDUR OPERASIONAL STANDAR LABORATORIUM MIKROBIOLOGI KLINIK	Tanggal Terbit 13 April 2023	Ditetapkan Direktur Utama  dr. Andi Muhammad Ichsan, Ph.D., Sp.M(K) NIP 197002122008011013	
Pengertian	Polymerase Chain Reaction adalah pemeriksaan yang menggunakan teknik berbasis asam nukleat yang memungkinkan dilakukannya deteksi secara cepat, spesifik dan sensitif dari suatu mikroorganisme tertentu.		
Tujuan	Untuk mengamplifikasi/memperbanyak DNA (Deoxyribose Nucleic Acid) secara invitro melalui proses siklus yang berulang		
Kebijakan	Peraturan Direktur Utama Rumah Sakit Universitas Hasanuddin Nomor 39/UN4.24.0/2023 Tentang Pedoman Pelayanan Instalasi Laboratorium Mikrobiologi Klinik Rumah Sakit Universitas Hasanuddin		
Prosedur	Peralatan : 1. Mesin PCR,Biorad 2. APD yang sesuai 3. BSC class II 4. Micropipette 10 µl, 200 µl dan 1000 µl 5. Maxi mix II,thermolyne 6. Sentrifus 7. Freezer -20°C 8. Kulkas suhu 2-8 °C Bahan habis pakai : 1. Kit PCR Gotaq master mix green 2. Primer (primer forward & reverse) 3. Tip 10 µl,200 µl,1000 µl 4. Tabung PCR 200 µl 5. Buffer TE 6. ddH2O 7. Alkohol 70% 8. Tissue Prosedur pra pemeriksaan (terutama menyangkut persiapan sampel) : 1. Sampel (DNA murni dari hasil ekstraksi) Simpan didalam kulkas 2-8oC untuk penyimpanan maksimum 7 hari. Di dalam freezer -20oC untuk penyimpanan maksimum 1 bulan dan di dalam freezer -80oC untuk penyimpanan maksimum 6 bulan.		



Rumah Sakit Unhas

PCR (POLYMERASE CHAIN REACTION)

Nomor Dokumen

Nomor Revisi

Halaman

4836/UN4.24.0/OT.0
1.00/2023

02

2 dari 2

2. Susunan basa primer (primer forward dan reverse)

- Masukkan buffer TE sesuai instruksi yang tertera di masing-masing vial, diperoleh primer dengan konsentrasi 100µM. Vortex beberapa detik lalu di sentrifuge beberapa detik.
- Dilusi masing-masing primer hingga diperoleh konsentrasi 10 µM, dengan cara pipet 10 µl primer dengan konsentrasi 100µM lalu tambahkan 90µL buffer TE.

Instruksi :

1. Pipet gotaq master mix green sebanyak 12,5 µl ke dalam tabung PCR yang ukuran 200 µl.
2. Tambahkan primer forward 10 µM, sebanyak 0,5 µl.
3. Tambahkan primer reverse 10 µM, sebanyak 0,5 µl.
4. Tambahkan sampel DNA ≤100ng (5 µl)
5. Tambahkan ddH₂O sebanyak 6,5 µl
6. Sentrifus tabung selama beberapa detik
7. Masukan ke dalam alat PCR
8. Atur kondisi PCR : Initial denaturation 94°C selama 5 menit, di ikuti oleh 35 siklus : denaturation 94°C selama 30 detik, annealing 55°C selama 30 detik, extension 72°C selama 1:30 detik. Serta final extension 72°C selama 5 menit di ikuti proses pendinginan pada suhu 25°C.
9. Tunggu hingga proses PCR selesai

Prosedur pasca pemeriksaan

Interpretasi hasil

Uji produk PCR dapat diketahui dengan melanjutkan ke tahap elektroforesis menggunakan Geldoc Bio-Rad. Hasil yang diperoleh berupa band yang menunjukkan panjang basa primer/base pair (bp) tertentu dari gen yang diperiksa

Unit Terkait

Laboratorium Mikrobiologi

Dokumen Terkait

Buku pemeriksaan

Petugas Terkait

Laboran