

PETUNJUK PRAKTIKUM TEKNIK INSTRUMENTASI

Oleh:

Ainun Nikmati Laily, M.Si

Kholifah Holil, M.Si

dr. Tias Pramesti Griana

dr. Nurlaili Susanti, SKed



**JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI (UIN)
MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2014**

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI.....	1
Kata Pengantar.....	2
MIKROSKOP DAN PEMANFAATANNYA.....	3
DALAM PENGAMATAN SEL TUMBUHAN.....	3
MIKROSKOP DAN PEMANFAATANNYA.....	6
DALAM PENGAMATAN SEL HEWAN.....	6
TEKNIK PENGAMATAN KOMPONEN ABIOTIK DAN BIOTIK DALAM PENELITIAN EKOLOGI.....	10
DETEKSI ANTIGIZI PADA BERBAGAI BAHAN MAKANAN.....	13
UJI KADAR PIGMEN DAN KLOORIFIL YANG BERPERAN DALAM PROSES.....	16
PEMANFAATAN GREEN HOUSE.....	20
TEKNIK DASAR: PIPETTING DAN SENTRIFUGASI.....	22
TEKNIK PEMBUATAN GEL SEBAGAI AGEN DALAM PEMISAHAN DNA, RNA, DAN PROTEIN.....	25
TEKNIK STERILISASI BASAH DALAM KULTUR JARINGAN DENGAN MENGGUNAKAN AUTOKLAF.....	28
UJI HASIL STERILISASI BASAH DENGAN MENGGUNAKAN AUTOKLAF DALAM PERKECAMBAHAN KULTUR JARINGAN TUMBUHAN.....	31
PEMBUATAN MEDIA PERTUMBUHAN MIKROBA.....	34
ISOLASI TELUR PARASIT PADA SAYURAN DAN FESES HEWAN.....	38
TEKNIK PERLAKUAN PADA HEWAN COBA.....	42
PENGENALAN BAHAN DAN BAHAN.....	47
UJI BOKIMIA : ANALISIS PROTEIN METODE BIURET.....	49
FISIOLOGI HEWAN.....	50

Kata Pengantar

Assalamualaikum wr.wb.

Puji syukur kami panjatkan kepada Allah SWT karena kami dapat membuat suatu karya baru, yaitu panduan teknik instrumentasi. Meskipun karya ini merupakan karya yang sangat sederhana, tetapi dalam penyusunannya membutuhkan waktu dan pikiran yang cukup menyita. Kami berharap apa yang kami tuangkan dalam buku panduan ini bukanlah suatu akhir dari keinginan kami, tetapi menjadi awal dari cita-cita kami untuk lebih mengembangkan cara pengajaran yang dapat bermanfaat dan memiliki retensi yang lebih lama bagi mahasiswa.

Teknik Instrumentasi merupakan mata kuliah yang bertujuan untuk memberikan pemahaman awal kepada mahasiswa tentang alat-alat/instrument serta metode yang biasa digunakan didalam laboratorium di jurusan Biologi. Buku panduan ini berisi praktikum teknik instrumentasi yang biasa digunakan dalam laboratorium. Hal ini diberikan karena kemampuan menggunakan alat dan melakukan pekerjaan di dalam laboratorium merupakan skill dasar yang harus dimiliki oleh mahasiswa Biologi. Sehingga nantinya saat melaksanakan penelitian skripsi maupun setelah memasuki dunia kerja, mahasiswa Biologi akan lebih terampil dalam melakukan perannya dilaboratorium.

Didalam buku panduan ini akan diulas salah satu topik saja dari setiap laboratorium mikrobiologi, parasitologi dan hewan coba. Topik yang diulas merupakan topik awal yang akan menjadi stimulus untuk mahasiswa dalam mendalami kemampuan melakukan pekerjaan didalam laboratorium. Semoga ilmu yang sedikit ini memberikan manfaat dan akan terus berguna untuk selanjutnya.

Wassalamualaikum wr. wb.

Malang, 27 Februari 2014

Tim Penyusun

MIKROSKOP DAN PEMANFAATANNYA DALAM PENGAMATAN SEL TUMBUHAN

Oleh: Ainun Nikmati Laily, M.Si.

A. Pendahuluan

Laboratorium optik merupakan salah satu laboratorium biologi yang khusus menyediakan alat berlensa. Mikroskop merupakan salah satu alat berlensa yang keberadaannya memberikan kontribusi penting dalam penemuan mikroorganisme. Dalam hal ini ilmu yang mempelajari benda kecil dengan menggunakan mikroskop disebut mikroskopi sedangkan kata mikroskopik berarti sangat kecil, tidak mudah terlihat oleh mata.

Seiring kemajuan teknologi telah tersedia mikroskop yang terhubung dengan komputer, disebut sebagai mikroskop-komputer. Mikroskop-komputer memiliki kelebihan dalam hal perbesaran, resolusi gambar, dan *out put* berupa *soft file*. Pengamatan dengan menggunakan mikroskop-komputer memungkinkan pengamatan makhluk hidup dengan hasil lebih detail.

Pemanfaatan mikroskop di laboratorium optik berkaitan dengan fungsi pentingnya dalam kegiatan pengamatan sel. Sel memiliki ukuran yang sangat bervariasi, tergantung pada tipe sel. Pada umumnya, sel hanya dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop dengan sedikit pengecualian seperti sel telur pada burung unta yang memiliki diameter hingga beberapa cm. Mata manusia tidak mampu memisahkan dua titik yang dipisahkan kurang dari 0,1 mm atau [100 nm](#). Sementara itu, umumnya sel memiliki ukuran yang lebih kecil dari 0,1 mm. Untuk memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja mikroskop sebagaimana dijelaskan di atas maka dalam praktikum ini menggunakan preparat tumbuhan dengan cara membuat sendiri dengan menggunakan teknik pembuatan preparat yang sederhana dan mudah dipahami.

B. Tujuan

1. Memahami teknik pembuatan preparat sel tumbuhan dan sel hewan untuk pengamatan dengan menggunakan mikroskop
2. Memahami teknik penggunaan dan memahami prinsip kerja mikroskop
3. Memahami teknik penggunaan dan memahami prinsip kerja mikroskop-komputer
4. Menentukan ukuran sel-sel yang diamati

C. Alat dan Bahan

1. Mikroskop
2. Mikroskop-komputer
3. Kaca objek dan penutupnya
4. Mikrometer
5. Preparat sel tumbuhan (*Rhoe discolor*)
6. Tissue

D. Cara Kerja

1. Membuat preparat sel tumbuhan untuk pengamatan stomata
 - a. Membuat sayatan pada epidermis bawah daun *Rhoe discolor*.
 - b. Mengambil bagian transparan berupa selaput sel tipis dengan menggunakan silet.
 - c. Meletakkannya pada pada kaca preparat, kemudian menutup dengan kaca penutup.
2. Melakukan standar operasional prosedur penggunaan mikroskop.
3. Amati tiap-tiap preparat yang telah disediakan menggunakan lensa mikroskop dari mulai perbesaran yang paling rendah sampai mendapatkan fokus pengamatan satu sel.
4. Buat gambar dan catat hasil pengamatan pada lembar pengamatan.
5. Lakukan pengukuran menggunakan micrometer, tentukan ukuran sel-sel yang diamati dengan cara sebagai berikut.
 - a. Kalibrasi :
 - i. Letakkan mikrometer objektif pada meja benda dan pasang mikrometer okuler pada tabung lensa okuler.
 - ii. Tentukan perbesaran yang digunakan, (misalnya 40 X 10) kemudian cari gambar perbesaran dari skala mikrometer objektif.
 - iii. Setelah fokus didapat, kemudian selanjutnya himpitkan skala ke nol mikrometer objektif dan okuler.
 - iv. Cari dengan teliti skala ke berapa antara mikrometer objektif dan okuler yang berhimpit lagi.
 - v. Hitung besarnya skala okuler dengan rumus.
 - b. Penentuan ukuran mikroba
 - i. Lepaskan mikrometer objektif dari meja benda.
 - ii. Ganti dengan preparat ulas yang telah disiapkan
 - iii. Cari fokus dari preparat tersebut dengan perbesaran yang sama.
 - iv. Hitung berapa panjang sel dengan menghitung skala mikrometer okuler.
 5. Jika diperlukan hitung lebar sel dengan cara yang sama. Tabung lensa okuler dapat diputar dan dicari posisi yang pas.
 - v. Hitung panjang dan lebar sel sebenarnya :
x skala okuler X hasil kalibrasi
y skala okuler X hasil kalibrasi
misal : $5 \times 1,54 = 7,7 \mu\text{m}$
 $2 \times 1,54 = 3,08 \mu\text{m}$
6. Melakukan standar operasional prosedur penggunaan mikroskop-komputer.
7. Ulangi pengamatan preparat dengan menggunakan mikroskop yang telah terinstal dengan kamera dan komputer serta terhubung dengan data proyektor.
8. Dokumentasikan hasil pengamatan menggunakan mikroskop-komputer dalam bentuk *soft file*.

E. Data Pengamatan

No	Gambar Pengamatan	Keterangan Gambar	Ukuran Sel

F. Bahan Diskusi

1. Mengapa diambil sayatan epidermis bawah daun *Zingiber officinale*?
2. Terangkan jumlah sel tetangga yang mengelilingi sel penutup pada stomata daun *Zingiber officinale*!
3. Berapakah ukuran sel epidermis bawah daun *Zingiber officinale*?

MIKROSKOP DAN PEMANFAATANNYA DALAM PENGAMATAN SEL HEWAN

Oleh: Kholifah Holil, M.Si.

A. Pendahuluan

Adanya keterbatasan kemampuan mata manusia untuk melihat obyek yang berukuran kecil membuka peluang untuk menggunakan alat bantu yang dapat mengatasi hal tersebut. Mikroskop merupakan pilihan yang tepat untuk mengatasi permasalahan di atas. Dengan adanya mikroskop memungkinkan untuk dapat melihat benda-benda kecil yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang.

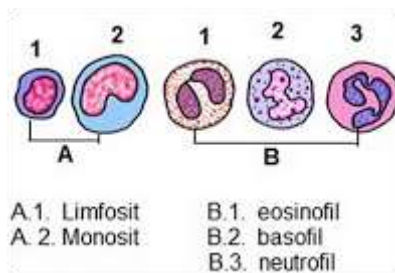
Mikroskop terdiri dari berbagai macam. Salah satunya adalah mikroskop medan terang. Mikroskop jenis ini adalah mikroskop dengan medan yang mengelilingi spesimen akan kelihatan terang (berwarna cerah). Sedangkan spesimennya memperlihatkan warna lebih gelap. Mikroskop yang lain adalah mikroskop fase kontras, mikroskop konfokal, mikroskop inverted, dan lain-lain.

