






MANUAL PROSEDUR  
IDENTIFIKASI GEN MTHFR  
LABORATORIUM PUSAT RISET BIOMEDIK (CEBIOR)  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS DIPONEGORO

Kode Dokumen	: SPMI-UNDIP/MP/04.07/06
Revisi ke	: -
Tanggal	: 15 Januari 2018
Disiapkan oleh	: Ketua Laboratorium CEBIOR
Dikaji ulang oleh	: Wakil Dekan Riset dan Inovasi
Dikendalikan oleh	: Tim Penjaminan Mutu Fakultas
Disahkan oleh	: Dekan Fakultas Kedokteran

<b>FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO</b>	MANUAL PROSEDUR Identifikasi Gen MTHFR  SPMI-UNDIP/MP/04.07/06	Disetujui oleh  Dekan
---	---	--

		<p style="text-align: center;"><b>MANUAL PROSEDUR</b> Identifikasi Gen MTHFR</p>	<p style="text-align: center;">Disetujui oleh:</p>  Dean

### Tujuan

Untuk mengetahui tidak berfungsinya metabolisme folat dan untuk mengetahui polimorfisme.

### Definisi

1. Methylene tetrahydrofolate reductase (MTHFR) merupakan gen yang berperan dalam siklus pembentukan asam folat. Mutasi pada gen ini dapat menyebabkan beberapa kelainan kongenital, antara lain : bibir sumbing, spina bifida, dll.

### Syarat Administrasi

#### Alat :

1. Mesin PCR
2. Mikro centrifuge
3. Mikro pipet
4. Mikro Tube
5. Blue Tip
6. Yellow Tip
7. Gel Elektroforesis
8. Gel Documentation

#### Bahan :

1. DNA
2. Milli-Q
3. PCR Buffer 10X + MgCl<sub>2</sub> 15 mM
4. dNTPs
5. Primer F/R
6. Taq Polimerase (MRC Holland)

### RUANG LINGKUP

Ruang lingkup MP Identifikasi Gen MTHFR ini meliputi:

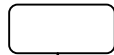
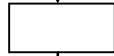




- a. Persyaratan yang diperlukan pada saat identifikasi gen MTHFR;
- b. Tahap kegiatan dalam prosedur identifikasi gen MTHFR;
- c. Pihak-pihak yang terlibat dalam identifikasi gen MTHFR;
- d. Waktu yang dibutuhkan dalam identifikasi gen MTHFR;

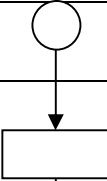
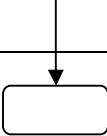
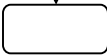
e. Dokumen yang diperlukan atau dihasilkan dalam identifikasi gen MTHFR.

#### **PROSEDUR**

1. DNA (100ng) diamplifikasi dengan 4 p-mol primer dalam volume 25 ul yang berisi 2.5U enzyme taq polymerase (MRC Holland), PCR Buffer 10X + MgCl<sub>2</sub> 15 mM, 0.2 mM dNTPs.
2. Larutan reaksi didenaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit kemudian diamplifikasi 35 siklus : denaturasi selama 94°C selama 30 detik , annealing selama 30 detik pada suhu 60°C, ekstensi selama 30 detik pada suhu 72°C, diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit.
3. Product PCR 7 ul ditambahkan dengan loading dye 3 ul di masukkan pada sumuran yang telah dicetak pada Agarose.
4. Hasil PCR dilihat dengan menggunakan agarose 1 % dan dilarikan dengan Elektroforesis selama 1 jam 120 V.
5. Hasil dilihat pada Gel Dokumentasi.
6. Setelah product didapatkan kita cerna dengan enzyme restriksi HinfI (1 bagian product PCR ditambahkan 1 bagian enzyme restriksi), inkubasi pada suhu 37°C selama 3 jam.
7. Hasil PCR dilihat dengan menggunakan agarose 3 % dan dilarikan dengan Elektroforesis selama 1 jam 120 V.
8. Hasil dilihat pada Gel Dokumentasi.

**BAGAN ALIR MANUAL PROSEDUR**  
Identifikasi Gen MTHFR

No	Kegiatan	PELAKSANA	BAKU MUTU		Keterangan
		Laboran	Waktu	Output	
1	DNA (100ng) diamplifikasi dengan 4 p-mol primer dalam volume 25 ul yang berisi 2.5U enzyme taq polymerase (MRC Holland), PCR Buffer 10X + MgCl <sub>2</sub> 15 mM, 0.2 mM dNTPs.			1 jam	
2	Larutan reaksi didenaturasi awal pada suhu 95°C selama 5 menit kemudian diamplifikasi 35 siklus : denaturasi selama 94°C selama 30 detik , annealing selama 30 detik pada suhu 60°C, ekstensi selama 30 detik pada suhu 72°C, diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 10 menit.			2 jam	
3	Product PCR 7 ul ditambahkan dengan loading dye 3 ul di masukkan pada sumuran yang telah dicetak pada Agarose.			1 jam	
4	Hasil PCR dilihat dengan menggunakan agarose 1 % dan dilarikan dengan Elektroforesis selama 1 jam 120 V.			1 jam	
5	Hasil dilihat pada Gel Dokumentasi.			15 menit	
6	Setelah product didapatkan kita cerna dengan enzyme restriksi HinfI (1 bagian product PCR ditambahkan 1 bagian enzyme restriksi),			3 jam	

	inkubasi pada suhu 37°C selama 3 jam.				
7	Hasil PCR dilihat dengan menggunakan agarose 3 % dan dilarikan dengan Elektroforesis selama 1 jam 120 V.			1 jam	
8	Hasil dilihat pada Gel Dokumentasi.			15 menit	