






MANUAL PROSEDUR
AMPLIFIKASI GEN *SRY*
LABORATORIUM PUSAT RISET BIOMEDIK (*CEBIOR*)
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO

Kode Dokumen	: SPMI-UNDIP/MP/04.07/09
Revisi ke	: -
Tanggal	: 15 Januari 2018
Disiapkan oleh	: Ketua Laboratorium <i>CEBIOR</i>
Dikaji ulang oleh	: Wakil Dekan Riset dan Inovasi
Dikendalikan oleh	: Tim Penjaminan Mutu Fakultas
Disahkan oleh	: Dekan Fakultas Kedokteran

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS DIPONEGORO	MANUAL PROSEDUR Amplifikasi Gen <i>SRY</i>	Disetujui oleh
	SPMI-UNDIP/MP/04.07/09	 Dekan

		MANUAL PROSEDUR Amplifikasi Gen <i>SRY</i>	Disetujui oleh:  Dekan
Revisi ke -	Tanggal 15-01-2018	SPMI-UNDIP/MP/04.07/09	

Tujuan

Untuk mendeteksi lengan pendek kromosom Y.

Definisi

1. Gen SRY adalah gen yang berperan dalam penentuan jenis kelamin suatu individu.
2. Kromosom berasal dari dua kata, yaitu "kroma" yang artinya benang, dan "soma" yang berarti badan. Sesuai dengan namanya tersebut, **Kromosom adalah** struktur berupa benang halus yang membawa informasi genetik (gen). **Kromosom** terdapat di dalam setiap inti sel makhluk hidup.

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 + MgCl₂ 15 mM
4. dNTPs
5. Primer Multiplex A
6. Primer Multiplex B
7. Amplitaq Gold Enzyme/ Taq

Resep Pembuatan Reagen :

- Loading buffer

Ficol 15 %	15 gr
Brom Phenol blue (0,0125 %)	0.0125 gr
Tris HCL (40 mM)	100 ml

Maniatis/ Sambrook P 6.12

- Melarutkan dNTP's :
dNTP's 10 x
dNTP Working : 2mM dATP,dCTP,dTTP,
1,5 dGTP
dATP,dCTP,dTTP : $\frac{2\text{mM} \times 500 \mu}{100 \text{mM}} = 10\mu$ dr stok
dGTP : $1,5 \text{mM} \times 500 \mu = 7,5 \mu$
10 μ dATP
10 μ dCTP
10 μ dTTP
7,5 μ dGTP
462,5 μ H₂O
- Primer SRY :
Primer forward : accrctgtactgactgtgattacac
Primer reverse : gcacytctttggatctcygagaaagt
Primer forward : gaatattcccgcctctccgga
Primer reverse : gctggtgctccattcttgag

RUANG LINGKUP


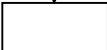
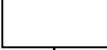
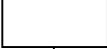

Ruang lingkup MP Amplifikasi Gen SRY untuk *Sex Assignment* ini meliputi:

- a. Persyaratan yang diperlukan pada amplifikasi gen SRY untuk *sex assignment*;
- b. Tahap kegiatan dalam prosedur amplifikasi gen SRY untuk *sex assignment*;
- c. Pihak-pihak yang terlibat dalam amplifikasi gen SRY untuk *sex assignment*;
- d. Waktu yang dibutuhkan dalam amplifikasi gen SRY untuk *sex assignment*;
- e. Dokumen yang diperlukan atau dihasilkan dalam amplifikasi gen SRY untuk *sex assignment*.

PROSEDUR

1. PCR menggunakan primer F/R untuk mendeteksi gen SRY. DNA (100ng) diamplifikasi dengan 2,5 p-mol primer dalam volume 50 ul.yang berisi 0,2 U enzyme taq polymerase (MRC Holland) dengan PCR buffer 15 mM MgCl₂ (AB), 0.5 mM dNTPs.
2. Larutan reaksi didenaturasi awal pada suhu 94°C selama 3 menit kemudian diamplifikasi 35 siklus : denaturasi selama 94°C selama 30 detik , annealing selama 45 detik pada suhu 55°C, ekstensi selama 45 detik pada suhu 72°C, diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 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 2 % dan dilarikan dengan Elektroforesis selama 1 jam 120 V, kemudian dilihat pada Gel Dokumentasi.
5. Besaran produk pada gen SRY dapat dilihat dan diukur dengan menggunakan marker pengukur 100bp.

BAGAN ALIR MANUAL PROSEDUR
Amplifikasi Gen SRY untuk *Sex Assignment*

No	Kegiatan	PELAKSANA	BAKU MUTU		Keterangan
		Laboran	Waktu	Output	
1	PCR menggunakan primer F/R untuk mendeteksi gen SRY. DNA (100ng) diamplifikasi dengan 2,5 p-mol primer dalam volume 50 ul.yang berisi 0,2 U enzyme taq polymerase (MRC Holland) dengan PCR buffer 15 mM MgCl ₂ (AB), 0.5 mM dNTPs.		30 Menit		
2	Larutan reaksi didenaturasi awal pada suhu 94°C selama 3 menit kemudian diamplifikasi 35 siklus : denaturasi selama 94°C selama 30 detik , annealing selama 45 detik pada suhu 55°C, ekstensi selama 45 detik pada suhu 72°C, diikuti dengan ekstensi akhir pada suhu 72°C selama 7 menit		2 jam		
3	Product PCR 7 ul ditambahkan dengan loading dye 3 ul di masukkan pada sumuran yang telah dicetak pada Agarose.		15 menit		
4	Hasil PCR dilihat dengan menggunakan agarose 2 % dan dilarikan dengan Elektroforesis selama 1 jam 120 V, kemudian dilihat pada Gel Dokumentasi.		1 jam		
5	Besaran produk pada gen SRY dapat dilihat dan diukur dengan menggunakan marker pengukur 100bp.		15 menit		