Secara umum mikroskop dapat dibagi menjadi 2 bagian yaitu bagian mekanik dan bagian optic. Bagian mekanik terdiri dari statif, tubus, revolver, meja benda, sekerup pengatur kasar (makrometer), sekerup pengatur halus (mikrometer), dan pengatur pentas mekanik. Sedangkan bagian optic terdiri dari lensa okuler, lensa obyektif, kondensor, dan cermin pengatur cahaya dan lain-lain.

Bagian-bagian yang ada di dalam mikroskop tersebut memiliki fungsi yang berbeda-beda. Akan tetapi bagian utama yang berperan dalam menghasilkan bayangan sehingga obyek yang diamati dapat terlihat adalah lensa obyektif dan lensa okuler. Lensa obyektif adalah lensa yang berada dekat dengan obyek yang diamati dan menghasilkan bayangan yang bersifat nyata, tegak, diperkecil. Sedangkan lensa okuler adalah lensa yang berada dekat dengan mata pengamat. Lensa ini mampu menghasilkan bayangan yang bersifat maya, terbalik, dan diperbesar. Kemampuan kedua lensa tersebut memungkinkan mikroskop untuk digunakan sebagai alat untuk mengamati obyek apapun yang berukuran kecil.

Salah satu sel yang dapat dilihat dengan menggunakan mikroskop adalah sel-sel yang menyusun darah. Sel-sel tersebut adalah sel darah merah (eritrosit) dan sel darah putih (leukosit). Sel darah merah atau eritrosit di bawah mikroskop akan memperlihatkan ciri-ciri yaitu tidak mempunyai inti dan pada manusia berbentuk bikonkav sehingga menyebabkan permukaannya terlihat lebih luas. Sedangkan sel darah putih (leukosit) akan memperlihatkan bentuk inti tidak teratur dan dalam sitoplasma terdapat granula spesifik yang dinamakan neutrofil, eosinofil, dan basofil. Neutrofil memiliki satu inti dengan 2-5 lobus yang berbentuk sosis (biasanya 3 lobus) yang satu sama lain dikaitkan oleh benang-benang halus kromatin. Eosinofil memiliki inti yang berlobus dua. Sedangkan basofil memiliki satu inti yang besar dengan bentuk

pilinan ireguler, umumnya dalam bentuk huruf S, sitoplasma mengandung granula yang lebih besar dari granulosit lainnya dan seringkali granula menutupi inti. Leukosit dengan ciri tersebut digolongkan dalam leukosit kelompok granulosit. Sementara itu leukosit yang memiliki ciri memiliki inti dengan bentuk teratur dan dalam sitoplasmanya tidak mengandung granula spesifik dikenal dengan leukosit kelompok agranulosit. Contoh agranulosit adalah limfosit dan monosit. Limfosit merupakan sel sferis dengan ciri inti sferis dengan kromatin padat sehingga kadang-kadang tampak gelap, sitoplasma kecildan kadang tampak sebagai lingkaran kecil di sekitar inti. Sedangkan monosit memiliki cirri inti oval, berbentuk kaki kuda, atau berbentuk ginjal, kromatin kurang padat sehingga inti kan terwarnai lebih muda dibandingkan dengan inti limfosit. Inti monosit biasanya mengandung 2 atau 3 anak inti.



Gambar 1. Jenis-jenis Leukosit

B. Tujuan

1. Memahami bagian-bagian dan prinsip kerja dari mikroskop.
2. Memahami teknik penggunaan mikroskop.
3. Memahami teknik menyediakan prepat hewan (prepat darah/apus darah) sebagai bahan untuk pengamatan di bawah mikroskop.

C. Alat dan Bahan

Mikroskop	Paper Lens
Immersion Oil	Benzene
Darah manusia	Kaca benda
Kaca Penutup	Mikroskop
Lancet	Alkohol Absolut
Pewarna Giemsa 3%	Xylo
Entellan	Tissue
Metanol	Asam asetat glasial

D. Cara Kerja

1. Mikroskop

- a. Amati bagian-bagian mikroskop yang tersedia di meja saudara. Gambar bagian-bagian yang sudah saudara amati.
- b. Telaah fungsi dari bagian-bagian mikroskop yang sudah saudara amati. Pastikan hasil menelaah fungsi dari bagian-bagian mikroskop tersebut dengan cara menguji fungsi tersebut secara langsung pada bagian mikroskop yang sudah saudara telaah. Catat hasil telaah saudara pada table data pengamatan.
- c. Lakukan hal yang sama dengan menggunakan mikroskop-komputer yang tersedia di Laboratorium Optik.

2. Teknik Pembuatan Preparat Darah/Apus Darah

- a) Siapkan kaca benda yang bersih dengan merendam kaca benda yang ada menggunakan methanol yang ditetesi dengan asam asetat glacial. Biarkan rendaman tersebut di dalam lemari es selama semalaman atau sampai saat digunakan.
- b) Teteskan darah pada kaca benda agak ke tepi, letakkan kaca benda yang satu dengan posisi miring, geser ke arah berlawanan setipis mungkin.
- c) Keringkan (agar darah menempel pada kaca benda).
- d) Tetesi kaca benda dengan alkohol 100% atau dengan menggunakan metanol, biarkan selama 10 menit (usahakan kaca benda jangan sampai kering).
- e) Celupkan dalam pewarna giemsa, biarkan selama 45 menit. Keringkan.
- f) Amati di bawah mikroskop apakah warna yang digunakan sudah cukup atau belum.
- g) Cuci dengan aquades atau air mengalir. Lakukan sambil membersihkan bagian belakang preparat dengan cara mengosoknya dengan jari di bawah air mengalir, amati kembali warna yang terbentuk di bawah mikroskop.
- h) Dehidrasi dengan alcohol 70%, 80%, 100%, 100% dengan cara hanya membilaskannya pada preparat yang mau dibuat.
- i) Lakukan hal yang sama (point g) pada campuran alcohol:xylol (3:1, 1:1, 1:3).
- j) Tetesi dengan xylol, biarkan selama 5 menit. Keringkan.
- k) Amati di bawah mikroskop dan pilih area yang akan ditutup dengan cara menandai pada bagian pinggir dari kaca benda.
- l) Tetesi kembali dengan xylol secukupnya (jaga jangan sampai kering), beri entellan dan langsung tutup dengan kaca penutup. Biarkan mengering dan beri label.
- m) Amati di bawah mikroskop dengan menggunakan berbagai perbesaran. Lakukan pengamatan terhadap bentuk sel dan ukuran sel yang ditemukan pada preparat tersebut dan identifikasi termasuk jenis sel apa (eritrosit, neutrofil, eosinofil, basofil, limfosit, dan monosit). Catat

dan gambar hasil pengamatan saudara pada table data pengamatan. Jika diperlukan untuk memperjelas pengamatan saudara, gunakan immersion oil dan bersihkan lensa yang digunakan dengan paper lens yang telah ditetesi benzene.

- n) Lakukan pengamatan di atas dengan menggunakan mikroskop biasa dan mikroskop-komputer yang tersedia di Laboratorium Optik.

E. Data Pengamatan

1. Mikroskop

No	Gambar Pengamatan	Keterangan Gambar	Jenis Bagian (Mekanik/Optik)	Fungsi	Letak

2. Teknik Pembuatan Preparat Darah/Apus Darah

No	Gambar Pengamatan Berupa Jenis Sel Yang Ditemukan	Keterangan Gambar Jenis Sel Yang Ditemukan	Ukuran Sel Yang Ditemukan

F. Bahan Diskusi

1. Berdasarkan hasil pengamatan saudara pada bagian-bagian mikroskop yang sudah saudara kaji bagian manakah yang berfungsi sebagai bagian utama dan bagian pendukung dan mengapa demikian?
2. Faktor-faktor apa sajakah yang mempengaruhi pengamatan saudara di bawah mikroskop?
3. Apakah ada perbedaan hasil pengamatan pada sel hewan yang diamati dengan mikroskop biasa dan dengan mikroskop-komputer. Mengapa demikian?
4. Apa kesulitan yang saudara temui pada saat menyediakan preparat darah/apus darah untuk pengamatan di bawah mikroskop? Mengapa demikian?
5. Bagaimana cara saudara mengatasi permasalahan pada nomer 4 di atas?

TEKNIK PENGAMATAN KOMPONEN ABIOTIK DAN BIOTIK DALAM PENELITIAN EKOLOGI

Oleh: Ainun Nikmati Laily, M.Si.

A. Pendahuluan

Ekosistem adalah tatanan kesatuan secara utuh menyeluruh antara segenap unsur lingkungan yang hidup yang saling memengaruhi. Di dalam ekosistem terdapat makhluk hidup dan lingkungannya. Makhluk hidup disebut biotik yang meliputi manusia, hewan, dan tumbuhan. Sedangkan lingkungan disebut abiotik, meliputi cahaya, tanah, air, dan udara. Ekologi merupakan ilmu yang mempelajari ekosistem. Pembahasan ekologi tidak lepas dari pembahasan ekosistem dengan berbagai komponen penyusunnya, yaitu abiotik dan biotik.

Ekosistem berada di atas komunitas dalam hierarki kehidupan. Ekosistem merupakan kesatuan dari komunitas dengan lingkungannya. Untuk mendapatkan energy dan materi yang diperlukan untuk kehidupannya semua komunitas bergantung pada lingkungan abiotik (Zoer'aini, 2007). Faktor abiotik sangat berpengaruh terhadap faktor biotik. Sebagai contoh, agar dapat menumbuhkan tanaman secara baik, maka kita harus memperhatikan kondisi tanah, yaitu memperhatikan faktor abiotik dari tanah seperti kelembabab tanah, bobot isi tanah, pH tanah, kandungan organik dan anorganik (mineral) tanah. Kondisi tanah tidak hanya dipengaruhi oleh faktor-faktor abiotik tanah. Intensitas cahaya dan temperature udara turut mempengaruhi kondisi tanah. Kandungan air dalam tanah juga mempengaruhi tingkat kesuburan tanah.

Untuk mengetahui faktor-faktor abiotik, kita harus melakukan pengukuran yang meliputi aspek fisika dan kimia dari lingkungan. Saat ini telah dikembangkan banyak model alat yang dapat dimanfaatkan untuk mengukur faktor-faktor abiotik. Dengan demikian praktikum ini memiliki tujuan utama untuk mewadahi proses belajar mahasiswa dalam memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja alat-alat mengukur faktor-faktor abiotik.

