



BADAN RISET DAN INOVASI NASIONAL

INSTRUKSI KERJA

POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)

Merek : Sensoquest

Tipe : -

Nomor Dokumen: IK-BRIN-TAKSA-013-2025

Ver.Rev. : 01-00

**Diterbitkan
Pada Tanggal : Mei 2025**

Disahkan oleh Koordinator Laboratorium Taksa



TT ELEKTRONIK

Laras Murni Rahayu, A.Md

NIP.

Disiapkan oleh : **Manajer Umum**

Dikaji ulang oleh : **PIC Mutu**

Paraf : Kasirah



TT ELEKTRONIK

Paraf

: Andi Saptaji Kamal



TT ELEKTRONIK

LABORATORIUM TAKSA

KAWASAN SAINS DAN TEKNOLOGI (KST) SOEKARNO, CIBINONG

	Instruksi Kerja		IK-BRIN-TAKSA-013-2025	
			Edisi/Revisi	: 01/00
	<i>POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)</i>		Tgl. Revisi	: -
	Merek : Sensoquest Tipe : -		Halaman	: 2 dari 2

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

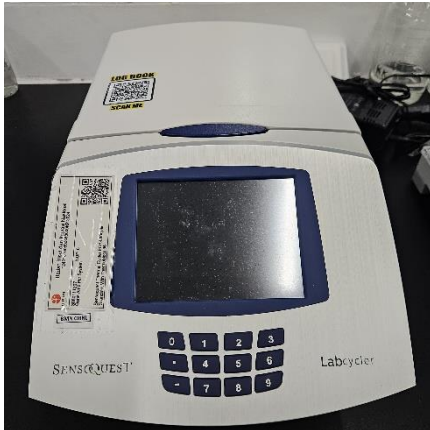
6. Perlengkapan dan Alat Bantu

- Thermal Cycler 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

	Instruksi Kerja		IK-BRIN-TAKSA-013-2025	
			Edisi/Revisi	: 01/00
	POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)		Tgl. Revisi	: -
	Merek : Sensoquest Tipe : -		Halaman	: 3 dari 2

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 Tekan tombol "Program" pada panel utama alat.
- 7.3.2 Pilih submenu "New Program" untuk membuat program baru, atau "Edit Program" jika ingin memodifikasi program yang sudah tersimpan.
- 7.3.3 Pastikan memori alat masih mencukupi untuk menyimpan program baru.
- 7.3.4 Menetapkan Parameter Umum Program
 - Isi Nama Program sesuai target amplifikasi atau nama gen yang akan diperbanyak (contoh: 16SrDNA_2025-10-31).
 - Tentukan Volume Reaksi (misalnya 25 µL) dan jenis tabung PCR (0.2 mL individual atau strip).
 - Atur Heating Lid Temperature (biasanya 105 °C) untuk mencegah kondensasi pada tutup tabung.
- 7.3.5 Mengatur Tahap Awal (Initial Denaturation)
 - Masukkan suhu awal 94–95 °C selama 2–5 menit.
 - Tahapan ini berfungsi untuk membuka heliks ganda DNA dan mengaktifkan hot-start polymerase bila digunakan.
 - Pastikan step hold diatur menjadi satu kali (1 cycle).
- 7.3.6 Menetapkan Siklus Utama (Amplification Cycles)
 - Tekan Add Step / Cycle dan tentukan jumlah siklus (umumnya 25–40 cycles).
- 7.3.7 Pada setiap siklus, masukkan tiga tahap berikut:
 - Denaturation: 94–95 °C selama 30 detik.
 - Annealing: 50–65 °C selama 30 detik (d disesuaikan dengan T_m primer).

	Instruksi Kerja		IK-BRIN-TAKSA-013-2025	
			Edisi/Revisi	: 01/00
	POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)		Tgl. Revisi	: -
	Merek : Sensoquest Tipe : -		Halaman	: 4 dari 2

- Extension: 72 °C selama 30–90 detik (1 menit per kb DNA target).
- 7.3.8 Pastikan pengaturan waktu dan suhu diulang otomatis sesuai jumlah siklus yang dimasukkan.
- 7.3.9 Menetapkan Tahap Akhir (Final Extension)
- Tambahkan langkah terakhir pada 72 °C selama 5–10 menit untuk memastikan seluruh fragmen DNA terpolimerisasi sempurna.
 - Pilih opsi Hold After Cycle agar alat otomatis melanjutkan ke tahap penahanan (holding).
- 7.3.10 Mengatur Tahap Penahanan (Final Hold)
- Atur suhu penahanan (hold) pada 4 °C dengan durasi tak terbatas (∞).
 - Fase ini menjaga stabilitas produk PCR hingga sampel diambil.
- 7.3.11 Verifikasi Program Sebelum Penyimpanan
- Tinjau kembali seluruh tahapan di layar tampilan (temperature/time/cycle).
 - Pastikan tidak ada kesalahan pengetikan angka atau urutan langkah.
 - Periksa urutan siklus ditandai secara benar (loop structure tidak terputus).
- 7.3.12 Menyimpan Program
- Tekan tombol “Save”.
 - Masukkan nama file sesuai format standar laboratorium:
 - <Target>_<Primer>_<Tanggal> Contoh: ITSfungi_FwRv_2025-10-31
 - Konfirmasi penyimpanan dengan menekan “OK”.
- 7.3.13 Menjalankan Program
- Kembali ke menu utama, pilih “Run Program”.
 - Pilih nama program yang telah disimpan.
 - Pastikan tabung PCR telah ditempatkan dengan benar dan tutup pemanas terkunci.
 - Tekan “Start” untuk memulai proses PCR.
 - Layar akan menampilkan status real-time: Step → Temperature → Elapsed Time → Cycle Count.
- 7.3.14 Pemantauan Selama Proses Berjalan
- Pastikan indikator suhu bekerja normal (grafik suhu naik–turun sesuai profil program).
 - Perhatikan suara kipas pendingin dan hindari membuka penutup selama program berlangsung.
 - Jika muncul pesan kesalahan (Error / Aborted), tekan “Stop” dan catat kode error di log pemakaian.
- 7.3.15 Akhir Siklus dan Penyimpanan Hasil
- Setelah semua siklus selesai, layar akan menampilkan pesan “Cycle Complete”.
 - Alat otomatis masuk ke mode Hold 4 °C.
 - Biarkan tabung tetap di dalam hingga siap diambil untuk analisis lanjut (elektroforesis).

	Instruksi Kerja		IK-BRIN-TAKSA-013-2025	
			Edisi/Revisi	: 01/00
	POLYMERASE CHAIN REACTION (PCR)		Tgl. Revisi	: -
	Merek : Sensoquest Tipe : -		Halaman	: 5 dari 2

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.
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 harus diperbarui secara berkala untuk memastikan kepatuhan terhadap standar terbaru dalam laboratorium taksa.