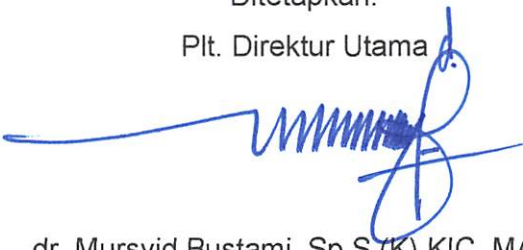


 Rumah Sakit Pusat Otak Nasional Prof. Dr. dr. Mahar Mardjono Jakarta	EKSTRAKSI DNA		
	No. Dokumen : <i>OT-02.02/xxxix / 20g / 2023</i>	No. Revisi :	Halaman : 1/4
SPO	Tanggal Terbit: <i>5 Januari 2023</i>	Ditetapkan: Plt. Direktur Utama  dr. Mursyid Bustami, Sp.S (K) KIC, MARS NIP 196209131988031002	
PENGERTIAN	Ekstraksi DNA adalah teknik untuk mengeluarkan material genomik dari sel darah manusia.		
TUJUAN	- Memisahkan material DNA dari bahan lain seperti protein, lemak, dan karbohidrat sebelum dilanjutkan pemeriksaan <i>Polymerase Chain Reaction</i> (PCR) dan <i>sequencing</i>. - Memberikan petunjuk kepada petugas mengenai cara melakukan ekstraksi DNA di laboratorium genomik.		
KEBIJAKAN	SK Direktur Utama RS Pusat Otak Nasional Nomor: HK.02.03/XXXIX.3/2252/2022 tentang Tim Hubs <i>Biomedical Genome-Based Science Initiative</i> pada RS Pusat Otak Nasional Prof. Dr. dr. Mahar Mardjono Jakarta.		
PROSEDUR	A. Metode : <i>High molecular weight extraction kit</i> (PROMEGA) B. Prinsip : 1. Spesimen <i>whole blood</i> dipecah menggunakan <i>HMW Blood Lysis Buffer</i> 2. Menghilangkan <i>lipid membrane</i> dengan penambahan PBS 3. Menghilangkan protein dengan menambahkan <i>protease/phenol-chloroform</i> 4. Presipitasi DNA menggunakan etanol / isopropanol dingin C. Spesimen - Jenis : <i>Whole blood</i> - Jumlah : 3 mL - Wadah : Tabung K3-EDTA 3 mL - Stabilitas : 2 jam pada suhu 37°C D. Reagensia - <i>HMW Blood Lysis Buffer</i> - PBS - <i>HMW Lysis Buffer A</i>		
4/4			



Rumah Sakit
Pusat Otak Nasional
Prof. Dr. dr. Mahar
Mardjono Jakarta

EKSTRAKSI DNA

No. Dokumen :

No. Revisi :

Halaman :

2/4

- RNase A
- Proteinase K
- Protein *precipitation solution*
- Isopropanol
- Ethanol 70%
- *Rehydration solution*
- Larutan Primer

E. Peralatan dan BMHP

1. Inkubator
2. *Spindown*
3. *Cool box*
4. Sentrifuge
5. Mikropipet 100 – 1000 uL
6. Mikropipet 100 – 200 uL
7. Mikropipet 10 – 100 uL
8. Mikropipet 1 – 10 uL
9. *Microtube* 2 mL
10. *Filter* tip biru
11. *Filter* tip kuning
12. *Filter* tip putih
13. Tisu

F. Langkah Kerja

1. Masukkan 900 uL *HMW Blood Lysis Buffer*, ditambahkan 300 uL spesimen darah.
2. Dihomogenisasi (bolak-balik) sebanyak 5-6 kali.
3. Inkubasi selama 10 menit pada suhu ruang, bolak-balik 2-3x (saat inkubasi).
4. Disentrifus dengan kecepatan 14.000 g selama 20 detik.
5. Setelah selesai, buang supernatan lalu tambahkan 100 uL PBS dan diresuspensi sebanyak 5 kali.
6. Tambahkan 500 uL *HMW Lysis Buffer A* dan dilakukan pipeting sebanyak 5 kali.
7. Tambahkan 3 uL larutan RNase A lalu dihomogenisasi (bolak-balik) 5-7 kali.
8. Inkubasi campuran pada inkubator dengan suhu 37°C selama 15 menit.

 Rumah Sakit Pusat Otak Nasional Prof. Dr. dr. Mahar Mardjono Jakarta	EKSTRAKSI DNA		
	No. Dokumen :	No. Revisi :	Halaman : 3/4
	9. Tambahkan 20 uL larutan Proteinase K lalu dihomogenisasi (bolak-balik) 10 kali. 10. Inkubasi campuran pada inkubator suhu 56°C selama 15 menit. 11. Dinginkan campuran pada <i>coolbox</i> yang berisi es batu selama 1 menit. 12. Tambahkan 200 uL protein <i>precipitation solution</i>, dilakukan pipetting sebanyak 5x lalu disentrifus dengan kecepatan 14.000 g selama 5 menit. 13. Transfer supernatan ke dalam <i>microtube</i> baru yang sudah diisi 600 uL isopropanol. 14. Homogenisasi dengan lembut larutan (bolak-balik) sebanyak 8 kali. Biarkan selama 1 menit dan ulangi inversi. Kemudian disentrifus dengan kecepatan 14.000 g selama 2 menit. 15. Buang supernatan, tambahkan 600 uL ethanol 70% lalu dihomogenisasi (bolak-balik) sebanyak 5 kali. Disentrifus dengan kecepatan 14.000 g selama 2 menit. 16. Buang supernatan lalu letakkan <i>tube</i> dengan posisi terbalik di atas tisu hingga sisa ethanol kering. 17. Tambahkan 25 uL dari DNA <i>rehydration solution</i> lalu dilakukan resuspensi larutan sebanyak 5x. 18. Inkubasi larutan pada suhu 65°C selama 1 jam. 19. Simpan spesimen yang sudah berisi DNA genomik pada freezer -80°C.		
UNIT TERKAIT	Instalasi Riset Neurosains Terapan Tim Hubs <i>Biomedical Genome-Based Science Initiative</i>		



Rumah Sakit
Pusat Otak Nasional
Prof. Dr. dr. Mahar
Mardjono Jakarta

EKSTRAKSI DNA

No. Dokumen :

No. Revisi :

Halaman :

4/4

ALUR EKSTRAKSI DNA