B. Tujuan

1. Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja termohigrometer
2. Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja anemometer
3. Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja luxs-meter
4. Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja pH meter
5. Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja plankton net
6. Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja water sampler

C. Alat dan Bahan

- | | |
|--|---|
| <p>A. Percobaan Komunitas Plot</p> <ol style="list-style-type: none">1. Patok2. Tali rafia3. Patok4. Termohigrometer5. Meteran6. Lux meter7. Buku identifikasi species | <p>B. Percobaan Analisis Plankton</p> <ol style="list-style-type: none">1. Plankton net2. Water sampler3. Pipet tetes4. Mikroskop5. Flakon6. SRCC (Sedwick Rafter Counting Cell)7. Kaca preparat dan kaca penutupnya.8. Air sungai9. Formalin 4%10. Kertas label11. Buku identifikasi plankton) |
|--|---|

D. Cara Kerja

A. Percobaan Komunitas Plot

1. Melakukan sampling dengan membuat plot dengan ukuran 1 X 1 meter.
Pengambilan sampling ini dengan cara membuat kuadrat pada area yang telah ditentukan dan penempatan letak kuadrat/plot dilakukan secara acak.
2. Mengukur faktor-faktor yang mempengaruhi dari populasi hewan dan tumbuhan baik faktor biotik maupun abiotik dengan menggunakan termohigrometer dan lux meter dalam plot tersebut.
3. Mengamati dan mencatat macam species dan jumlah dari tiap-tiap species yang ada dalam plot.
4. Mentabulasikan seluruh data dari semua kelompok.

B. Percobaan Analisis Plankton

1. Kegiatan di lapangan
 - a. Mendatangi lokasi pengamatan yang ditentukan, yaitu setiap lokasi ditentukan tiga stasiun pengamatan, dan setiap stasiun dengan empat titik perulangan.
 - b. Diambil air sampel sejumlah 5 liter pada kedalaman minimal satu meter dengan menggunakan water sampler.
 - c. Air dalam water sampler dituang sedikit demi sedikit ke dalam plankton net yang tertutup. Air yang tersaring terakhir dalam plankton net dituang ke dalam 1 botol flakon.
 - d. Setiap air sampel dalam flakon ditetesi dengan empat tetes formalin 4% untuk menonaktifkan kegiatan plankton.
 - e. Setiap flakon diberi label lokasi, nomor stasiun, dan nomor titik.
 - f. Melakukan hal yang sama untuk lokasi dan stasiun yang lain.

2. Kegiatan di laboratorium

1. Masing-masing air sampel dalam flakon dibawa ke laboratorium untuk identifikasi plankton.
2. Botol flakon digoyang sehingga air sampel tercampur homogeny.
3. Air sampel diambil dengan menggunakan pipet tetes kemudian ditetaskan secara merata di permukaan SRCC.
4. SRCC ditutup dengan kaca penutup yang sudah dibersihkan.
5. SRCC diletakkan di bawah mikroskop untuk diambil planktonnya dengan cara total strip counting, yaitu pengamatan dari sudut baris pertama atas kiri secara horizontal ke arah kanan, kemudian diamati baris kedua, dan seterusnya.
6. Menggambar setiap plankton yang terlihat.
7. Melakukan pengambilan air sampel 3 kali pengamatan setiap flakon.
8. Mengidentifikasi plankton yang ditemukan dengan menggunakan buku identifikasi.
9. Menghitung jumlah plankton. Mentabulasikan seluruh data dari semua kelompok

E. Data Pengamatan

1. Percobaan Komunitas Plot

Plot	Faktor Abiotik yang ditemukan	Faktor Biotik (lengkapi dengan nama dan jumlah) yang ditemukan

2. Percobaan Analisis Plankton

Stasiun	Jenis Plankton yang ditemukan	Jumlah

F. Bahan Diskusi

1. Jika tidak tersedia SRCC di laboratorium, adakah alat lain yang dapat dimanfaatkan dalam analisis plankton?Jelaskan!
2. Apakah sama teknik pengambilan sampel untuk fitoplankton dan zooplankton? Jelaskan.

DETEKSI ANTIGIZI PADA BERBAGAI BAHAN MAKANAN

Oleh: Kholifah Holil, M.Si.

A. Pendahuluan

Manusia adalah salah satu makhluk hidup yang tidak mampu menyusun makanan sendiri untuk kepentingan hidupnya. Untuk kepentingan tersebut manusia membutuhkan makanan yang didapat dari organisme lain untuk kemudian dirombak menjadi yang lebih sederhana yang dapat dimanfaatkan langsung oleh sel. Bahan makanan yang dibutuhkan oleh sel adalah bahan makanan yang dapat berupa karbohidrat, protein, lemak, vitamin, dan lain-lain. Akan tetapi karena manusia terbiasa mengkonsumsi jenis makanan yang bervariasi maka kadang-kadang kehadiran zat anti gizi di dalam bahan makanan secara sengaja maupun tidak sengaja terikut pada bahan makanan yang dikonsumsi dan itu dapat membahayakan tubuh. Pada jangka waktu tertentu zat-zat anti gizi tersebut dapat menjadi pemicu berbagai penyakit yang diderita diantaranya bisa menyebabkan keracunan, kanker, dan disfungsi organ yang lain. Oleh karena itu pemahaman terhadap zat anti gizi pada bahan makanan penting untuk diketahui. Ada beberapa zat anti gizi yang tanpa sengaja atau disengaja dikonsumsi. Dua zat anti gizi yang mungkin dikonsumsi tersebut adalah sakarin yang umum terdapat dalam makanan seperti sirup dan nikotin ($C_{10}H_{14}N_2$, Berat Molekul 162.23) yang umum terdapat dalam tembakau yang menjadi bahan dalam pembuatan rokok.

Laboratorium Biokimia adalah salah satu laboratorium yang dapat digunakan untuk mendeteksi keberadaan zat anti gizi pada berbagai bahan makanan. Dengan menggunakan metode yang sederhana maka metode tersebut diharapkan dapat digunakan untuk diaplikasikan dalam kehidupan sehari-hari sehingga adanya zat anti gizi yang terikut dapat ditangani lebih awal.

B. Tujuan

1. Memahami teknik mendeteksi adanya anti gizi pada bahan makanan.
2. Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja alat yang digunakan untuk mendeteksi anti gizi pada bahan makanan.
3. Mengetahui keberadaan anti gizi pada bahan makanan

C. Alat dan Bahan

7. Sampel makanan
8. Rokok berbagai merk
9. Tabung reaksi/erlenmeyer/beaker glass
10. Hot plate
11. Waterbath
12. Aluminium Foil
13. Alat titrasi
14. Tissue

15. Mortal Martil
16. Ferri klorida 1N
17. NaOH
18. NaOH 20%
19. Petroleum eter
20. Methyl Red
21. HCl 0.01N

D. Cara Kerja

9. Uji zat pemanis buatan (sakarín) secara kualitatif
 - a. Timbang 100 mg sampel masukkan ke dalam tabung reaksi/Erlenmeyer/beaker glass.
 - b. Larutkan dalam 5 ml NaOH (1:20). Uapkan sampai kering di atas api kecil secara hati-hati atau dapat juga menggunakan waterbath atau bisa juga dilakukan dengan menggunakan hotplate dengan pemanasan suhu rendah.
 - c. Setelah residu dingin, larutkan dalam 2 ml HCl encer (13%).
 - d. Tambahkan setetes ferri klorida 1N (9 g $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ yang dilarutkan dalam aquades sampai 100ml). Apabila larutan berwarna violet berarti ada asam salisilat yang terbentuk dari sakarin.

10. Uji Nikotin
 - a. Masukkan 1 g bahan yang sudah dihaluskan (berupa tepung) ke dalam Erlenmeyer 50 ml.
 - b. Tambahkan 1 ml larutan NaOH 20% dan aduk sampai rata.
 - c. Tambahkan 20 ml petroleum eter dan tutup rapat. Kocok sampai merata dengan cara menekan tutupnya agar tidak lepas. Diamkan selama 24 jam hingga bagian atas (eter) menjadi jernih.
 - d. Ambil 10 ml cairan eter dan pindahkan ke dalam erlenmeyer lain yang bersih.
 - e. Uapkan di atas waterbath sampai cairan tersisa menjadi 2 ml (kurang lebih 2 menit).
 - f. Tambahkan aquades 10 ml dan 2 tetes indikator methyl red.
 - g. Titrasilah dengan 0.01N HCl sehingga warna hijau kekuningan berubah menjadi merah muda.

Perhitungan:

1 ml HCl 0.01N = 1.6223 mg nikotin.

Apabila normalitas larutan HCl = N, maka dalam 1 ml HCl = $N/0.01 \times 1.6223 \text{ mg}$

E. Data Pengamatan

No	Sampel	Hasil Uji zat pemanis buatan (sakarín)	Hasil Uji Nikotin (kadar nikotin)

F. Bahan Diskusi

1. Jelaskan prinsip kerja alat-alat yang saudara gunakan dalam praktikum di atas.
2. Faktor-faktor apa sajakah yang menentukan keberhasilan pada praktikum yang saudara lakukan.
3. Pada praktikum uji sakarin pada bahan makan apa hasil yang saudara dapat. Mengapa demikian?
4. Apa yang bisa saudara simpulkan dari praktikum uji nikotin pada berbagai sampel yang saudara uji?

UJI KADAR PIGMEN DAN KLOROFIL YANG BERPERAN DALAM PROSES FOTOSINTESIS DENGAN MENGGUNAKAN SPEKTROFOTOMETER

Oleh: Ainun Nikmati Laily, M.Si.

A. Pendahuluan

Klorofil adalah pigmen hijau fotosintetis yang terdapat dalam tanaman, Algae dan Cynobacteria. Nama "chlorophyll" berasal dari bahasa Yunani kuno *chloros*= green (hijau), and *phyllon*= leaf (daun). Fungsi klorofil pada tanaman adalah menyerap energi dari sinar matahari untuk digunakan dalam proses fotosintetis yaitu suatu proses biokimia dimana tanaman mensintesis karbohidrat (gula menjadi pati), dari gas karbon dioksida dan air dengan bantuan sinar matahari (Subandi, 2008).

Warna daun berasal dari klorofil, pigmen warna hijau yang terdapat di dalam kloroplas. Energi cahaya yang diserap klorofil inilah yang menggerakkan sintesis molekul makanan dalam kloroplas. Kloroplas ditemukan terutama dalam sel mesofil, yaitu jaringan yang terdapat di bagian dalam daun. Karbon dioksida masuk ke dalam daun, dan oksigen keluar, melalui pori mikroskopik yang di sebut stomata (Campbell, dkk., 2002).

Semua tanaman hijau mengandung klorofil a dan klorofil b. Klorofil a terdapat sekitar 75 % dari total klorofil. Kandungan klorofil pada tanaman adalah sekitar 1% basis kering. Dalam daun klorofil banyak terdapat bersama-sama dengan protein dan lemak yang bergabung satu dengan yang lain. Dengan lipid, klorofil berikatan melalui gugus fitol-nya sedangkan dengan protein melalui gugus hidrofobik dari cincin porifin-nya. Rumus empiris klorofil adalah $C_{55}H_{72}O_5N_4Mg$ (klorofil a) dan $C_{55}H_{70}O_6N_4Mg$ (klorofil b) (Subandi, 2008).

