1. Ruang lingkup

Instruksi ini berlaku untuk penggunaan *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dalam laboratorium untuk amplifikasi DNA/RNA dalam berbagai aplikasi seperti biologi molekuler, mikrobiologi, dan diagnostik.

2. Tujuan

Menyediakan panduan penggunaan dan perawatan PCR guna memastikan hasil amplifikasi yang akurat serta menjaga kinerja dan umur pakai alat.

3. Acuan

- Manual resmi penggunaan PCR
- Protokol *Standar Good Laboratory Practice* (GLP)

4. Prinsip Kerja

PCR bekerja dengan prinsip replikasi DNA secara in vitro melalui siklus denaturasi, annealing, dan ekstensi menggunakan enzim DNA polimerase, primer spesifik, dan nukleotida.

5. Kualifikasi Personel

Personel yang diperbolehkan mengoperasikan alat ini harus memiliki:

- Pemahaman dasar tentang teknik PCR dan biologi molekuler
- Pelatihan penggunaan PCR dan penanganan sampel DNA/RNA
- Kemampuan dalam menyiapkan reagen dan menganalisis hasil elektroforesis gel

6. Perlengkapan dan Alat Bantu

- Alat PCR
- Mikropipet dan tip bebas DNase/RNase
- Tabung PCR (0,2 mL) dan strip tube
- Master mix (dNTPs, buffer, polymerase)
- Primer forward dan reverse
- Template DNA/RNA
- Centrifuge mini untuk tabung PCR
- Tisu bebas serat dan alkohol 70% untuk pembersihan

7. Langkah-langkah Penggunaan

7.1 Gambar Alat

7.2 Persiapan

7.2.1 Pastikan alat dalam kondisi bersih dan bebas kontaminasi.

7.2.2 Siapkan semua reagen dalam kondisi dingin (gunakan es atau *cold block*).

7.2.3 Sterilisasi area kerja dengan etanol 70% untuk mencegah kontaminasi.

7.2.4 Pastikan thermal cycler sudah dikalibrasi dan program PCR telah diatur.

7.3 Pengerjaan Sampel

7.3.1 Campurkan komponen PCR dalam tabung sesuai dengan protokol.

7.3.2 Centrifuge tabung PCR dengan centrifuge mini untuk mengumpulkan reagen di dasar tabung.

7.3.3 Tempatkan tabung dalam thermal cycler dengan posisi yang benar.

7.3.4 Jalankan program PCR sesuai protokol (misalnya: Denaturasi 95°C, Annealing 50-60°C, Ekstensi 72°C).

7.4 Analisis Data

7.4.1 Setelah PCR selesai, simpan produk PCR pada suhu 4°C atau -20°C.

7.4.2 Analisis hasil dengan elektroforesis gel agarosa atau real-time PCR jika menggunakan qPCR.

7.4.3 Dokumentasikan hasil amplifikasi dalam format digital atau cetak.

7.5 Perawatan dan Pembersihan

7.5.1 Setelah penggunaan, bersihkan area kerja dengan alkohol 70%.

7.5.2 Pastikan tutup thermal cycler bersih dari sisa tabung atau debu.

7.5.3 Hindari menyentuh blok pemanas untuk mencegah kerusakan.

7.5.4 Matikan alat setelah digunakan dan pastikan kondisi lingkungan penyimpanan sesuai spesifikasi pabrikan.

7.6 Tahap Akhir

7.6.1 Simpan data hasil PCR dalam log laboratorium.

7.6.2 Pastikan semua reagen kembali disimpan pada suhu yang sesuai.

7.6.3 Catat penggunaan alat dalam buku log untuk monitoring pemakaian.

8. Instruksi Perawatan Alat

Jenis Perawatan	Frekuensi	Langkah-Langkah
Pembersihan blok pemanas	Setiap penggunaan	Gunakan tisu bebas serat dengan etanol 70%
Kalibrasi suhu blok	Setiap 6 bulan	Cek dan sesuaikan dengan standar pabrikan
Pemeriksaan perangkat lunak	Jika ada pembaruan	Pastikan firmware alat dalam versi terbaru
Pemeriksaan kabel dan koneksi	Setiap 3 bulan	Pastikan tidak ada kabel yang longgar atau rusak

9. Catatan Keselamatan

- Gunakan sarung tangan saat menangani sampel DNA/RNA untuk mencegah kontaminasi.
- Hindari membuka thermal cycler selama proses PCR berlangsung untuk menjaga kestabilan suhu.
- Pastikan area kerja bebas dari kontaminasi nuklease untuk mencegah degradasi sampel.
- Simpan reagen pada suhu yang sesuai (misalnya -20°C untuk enzim dan primer).

10. Penutup

Dokumen ini dapat diperbaharui secara berkala.