Daun dari kebanyakan spesies menyerap lebih dari 90 % cahaya ungu dan biru, demikian pula untuk cahaya jingga dan merah. Hampir seluruh penyerapan ini dilakukan oleh pigmen-pigmen pada kloroplas. Pada membran tilakoid, setiap foton dapat mengeksitasi satu elektron dari pigmen karotenoid atau klorofil. Klorofil berwarna hijau merupakan bukti bahwa pigmen ini tidak efektif untuk menyerap cahaya hijau. Cahaya hijau oleh klorofil dipantulkan atau diteruskan (Lakitan, 2007).

Spektrofotometri sesuai dengan namanya adalah alat yang terdiri dari spektrofotometer dan fotometer akan menghasilkan sinar dari spektrum dengan panjang gelombang energi secara relatif. Jika energi tersebut ditransmisikan maka akan ditangkap oleh klorofil yang terlarut tersebut. Pada fotometer filter sinar dari panjang gelombang yang diinginkan akan diperoleh dengan berbagai filter yang punya spesifikasi melewati banyaknya panjang gelombang tertentu (Noggle dan Fritz, 1979).

Nama pigmen	Warna Klorofil
Klorofil a	Kuning - Hijau
Klorofil b	Blue - Green

Karotin	Jeruk
Xanthophyll	Kuning

Praktikum ini memiliki tujuan utama yaitu untuk mempelajari metode kromatografi kertas pada pemisahan pigmen fotosintesis dan memberikan latihan cara penggunaan spektrofotometer pada pengukuran kadar klorofil

B. Tujuan

Mengetahui pigmen yang berperan pada proses fotosintesis dan mengukur kadar klorofil dengan spektrofotometer.

C. Alat dan Bahan

1. Percobaan pemisahan pigmen fotosintesis dengan metode kromatografi kertas
 - a. Mortar dan penggerusnya
 - b. Cawan petri
 - c. Jepitan kertas
 - d. Statif
 - e. Silet
 - f. Benang
 - g. Alkohol 95%
 - h. Kertas saring (ukuran 3 x 15 cm)
 - i. Daun yang berwarna hijau, merah, dan kuning

2. Percobaan pengukuran kadar klorofil dengan menggunakan spektrofotometer.
 - a. Mortar beserta penggerusnya
 - b. Labu ukur 100 ml
 - c. Tabung cuvet
 - d. Corong Buchner
 - e. Kertas saring
 - f. Spektrofotometer
 - g. Alkohol 95 %
 - h. Daun berwarna hijau

D. Cara Kerja

1. Percobaan pemisahan pigmen fotosintesis dengan metode kromatografi kertas
 - a. Mengambil 5 gram daun dan kemudian menggerusnya dalam mortar dengan dituangi 25 ml alkohol 95% atau etanol sampai seluruh klorofil terlarut dalam alkohol. Ekstrak akan terlihat berwarna hijau.
 - b. Membiarkan ekstrak beberapa menit sampai ampasnya mengendap.
 - c. Menuangkan cairan ekstrak kedalam cawan petri dan memberi tanda pada cawan petri sesuai spesies daun yang digerus.

- d. Mengambil kertas saring yang telah di sediakan kemudian menjepit salah satu ujungnya dengan menggunakan penjepit dan menggantungkannya pada benang yang telah diikatkan ke statif.
 - e. Menceleupkan ujung yang lain dari kertas saring tersebut ke dalam larutan gerusan daun pada cawan petri.
 - f. Setelah dicelupkan, biarkan kertas saring menggantung beberapa lama sampai terlihat pemisahan pigmen yang terkandung di dalamnya.
 - g. Mengamati beberapa macam pigmen yang diperoleh dalam ekstrak tersebut, menggambar dan mencatat hasil (paling sedikit akan diperoleh 3 macam pigmen yaitu klorofil jenis a yang berwarna hijau muda, klorofil b berwarna hijau tua dan karotinoid yang berwarna kuning sampai jingga).
2. Percobaan pengukuran kadar klorofil dengan menggunakan spektrofotometer.
- a. Mengambil daun segar berwarna hijau. Kemudian ditimbang daun tersebut untuk mendapatkan 1 gram, kemudian dipotong kecil-kecil. Potongan-potongan ini kemudian di ekstrak dengan alkohol 95%, yaitu dengan cara menggerusnya dengan menggunakan mortar sampai seluruh klorofil larut (ditandai dengan adanya ampas daun yang berwarna putih)
 - b. Menyaring ekstrak klorofil ini dengan saringan Buchner dan selanjutnya memasukkannya kedalam labu ukur 100 ml. *Jika volume ekstrak belum mencapai 100 ml maka tambahkan lagi alkohol hingga volume 100 ml.
 - c. Mengukur OD (optical density) larutan ekstrak dengan menggunakan cuvet dengan panjang gelombang 649 dan 665.
 - d. Kadar klorofil a dan b dapat dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\begin{aligned}
 \text{Klorofil total (mg/l)} &= (20,0 \times \text{OD}_{649}) + (6,1 \times \text{OD}_{665}) \\
 \text{Klorofil a (mg/l)} &= (13,7 \times \text{OD}_{665}) - (5,76 \times \text{OD}_{649}) \\
 \text{Klorofil b (mg/l)} &= (25,8 \times \text{OD}_{649}) - (7,7 \times \text{OD}_{665})
 \end{aligned}$$

Rumus di atas diturunkan oleh (Winstermans & Mots, 1995)

E. Data Pengamatan

3. Percobaan pemisahan pigmen fotosintesis dengan metode kromatografi kertas

No	Sampel	Jenis pigmen yang ditemukan

4. Percobaan pengukuran kadar klorofil dengan menggunakan spektrofotometer

No	Sampel	Klorofil total	Klorofil a	Klorofil b

F. Bahan Diskusi

1. Apa fungsi dari alkohol 95% atau etanol pada percobaan?
2. Apakah ada perbedaan jumlah dan lebar pita-pita yang dihasilkan kromatografi? Mengapa?
3. Dari hasil kromatografi daun hijau ternyata ada yang menghasilkan pigmen selain warna hijau? Mengapa?
Apakah kandungan klorofil dalam tiap daun sama? Jelaskan!

PEMANFAATAN GREEN HOUSE

Oleh: Ainun Nikmati Laily, M.Si.

A. Pendahuluan

Penggunaan *greenhouse* dalam budidaya tanaman merupakan salah satu cara untuk memberikan lingkungan yang lebih mendekati kondisi optimum bagi pertumbuhan tanaman. *Greenhouse* dikembangkan pertama kali dan umum digunakan di kawasan yang beriklim subtropika. Penggunaan *greenhouse* terutama ditujukan untuk melindungi tanaman dari suhu udara yang terlalu rendah pada musim dingin. Nelson (1978) mendefinisikan *greenhouse* sebagai suatu bangunan untuk budidaya tanaman, yang memiliki struktur atap dan dinding yang bersifat tembus cahaya. Cahaya yang dibutuhkan oleh tanaman dapat masuk ke dalam *greenhouse* sedangkan tanaman terhindar dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan, yaitu suhu udara yang terlalu rendah, curah hujan yang terlalu tinggi, dan tiupan angin yang terlalu kencang.

Di dalam *greenhouse*, parameter lingkungan yang berpengaruh terhadap pertumbuhan tanaman, yang meliputi cahaya matahari, suhu udara, kelembaban udara, pasokan nutrisi, kecepatan angin, dan konsentrasi karbondioksida dapat dikendalikan dengan lebih mudah. Penggunaan *greenhouse* memungkinkan dilakukannya modifikasi lingkungan yang tidak sesuai bagi pertumbuhan tanaman menjadi lebih mendekati kondisi optimum bagi pertumbuhan tanaman. Dengan demikian, praktikum ini akan menambah pengetahuan siswa mengenai teknik, peralatan, dan bahan bercocok tanam species-species tanaman familia tertentu di *greenhouse*.

B. Tujuan

Memahami teknik penanaman dan perawatan spesies tanaman pada media tanam tertentu di *greenhouse*

C. Alat dan Bahan

1. Skop
2. Alat penyiram
3. Pot
4. *Polybag*
5. Nampan plastik
6. Kamera
7. Bibit spesies tanaman
8. Pupuk
9. Label
10. Air
11. Medium (tanah, moss, arang, air)

D. Cara Kerja

1. Menanam bibit spesies tanaman pada media tertentu.
2. Melakukan perawatan pada waktu tertentu.
3. Membuat dokumentasi tahapan pertumbuhan tanaman

E. Data Pengamatan

No	Jenis tanaman	Media tanam yang digunakan	Lama Pengamatan	Pertumbuhan tanaman pada parameter....

F. Bahan Diskusi

1. Jelaskan alasan penggunaan media tanam yang saudara gunakan pada praktikum yang saudara lakukan
2. Apakah ada perbedaan pertumbuhan pada berbagai tanaman yang saudara tanam pada lama pengamatan yang berbeda, mengapa demikian?
3. Faktor-faktor apa sajakah yang menentukan keberhasilan pada praktikum yang saudara lakukan

TEKNIK DASAR: PIPETTING DAN SENTRIFUGASI

Oleh: Kholifah Holil, M.Si.

A. Pendahuluan

Pipetting merupakan salah satu teknik yang menentukan keberhasilan dalam beberapa penelitian yang ada di dalam biologi. Teknik pipetting yang tepat memungkinkan reagen yang digunakan menghasilkan data yang sesuai dengan yang diharapkan.

Di dalam laboratorium genetika dan biologi molekuler penggunaan reagen yang digunakan dalam jumlah kecil sehingga penggunaan pipetting menjadi kebutuhan utama. Volume cairan yang digunakan di dalam laboratorium genetika dan biologi molekuler berkisar antara 2 μ l-1000 μ l. Ketepatan dalam pengambilan reagen dengan menggunakan mikropipet yang tepat memungkinkan mendapatkan hasil yang sesuai dan terhindar dari pemborosan reagen yang digunakan.

Selain teknik pipetting yang tepat maka sentrifugasi juga menjadi factor yang menentukan keberhasilan penelitian di dalam laboratorium genetika dan biologi molekuler. Sentrifugasi memungkinkan memisahkan komponen yang akan dipisahkan dengan menggunakan kecepatan tertentu dan disesuaikan dengan bahan/reagen/sampel yang akan dipisahkan. Ketidaktepatan pemilihan kecepatan sentrifus menyebabkan tidak terpisahnya bahan yang akan dipisahkan. Keberhasilan sentrifugasi akan ditunjukkan dengan 2 komponen berupa pellet dan supernatant.

B. Tujuan

1. Memahami prinsip dasar dan teknik pipetting dalam mentransfer cairan sesuai dengan yang diharapkan.
2. Memahami teknik pemilihan mikropipet yang digunakan dalam mentransfer cairan dengan ukuran tertentu
3. Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja sentrifus.
4. Memahami teknik pemilihan kecepatan sentrifus yang tepat dalam memisahkan sampel tertentu.

C. Alat dan Bahan

1. Mikropipet dan tip
2. Sentrifus
3. Tube 1.5ml-2ml
4. Timbangan analitik
5. Sampel jamu dan kopi hitam
6. Tissue
7. Cawan Petri, gunting, dan pinset.
8. Kertas label dan Aluminium Foil.

D. Cara Kerja

1. Teknik Pipetting

- a. Transfer aquades di bawah ini dengan menggunakan mikropipet yang telah ditetapkan dan masukkan ke dalam tube yang telah disediakan. Volume aquades yang harus ditransfer adalah sebagai berikut:

No	Volume sampel yang akan ditransfer	Pipet yang digunakan
1	1300 μ l	100-1000 μ l
2	755 μ l	100-1000 μ l
3	210 μ l	20-200 μ l
4	76 μ l	20-200 μ l
5	3 μ l	2-10 μ l

- b. Lakukan proses transfer masing-masing volume aquades tersebut di atas sebanyak 3 kali.
- c. Timbang aquades yang sudah ditransfer ke dalam tube dan catat hasilnya.
- ### 2. Teknik Sentrifugasi
- a. Ambil 1.5 ml sampel jamu dan kopi hitam, masukkan ke dalam tube ukuran 2ml..
- b. Sentrifugasi masing-masing sampel tersebut dengan menggunakan kecepatan yang berbeda (misal dengan kecepatan 5000rpm dan 10.000rpm). Catat volume supernatant yang diperoleh dan berapa kali sentrifugasi yang perlu dilakukan sampai supernatant terbebas dari pellet (bening).

E. Data Pengamatan

1. Teknik Pipetting

No	Volume sampel yang akan ditransfer	Pipet yang digunakan	Hasil Penimbangan pada ulangan			Rerata
			1	2	3	
1	1300 μ l	100-1000 μ l				
2	755 μ l	100-1000 μ l				
3	210 μ l	20-200 μ l				
4	76 μ l	20-200 μ l				
5	3 μ l	2-10 μ l				

2. Teknik Sentrifugasi

Sampel	Volume supernatan yang didapat pada kecepatan 5000rpm	Volume Serum yang didapat pada kecepatan 10000rpm	Frekuensi Sentrifugasi
Jamu			
Kopi hitam			

F. Bahan Diskusi

1. Apakah ada perbedaan hasil penimbangan volume aquades yang telah ditransfer menggunakan mikropipet? Mengapa demikian?
2. Sebutkan prinsip dasar yang saudara temukan pada praktikum pipetting?
3. Apakah ada perbedaan hasil supernatant yang didapat pada berbagai sampel yang dipisahkan? Mengapa demikian?
4. Sebutkan prinsip dasar yang saudara temukan pada praktikum sentrifugasi?

TEKNIK PEMBUATAN GEL SEBAGAI AGEN DALAM PEMISAHAN DNA, RNA, DAN PROTEIN

Oleh: Kholifah Holil, M.Si.

A. Pendahuluan

DNA, RNA, dan protein merupakan komponen penting yang bertanggungjawab dalam proses metabolisme sel. Komponen-komponen tersebut berperan dalam menentukan pembentukan enzim, gen penanggungjawab proses tertentu, penentu munculnya sifat dan penyakit tertentu dan lain-lain. Kajian keberadaan DNA, RNA, dan protein memungkinkan juga memungkinkan mengkaji sampai pada tingkatan sel. Oleh karena itu perlu teknik yang tepat untuk mengkaji keberadaan komponen-komponen tersebut dalam sel.

Ada berbagai metode yang dapat digunakan untuk mendeteksi komponen DNA, RNA, dan protein dalam sel. Metode elektroforesis horizontal maupun vertical adalah salah satu metode yang digunakan untuk memisahkan DNA, RNA, dan protein agar bias tampak terlihat. Metode ini merupakan metode memisahkan komponen tersebut dengan cara menggerakkan molekul bermuatan pada suatu medan listrik dan salah satunya sangat bergantung pada gel yang digunakan yang berperan sebagai media pemisahan. Ada beberapa pilihan gel yang bisa digunakan diantaranya adalah gel agarose dan gel poliakrilamide.

Gel agarose adalah gel yang umum digunakan untuk migrasi DNA dan dapat dipilih dengan menggunakan berbagai konsentrasi. Fatchiyah dkk (2011) mengemukakan bahwa untuk memisahkan genom utuh konsentrasi yang umum digunakan adalah 0.8%. Sedangkan hasil amplifikasi DNA dapat menggunakan gel agarose dengan konsentrasi 1.5-2%.

Gel poliakrilamid merupakan matriks penyangga yang umum digunakan dalam pemisahan protein. Dalam prakteknya gel poliakrilamid kadang-kadang digunakan sendiri namun kadang-kadang juga dapat dikombinasikan dengan detergent ionic seperti SDS (sodium dodecyl sulfat). Poliakrilamide mempunyai kemampuan memisahkan protein dengan kisaran berat molekul 500-250.000 atau polinukleotida dengan kisaran 5-2000bp. Konsentrasi gel poliakrilamide maupun SDS-PAGE bervariasi tergantung pada berbagai kebutuhan. Untuk membuat gel poliakrilamid *system discontinuos* memerlukan 2 jenis gel yaitu *stacking gel* dan *separating gel*. *Stacking gel* diletakkan di bagian atas (*upper gel buffer* atau UPG) dan dapat dibuat dengan konsentrasi 3-7%. Sedangkan *separating gel* diletakkan di bagian bawah (*lower gel buffer* atau LGB) dan dapat dibuat dengan konsentrasi 10-30% (Fachiyah dkk, 2011). Protein dalam sampel akan bergerak cepat pada *stacking gel* sampai akhirnya terakumulasi sebagai lapisan tipis ketika tepat mencapai *separating gel*.

B. Tujuan

1. Memahami teknik dan prinsip pembuatan gel.
2. Memahami komponen-komponen yang dibutuhkan dalam pembuatan gel.
3. Memahami prinsip pemanfaatan gel dalam elektroforesis horizontal maupun vertical.

C. Alat dan Bahan

Perangkat elektroforesis	Tissue
Mikropipet	Tip
Timbangan analitik	Reagent untuk pembuatan gel
Agar-agar swallow tanpa warna	Pewarna metilen blue
Aquades	Aluminium Foil
Beaker Glass	Sampel DNA
Nutrijel	

D. Cara Kerja

1. Pembuatan gel

- a. Untuk membuat gel agarose (simulasi), campurkan 4 gram agar tanpa warna (plain) dengan 1 gram nutrijel.
- b. Jika ingin membuat gel dengan konsentrasi 1%, timbang 0.4gram campuran di atas dan larutkan dengan 40 ml aquades. Ulangi cara yang sama pada konsentrasi gel yang berbeda.
- c. Panaskan dalam microwave/oven/hotplate sampai mendidih dan larutan menjadi jernih.
- d. Dinginkan larutan kira-kira sampai 60°C .
- e. Setelah itu larutan dituang ke dalam tray dan pasang well-forming combs, tunggu kurang lebih 30 menit atau sampai gel mengeras. Lepas well-forming combs secara perlahan-lahan dan gel siap digunakan untuk elektroforesis. Catat tekstur dan kondisi lain yang dihasilkan pada gel yang telah dibuat.

2. Elektroforesis

- a. Letakkan tray yang berisi gel ke dalam tank elektroforesis dan tuang larutan 1xbuffer TAE ke dalam tank tersebut hingga sekitar 1mm di atas permukaan gel.
- b. Ambil sampel dengan mikropipet sebanyak kapasitas sumur (well) yang biasanya sekitar 4-8 μ l. Letakkan sampel di atas parafilm atau plastic cling wrap dan tambahkan loading dye buffer sebanyak 1/10 volume sampel kemudian aduk hingga merata. Ambil larutan tersebut dengan mikropipet dan masukkan ke dalam sumur (well) gel yang telah dibuat pada langkah 1.
- c. Setelah sampel dimasukkan dalam sumur (well), tutup tank elektroforesis dan hubungkan arus listrik (hati-hati tegangan listrik cukup tinggi), pelajari menu-menu yang ada terkait fungsi dan cara mengoperasikannya. Setelah itu proses elektroforesis siap dijalankan.

- d. Lamanya elektroforesis tergantung persentase gel, tegangan arus listrik, dan ukuran molekul DNA. Sebagai gambaran proses elektroforesis untuk: tegangan listrik yang digunakan 100 volt. Ukuran fragmen DNA yang dianalisis 50-2000 pasang basa maka proses elektroforesis memerlukan waktu sekitar 30 menit.
- e. Setelah proses elektroforesis selesai, matikan arus listrik dan ambil tray dengan menggunakan sarung tangan. Taruh gel pada UV transilluminator dan jika pita/band molekul DNA kelihatan terang maka dokumentasikan.

Catatan: dalam proses praktikum yang dilakukan ganti beberapa komponen di atas dengan menggunakan bahan-bahan yang telah disediakan. 1xbuffer TAE dapat diganti dengan aquades dan loading dye juga dapat diganti dengan metilen blue.

E. Data Pengamatan

5. Pembuatan gel agarose

No	Konsentrasi Agarose	Hasil (Tekstur)
1	1%	
2	2%	

6. Elektroforesis

No	Konsentrasi agarose	Kondisi pada saat dimasuki sampel	keterangan
1	1%		
2	2%		

F. Bahan Diskusi

1. Apakah ada perbedaan hasil pada praktikum pembuatan gel agarose dengan berbagai konsentrasi? Mengapa demikian
2. Kesulitan apa yang saudara temukan pada pembuatan gel agarose dan bagaimana saudara mengatasi itu?
3. Apa hasil yang saudara dapatkan ketika melakukan pemisahan DNA dengan menggunakan elektroforesis yang memanfaatkan gel agarose sebagai matriksnya?
4. Jelaskan fungsi gel agarose pada praktikum yang saudara lakukan dan jika pada praktikum tersebut digantikan dengan menggunakan agar-agar biasa apa prinsip yang sama dan prinsip yang tidak sama yang saudara temukan pada praktikum yang sudah dilakukan.
5. Jelaskan fungsi menu-menu yang terdapat pada perangkat elektroforesis dan bagaimana pula cara mengoperasikannya

TEKNIK STERILISASI BASAH DALAM KULTUR JARINGAN DENGAN MENGGUNAKAN AUTOKLAF

Oleh: Kholifah Holil, M.Si.

A. Pendahuluan

Sterilisasi adalah salah satu teknik dasar dalam laboratorium kultur jaringan untuk mempersiapkan sampel, alat maupun bahan yang digunakan agar steril atau terbebas dari kontaminan. Teknik sterilisasi dapat dilakukan dengan berbagai cara diantaranya adalah dengan menggunakan sterilisasi kering dengan menggunakan oven, sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf, sterilisasi dengan menggunakan membrane, sinar UV, dan lain-lain.

Pemilihan jenis sterilisasi terutama didasarkan pada komponen yang akan disterilisasi. Komponen alat-alat berbahan kaca dapat disterilisasi dengan menggunakan sterilisasi kering karena alat-alat tersebut tidak akan rusak dengan pemanasan tinggi. Suhu yang dapat digunakan untuk sterilisasi kering adalah suhu 125°C selama 3 jam atau suhu 160°C selama 1 jam. Sedangkan sterilisasi untuk alat non kaca dan bahan yang mudah rusak dengan pemanasan tinggi maka dapat dilakukan dengan menggunakan autoklaf 121°C, 1Atm selama 15 menit.

B. Tujuan

1. Memahami prinsip dasar dan teknik sterilisasi di dalam kultur jaringan.
2. Memahami pemilihan teknik sterilisasi di dalam kultur jaringan.
3. Memahami teknik penggunaan autoklaf dan oven dalam sterilisasi.
4. Memahami teknik pembuatan media perkecambahan kultur jaringan tumbuhan

C. Alat dan Bahan

1. Botol kultur
2. Erlenmeyer
3. Beaker glass
4. Cawan petri
5. Tabung reaksi dan rak tabung
6. Tissue
7. Gunting dan pinset.
8. Kertas label dan Aluminium Foil.
9. Karet gelang
10. Bahan plastik
11. Plastik
12. Agar-Agar bubuk tidak berwarna (Swallow)

D. Cara Kerja Sterilisasi

1. Rendam alat-alat yang akan digunakan dengan menggunakan air yang ditambah dengan larutan teepol. Biarkan selama 24 jam.
2. Sikat dan bilas alat-alat tersebut di bawah air mengalir lakukan sebanyak 20x.
3. Bilas dengan aquades dan deionized water (DI). Keringkan alat-alat tersebut dalam oven.
4. Jika sudah kering, lakukan **sterilisasi kering** untuk alat berbahan kaca dengan cara membungkus alat-alat tersebut dengan aluminium foil dan sterilkan dengan menggunakan oven pada suhu 125°C selama 3 jam.
5. Jika sudah kering, lakukan **sterilisasi basah** untuk alat yang berbahan non kaca dengan cara membungkus alat-alat tersebut dengan menggunakan plastik, koran maupun kertas sampul berwarna coklat dan sterilisasi dengan menggunakan autoklaf 121°C, 1Atm selama 15 menit. Ulangi sterilisasi basah yang dilakukan dengan menggunakan autoklaf 121°C, 1Atm selama 5 menit.
6. Gunakan alat-alat yang sudah disterilisasi dalam kultur jaringan hewan maupun tumbuhan. Jika alat-alat yang digunakan tidak menyebabkan kontaminasi/tidak tumbuh mikroba maka alat-alat tersebut berarti steril dan sterilisasi yang dilakukan dianggap berhasil.

Pembuatan Media Perkecambahan

1. Timbang 6.7g agar-agar bubuk yang tidak berwarna (Swallow).
2. Larutkan dalam 1 liter akuades, panaskan dan homogenkan di atas hot plate stirrer.
3. Jika sudah homogen dan mendidih tuang ke dalam botol kultur (15-20ml).
4. Sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C, 1 Atm (selama 15 menit) dan hasilnya kemudian disimpan dan siap digunakan.
5. Ulangi langkah no 1-3, akan tetapi media **tidak perlu** disterilisasi dengan menggunakan autoklaf.

E. Data Pengamatan

Jenis Bahan, yang disterilisasi	Alat, Media akan	Jenis sterilisasi	Kondisi sebelum disterilisasi	Kondisi sesudah disterilisasi

F. Bahan Diskusi

1. Apakah ada perbedaan hasil antara sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf 121°C, 1Atm selama 15 menit dengan sterilisasi kering dengan menggunakan oven ? Mengapa demikian?
2. Sebutkan dan jelaskan faktor-faktor yang mempengaruhi keberhasilan sterilisasi yang sudah saudara lakukan.
3. Sebutkan prinsip dasar yang saudara temukan pada teknik sterilisasi dengan menggunakan autoklaf?
4. Apa ada perbedaan dari media yang disterilisasi dengan menggunakan autoklaf 121°C, 1Atm selama 15 menit dan dengan media yang tidak disterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf 121°C, 1Atm selama 15 menit ? Mengapa demikian

UJI HASIL STERILISASI BASAH DENGAN MENGGUNAKAN AUTOKLAF DALAM PERKECAMBAHAN KULTUR JARINGAN TUMBUHAN

Oleh: Kholifah Holil, M.Si.

A. Pendahuluan

Teknik kultur jaringan tumbuhan merupakan teknik untuk mendapatkan tanaman yang lengkap mulai dari akar sampai dengan daun (plantlet) secara *in vitro*. Kemampuan bagian tanaman (eksplan) untuk membentuk plantlet pada masing-masing tanaman bervariasi. Proses yang harus dilalui oleh tanaman sebelum membentuk plantlet adalah pembentukan kalus.

Ada beberapa faktor yang mempengaruhi keberhasilan teknik kultur jaringan diantaranya adalah sterilitas alat dan bahan yang digunakan, proses pengerjaan, jenis eksplan, jenis media yang digunakan, dan lain-lain. Faktor-faktor tersebut memungkinkan akan menghasilkan plantlet yang sesuai dengan yang diharapkan.

Sterilitas alat, bahan, dan media menjadi awal penentu dalam teknik kultur jaringan tumbuhan. Selain itu jenis eksplan yang tepat juga akan menentukan kecepatan dalam mendapatkan plantlet yang sesuai. Penggunaan eksplan yang diambil dari lapang akan memperbesar resiko terjadinya kontaminasi karena kondisi di luar laboratorium memungkinkan eksplan membawa kontaminan. Oleh karena itu resiko tersebut dapat diminimalisir dengan menggunakan eksplan dari hasil proses perkecambahan. Dengan menggunakan eksplan dari proses perkecambahan yang dilakukan secara *in vitro* maka kontaminan bisa diminimalisir.

B. Tujuan

1. Memahami teknik dan prinsip dasar dalam uji hasil sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf dalam perkecambahan kultur jaringan tumbuhan.
2. Memahami komponen-komponen yang dibutuhkan dalam uji hasil sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf dalam perkecambahan kultur jaringan tumbuhan.
3. Memahami teknik penggunaan *Laminar Air Flow* (LAF) dalam uji hasil sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf dalam perkecambahan kultur jaringan tumbuhan.

C. Alat dan Bahan

1. Alat dan bahan hasil sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf.
2. LAF
3. Tissue
4. Bunsen dan spiritus
5. Korek api

6. Sprayer yang telah diisi alcohol 70%.
7. Biji Kedelai
8. Teepol
9. Clorox/Bayclin

D. Cara Kerja

Sterilisasi Biji

1. Biji dicuci dengan detergen dan dibilas dengan air mengalir.
2. Biji direndam dalam Clorox/Bayclin 20% selama 20 menit.
3. Dibilas dengan aquades sebanyak 3x.
4. Biji direndam dengan Clorox/Bayclin 15% selama 15 menit.
5. Dibilas dengan aquades sebanyak 3x.
6. Dibawa ke dalam LAF. Sebelum LAF digunakan, pelajari menu yang terdapat di dalam LAF dan bagaimana cara mengoperasikannya. Selanjutnya jika sudah dipahami prinsip kerja menggunakan LAF maka dapat dilanjutkan pada langkah berikutnya yaitu biji direndam dengan Clorox/Bayclin 20% selama 1 menit.
7. Dicuci 3 kali dengan aquades steril

Penanaman Biji

1. Eksplan biji diletakkan dalam petridish steril yang telah dilapisi kertas tissue/kertas serap steril (untuk menyerap aquades).
2. Eksplan kemudian dimasukkan ke dalam botol kultur yang telah berisi media perkecambahan.
3. Disimpan dalam rak-rak kultur yang diberi penyinaran lampu flouresens 40watt dan suhu 28°C sampai terjadi perkecambahan dan terbentuk kotiledon. Amati jumlah biji yang membentuk kecambah dan perubahan lain yang terjadi. Lakukan pengamatan minimal 6 hari setelah tanam (6HST). Bedakan hasil pengamatan yang saudara dapatkan pada biji yang ditumbuhkan pada media yang disterilkan dengan autoklav dan yang tidak disterilkan dengan autoklav.

E. Data Pengamatan

Perlakuan	Jumlah biji yang membentuk kecambah pada hari ke....			Keterangan
	3 HST	6 HST	9HST	
Autoklav 121°C, 1Atm selama 5 menit.				
Autoklav 121°C, 1Atm selama 15 menit				

F. Bahan Diskusi

1. Apakah ada perbedaan hasil perkecambahan antara sterilisasi basah dengan menggunakan autoklav 121°C, 1Atm selama 5 menit dengan sterilisasi basah menggunakan autoklav 121°C, 1Atm selama 15 menit ? Mengapa demikian?

2. Kesulitan apa yang saudara temukan pada uji hasil sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf dalam perkecambahan kultur jaringan tumbuhan?
3. Sebutkan prinsip dasar yang saudara temukan pada saat menggunakan LAF dalam uji hasil sterilisasi basah dengan menggunakan autoklaf dalam perkecambahan kultur jaringan tumbuhan

PEMBUATAN MEDIA PERTUMBUHAN MIKROBA

Oleh: dr. Tias Pramesti Griana

A. Pendahuluan

Mikroba/mikroorganisme merupakan makhluk bersel satu yang berukuran sangat kecil dan hanya dapat dilihat dengan mikroskop. Mikroba bisa berupa jamur bersel satu maupun bakteri. Didalam lingkungan hidup mikroba memiliki peran penting bagi kelangsungan makhluk hidup lainnya. Pengaruh yang diberikan dapat memberikan efek positif maupun negatif. Begitu pentingnya peran mikroba, maka manusia berusaha untuk mengetahui secara detail tentang mikroba. Oleh sebab itu banyak penelitian yang menggunakan mikroba sebagai objeknya, terutama peran bakteri.

Kelangsungan hidup dan pertumbuhan mikroorganisme dipengaruhi oleh adanya nutrisi dan faktor lingkungan (suhu, kelembabab, kontaminasi dan lain-lain). Bahan nutrisi yang tersedia dapat berupa bahan alami dan dapat pula berupa bahan sintetis. Bahan nutrisi yang digunakan mikroorganisme biasanya berupa senyawa sederhana yang tersedia secara langsung atau berasal dari senyawa yang kompleks yang kemudian dipecah oleh mikroorganisme menjadi senyawa yang sederhana melalui proses enzimatik. Bahan nutrisi ini dapat berupa cairan atau padatan serengah padat (semi solid). Yang kemudian disebut media.

Untuk tujuan penelitian bakteri, para peneliti membutuhkan sejumlah tertentu bakteri, sehingga mereka mengembangbiakkannya untuk mendapatkan populasi bakteri yang diinginkan. Didalam mengembangbiakkan bakteri dibutuhkan suatu media khusus yang dapat menunjang pertumbuhan bakteri dengan optimal sesuai yang diharapkan.

Medium yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan bakteri tersebut harus sesuai susunanya dengan kebutuhan jenis-jenis bakteri yang bersangkutan. Beberapa bakteri dapat hidup baik pada medium yang sangat sederhana yang hanya mengandung garam anorganik di tambah sumber karbon organik seperti gula. Sedangkan bakteri lainnya memerlukan suatu medium yang sangat kompleks yaitu berupa medium ditambahkan darah atau bahan-bahan kompleks lainnya.

Akan tetapi yang terpenting medium harus mengandung nutrien yang merupakan substansi dengan berat molekul rendah dan mudah larut dalam air. Nutrien ini adalah degradasi dari nutrien dengan molekul yang kompleks. Nutrien dalam medium harus memenuhi kebutuhan dasar makhluk hidup, yang meliputi air, karbon, energi, mineral dan faktor tumbuh.

Berdasarkan konsistensi atau kepadatannya, medium dibagi menjadi tiga jenis, yaitu :

- a. Medium cair/broth/liquid medium
Contoh : air pepton, nutrient broth, lactosa
- b. Medium setengah padat (semi solid medium)
Contoh : sim agar, cary dan brain agar
- c. Medium padat (solid medium)

Contoh : endo agar, PDA (khusus untuk jamur bersel satu), Nutrient agar, Tryptic Soy agar

Medium semi solid dan solid menggunakan bahan pematat (seperti amilum, gelatin, selulosa dan agar-agar). Untuk medium padat/solid kita dapat menggunakan agar-agar dengan kadar 1,5%-1,8%, dan pada medium semi solid kadarnya setengah dari medium padat, sedangkan pada medium cair tidak diperlukan pematat.

Agar mendapatkan koloni bakteri sesuai dengan yang diharapkan dan tidak terkontaminasi dengan bakteri dari sumber lain, maka penanaman bakteri pada medium agar sangat ditentukan oleh sterilitas medium dan alat-alat yang digunakan sebelum dilakukan penanaman/inokulasi bakteri. Sterilisasi yaitu suatu proses untuk mematikan semua organisme yang dapat menjadi kontaminan. Metode yang lazim digunakan untuk mensterilisasikan media dan alat-alat ialah dengan pemanasan. Jika panas digunakan bersama-sama dengan uap air disebut sterilisasi basah (mengggunakan autoklaf), sedangkan jika tanpa uap air disebut sterilisasi kering (mengggunakan oven).

B. Tujuan praktikum

1. Untuk mengetahui cara pembuatan media biakan Tryptic Soy Agar (TSA) dan komposisi yang digunakan dalam penumbuhan bakteri
2. Untuk mengetahui cara melakukan inokulasi/sub kultur bakteri
3. Untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni bakteri yang tumbuh di dalam media dari hasil inokulasi di dalam Laminar Air Flow, dan koloni yang tumbuh dari hasil paparan tangan dan udara dari mulut
4. Untuk memahami pentingnya prinsip sterilitas didalam pembuatan media mikrobiologi dan kegunaan safety tools

C. Alat dan Bahan

Alat

- **Safety Tools**

- Jas Laboratorium
- Sarung tangan
- Masker

- **Pembuatan Media dan Inokulasi**

- | | |
|-----------------------------|--------------------|
| - Timbangan digital | - Inkubator |
| - Beaker Glass ukuran 500ml | - Coloni counter |
| - Tabung elemeyer 500ml | - Hand counter |
| - Stirer | - Bunsen |
| - Hotplate | - Ose/sengkelit |
| - Autoklaf | - Laminar Air Flow |
| - Cawan petri | - Spidol |

Bahan

- Tryptic Soy Agar (TSA)
- Aquades
- Aluminium foil
- Koloni bakteri yang telah ditumbuhkan
- Kapas alkohol

D. Cara Kerja

➤ Pembuatan media TSA

Pakai jas lab, sarung tangan dan masker sebelum mulai bekerja

↓
Timbang TSA sebanyak 1 mg

↓
Masukkan TSA kedalam aquades (250ml)

↓
Homogenkan larutan dengan stirer diatas hotplate (beaker glass ditutup aluminium foil)

↓
Setelah homogen (larutan bening) dipindahkan ke tabung elemeyer dan disterilkan dengan autoklaf (121°C selama 15menit)

➤ Inokulasi bakteri di dalam Laminar Air Flow

Tuangkan 15 ml medium TSA steril (suam kuku) ke dalam cawan petri steril

↓
Dinginkan kurang lebih 15menit sampai larutan medium TSA dan sampel membeku

↓
Sterilkan ose/sengkelit dengan membakar diatas api bunsen

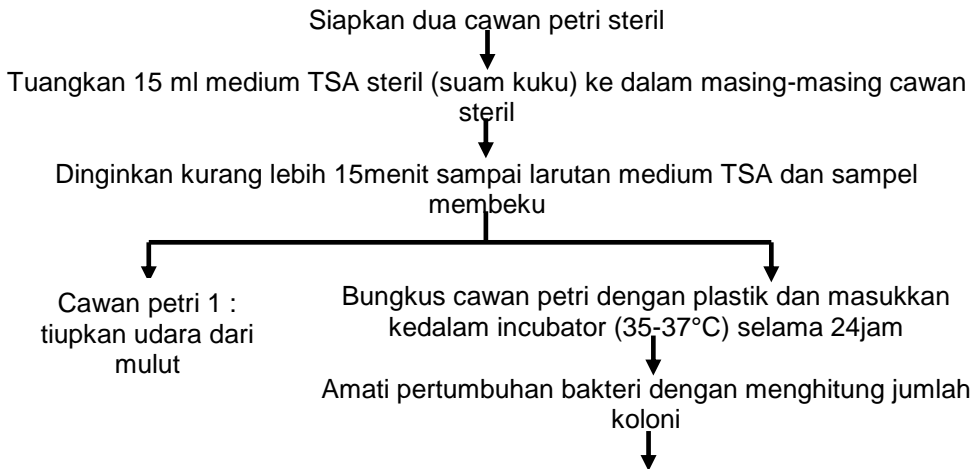
↓
Lakukan inokulasi/sub kultur dengan memindahkan koloni bakteri yang sudah disediakan
(pemindahan dengan menggunakan ose/sengkelit dilakukan didalam Laminar Air Flow)

↓
Lakukan penggoresan pada medium TSA dengan arah zig-zag

↓
Bungkus cawan petri yang telah diinokulasi bakteri dengan plastik dan masukkan kedalam incubator (35-37°C) selama 24jam

↓
Amati pertumbuhan bakteri dengan menghitung jumlah koloni

➤ **Penumbuhan bakteri dari paparan udara mulut dan tangan**



Cawan petri 2 :

- ✓ buat batas pembagi pada permukaan bawah cawan petri dengan spidol sehingga permukaan media TSA terbagi menjadi 2 area
- ✓ tempelkan jari tangan ke atas meja kemudian paparkan ke dalam salah satu area dari media TSA
- ✓ usap jari tangan dengan kapas alkohol kemudian paparkan ke dalam area media TSA yang lain

E. Pengamatan Data

Jumlah Koloni Bakteri Pada Media TSA			
Inokulasi/sub kultur	Paparan udara dari mulut	Paparan tangan	
		Steril	Tidak Steril

F. Bahan Diskusi

1. Mengapa dalam penanaman bakteri, media dan alat harus disterilkan terlebih dahulu?
2. Mengapa dalam penumbuhan bakteri, media harus dimasukkan kedalam inkubator terlebih dahulu?
3. Mengapa dalam inokulasi bakteri harus dilakukan didalam Laminar Air Flow?
4. Bagaimana perbedaan jumlah koloni bakteri yang tumbuh dari hasil inokulasi, paparan udara dari mulut, paparan tangan steril dan non steril?
5. Apa kegunaan memakai safety tools didalam laboratorium mikrobiologi?

ISOLASI TELUR PARASIT PADA SAYURAN DAN FESES HEWAN

Oleh; dr. Tias Pramesti Griana

A. Pendahuluan

Parasit merupakan organism yang menumpang hidup didalam tubuh organism lainnya. Parasit mendapatkan makanan untuk kelangsungan hidupnya dengan mengambil nutrisi dari organism yang ditumpanginya. Baik parasit yang tergolong kategori tumbuhan maupun hewan dapat menjadi parasit bagi tumbuhan, hewan dan manusia.

Meskipun tumbuhan tingkat tinggi seperti benalu juga dapat menjadi parasit bagi tumbuhan, tetapi parasit yang dapat menumpang baik pada tumbuhan, hewan dan manusia banyak berasal dari golongan jamur. Sedangkan untuk parasit kategori hewan yang sering didapatkan menumpang baik pada tumbuhan, hewan dan manusia adalah dari golongan bakteri dan cacing.

Ada berbagai jenis spesies cacing yang hidup sebagai parasit pada hewan dan manusia, dimana mereka biasa hidup didalam pencernaan inangnya. Cacing parasit menempel pada permukaan usus dan menyerap darah yang berisi nutrisi untuk kelangsungan hidupnya. Terkadang cacing parasit yang belum mencapai usia reproduktif dapat masuk kedalam organ lain seperti hati, paru, otak maupun otot. Sehingga dapat memberikan berbagai gangguan kesehatan pada inang yang ditumpanginya.

Masuknya cacing kedalam pencernaan inang disebabkan inang yang ditumpangi telah menelan telur cacing yang telah matang untuk menetas. Telur yang matang tadi masuk melalui makanan yang terkontaminasi. Telur yang telah mencapai pencernaan akan menetas dan tumbuh menjadi cacing yang siap bereproduksi untuk menghasilkan ratusan bahkan ribuan telur cacing. Sebagian telur cacing yang diproduksi menetas didalam pencernaan sebagian yang lain keluar bersama feses. Sehingga biasanya makanan yang terkontaminasi telur cacing adalah makanan yang sebelumnya terkontaminasi feses yang mengandung telur cacing.

Cacing dapat ditularkan kepada manusia yang memakan sayuran yang terkontaminasi telur cacing atau daging hewan yang telah ditumpangi cacing parasit. Proses memasak yang tidak benar akan mempermudah penularan cacing parasit dari hewan ke manusia.

Didalam praktikum ini kita akan mencoba untuk mengisolasi telur cacing yang ada pada sayuran dan feses hewan. Sehingga kita dapat membuktikan bahwa sayuran apa saja yang kemungkinan sering terkontaminasi telur cacing serta hewan apa saja yang memiliki parasit cacing didalam tubuhnya.

B. Tujuan praktikum

1. Untuk mengetahui cara melakukan isolasi parasit pada sayuran dan feses hewan
2. Untuk mengetahui macam-macam sayuran yang kemungkinan terkontaminasi telur cacing

3. Untuk mengetahui perbedaan hasil isolasi parasit dari feses hewan dengan teknik apung dan teknik natif

C. Prosedur Kerja

★ Isolasi Parasit Pada Sayuran

➤ Alat dan Bahan

✓ Safety Tools

- Jas laboratorium
- Sarung tangan
- Masker

✓ Alat

- Gelas piala/baskom dengan dasar mengerucut volume minimal 500ml
- Pipet kaca
- Mikro pipet
- Centrifuse
- Tabung endorf
- Pinset
- Objek glass
- Cover glass
- Mikroskop cahaya

✓ Bahan

- Sampel sayuran (sawi/caisim, kubis, selada, kemangi)
- Larutan NaOH 0,2%
- Larutan lugol 1% atau larutan eosin 1%
- Aquadest

➤ Cara Kerja

1. Siapkan diri dengan safety tools
2. Ambil sayuran secukupnya
3. Rendam masing-masing sayuran dalam 250ml larutan NaOH 0,2% dalam gelas piala/baskom yang terpisah selama 24 jam
4. Goyang-goyangkan sayuran dengan pinset lalu keluarkan
5. Diamkan air bekas rendaman selama 30 menit
6. Buang air rendaman perlahan sehingga yang berada di dasar tidak ikut terbuang, sisakan 10 – 15 ml
7. Masukkan air rendaman ke dalam tabung endorf dan disentrifuse kecepatan 2000 rpm selama 15 menit
8. Buang larutan bagian atas/supernatan dan endapan bagian bawah diambil untuk diperiksa dengan mikroskop
9. Pipet larutan lugol / eosin teteskan satu tetes pada obyek glass
10. Pipet endapan dari tabung centrifuge satu tetes lalu teteskan pada obyek glass yang telah diberi lugol
11. Tutup dengan hati-hati menggunakan cover glass, cairan harus merata dan tidak boleh ada gelembung udara
12. Amati di bawah mikroskop

★ Isolasi Parasit Pada Feses Hewan

○ Metode Natif

➤ Alat dan Bahan

✓ Safety Tools

- Jas laboratorium
- Sarung tangan
- Masker

✓ Alat

- Objek glass
- Cover glass
- Pipet kaca
- Lidi
- Mikroskop

✓ Bahan

- Feses hewan (sapi/babi/kucing)
- Eosin 2%
- NaCl fisiologis (0,9%)

➤ Cara kerja

1. Gelas obyek yang bersih di teteskan 1-2 tetes NaCl fisiologis/eosin 2%
2. Dengan lidi, di ambil sedikit tinja dan taruh pada larutan tersebut
3. Dengan lidi tadi, kita ratakan/larutkan, kemudian di tutup dengan gelas beda/cover glass

○ Metode Apung

➤ Alat dan Bahan

✓ Safety Tools

- Jas laboratorium
- Sarung tangan
- Masker

✓ Alat

- Objek glass
- Cover glass
- Pipet kaca
- Penyaring the
- Tabung reaksi
- Mikroskop
- Beaker glass
- Pengaduk kaca

✓ Bahan

- Feses hewan (sapi/babi/kucing)
- Larutan NaCl jenuh (33%)
- Aquades

➤ Cara kerja

1. Campur 10 gram tinja di campur dengan 200 ml NaCl jenuh (33%), aduk hingga larut
2. Bila terdapat serat selulosa, saring dengan saringan teh
3. Di diamkan selama 5-10 menit
4. Tuangkan bagian atas larutan ke dalam tabung reaksi sampai penuh, yaitu rata dengan permukaan mulut tabung
5. Tutup mulut tabung dengan objek glass, diamkan selama 5-10 menit
6. Segera angkat gelas obyek

7. Tutun objek glass dengan cover glass, hati-hati agar tidak terbentuk udara
8. Amati dibawah mikroskop

D. Pengamatan Data

Jenis Sayuran	Hasil Pengamatan				
	Telur		Larva		Kotoran
	Jumlah	Morfologi (Gambar dan penjelasan)	Jumlah	Morfologi (Gambar dan penjelasan)	Ada/Tidak
Sawi/caisim					
Kubis					
Selada					
Kemangi					

Jenis Pemeriksaan Feses	Hasil Pengamatan				
	Telur		Larva		Kotoran
	Jumlah	Morfologi (Gambar dan penjelasan)	Jumlah	Morfologi (Gambar dan penjelasan)	Ada/Tidak
Metode Natif					
Metode Apung					

Beri tanda :

+ = ada

- = tidak ada

E. Bahan Diskusi

1. Sayuran manakah yang ditemukan telur/larva cacing? Mengapa sayuran dapat terkontaminasi telur cacing?
2. Bagaimanakah perbedaan hasil dari pengamatan pada isolasi parasit dengan metode apung dan metode natif?
3. Bagaimana cara parasit masuk ke dalam saluran pencernaan hewan?

TEKNIK PERLAKUAN PADA HEWAN COBA

Oleh; dr. Tias Pramesti Griana

A. Pendahuluan

Didalam penelitian biologi tidak pernah lepas dari hewan coba. Hewan coba merupakan hewan yang digunakan sebagai objek penelitian. Jenis penelitian yang dimaksudkan untuk mengetahui efek suatu paparan (baik fisik, biologis, kimia, psikologis) yang diberikan terhadap kondisi tubuh makhluk hidup maka digunakan hewan coba sebagai objek paparannya. Hasil yang diharapkan adalah reaksi hewan coba terhadap paparan yang diberikan dapat berupa reaksi biologis dan psikologis). Biasanya penelitian yang menggunakan hewan coba adalah penelitian yang dimaksudkan untuk dikembangkan aplikasinya kepada manusia.

Penggunaan hewan coba didalam penelitian sangat bervariasi. Hewan coba yang digunakan termasuk jenis mamalia, aves, maupun reptile. Tetapi pada dasarnya objek hewan coba yang digunakan adalah hewan yang batas usianya pendek dan dapat berkembangbiak dengan jumlah yang banyak sehingga mudah untuk diikuti perkembangannya sesuai umur yang diinginkan. Salah satu hewan coba yang memiliki kriteria tersebut adalah hewan pengerat. Spesies yang sering digunakan adalah dari golongan tikus dan mencit.

Memperlakukan hewan coba tidak boleh seenaknya karena ada etika penelitian yang melindungi hak-hak hewan coba didalam perlakuan penelitian. Hewan coba harus diperlakukan dengan baik karena baik buruknya perlakuan yang diberikan dapat mempengaruhi validitas data yang akan didapat. Sehingga peneliti harus memiliki keahlian yang baik dalam memberikan perlakuan khususnya dalam tindakan invasive terhadap tubuh hewan coba, diantaranya adalah mencekoki, dan menyuntikkan zat yang akan diteliti.

B. Tujuan

1. Mengetahui bagaimana melakukan sonde lambung
2. Mengetahui bagaimana melakukan injeksi intravena, subkutan, intramuscular dan intraperitoneal

C. Alat dan Bahan

➤ Alat

- **Safety Tools**
 - Jas laboratorium
 - Sarung tangan (karet/kain tebal)
 - Masker
- **Sonde Lambung**
 - Kateter lambung/sonde ukuran kecil/untuk bayi
 - Spuit 5cc
- **Injeksi**
 - Toples plastic ukuran tubuh mencit (didesain khusus)
 - Spuit insulin 1cc

- Water bath

➤ **Bahan**

- **Sonde Lambung**
 - NaCl 0,9%
- **Injeksi**
 - NaCl 0,9%
 - Hormon Progesteron
 - Kapas alcohol

➤ **Cara Kerja**

○ **Sonde Lambung**

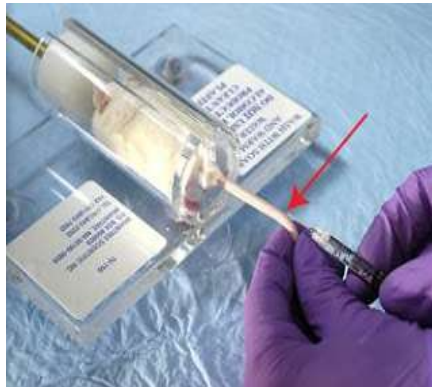
1. Siapkan diri dengan safety tools
2. Ambil 5 ml cairan NaCl 0,9% dengan spuit 5cc
3. Lepas jarum spuit dan hubungkan ujung spuit dengan ujung karet kateter lambung
4. Pegang mencit pada kulit punggungnya dengan tangan kiri, kemudian dengan tangan kanan tarik ekornya perlahan, letakkan tubuh mencit diatas telapak tangan kiri (dilakukan dengan lembut)
5. Posisikan kepala mencit tertarik kebelakang sehingga mulut mudah dibuka
6. Ambil kateter dengan tangan kanan
7. Masukkan ujung kateter kedalam mulut mencit secara perlahan (posisikan kepala mencit tertarik kebelakang sehingga moncongnya tegak lurus dengan tubuhnya dan mulutnya terbuka), kateter dimasukkan kurang lebih 5 cm
8. Tekan spuit secara perlahan sehingga cairan dapat keluar dari kateter (tetap usahakan tangan kiri menarik kepala mencit agar mulut terbuka, sehingga mencit tidak dapat mengigit karet kateter lambung)
9. Setelah semua cairan masuk, lepas kateter dengan menariknya secara perlahan sampai ujung kateter benar-benar lepas dari mulut mencit
10. Lepaskan mencit dan kembalikan kedalam kandang
11. Amati perilaku mencit setelah pengekokan



Gambar 1. Cara memegang dan mencekoki mencit

○ Injeksi Intravena

1. Posisikan mencit senyaman mungkin didalam toples plastic yang sudah dimodifikasi (mencit akan diam saja jika sudah nyaman)
2. Tutup plastik dengan rapat dengan posisi ekor terjuntai keluar dari tutup toples
3. Masukkan ekor mencit kedalam waterbath yang telah dipanaskan 37°C selama 5 menit
4. Pegang ujung ekor (jepit dengan jari tangan kiri), ujung ekor bagian bawah dijepit dengan jempol dan jari manis, sedangkan bagian atas dijepit dengan jari telunjuk dan jari tengah
5. Cari vena yang tampak jelas (bagian dorsal/ventral pada ekor)
6. Lakukan tindakan aseptik dengan membersihkan permukaan kulit ekor yang akan di injeksi dengan kapas alkohol
7. Injeksi dilakukan dengan tangan kanan, dengan posisi sudut hampir menempel (sudut <math>< 45^\circ</math>) masukkan jarum ke dalam vena ekor
8. Aspirasi terlebih dahulu, kemudian masukkan zat yang diinjeksikan perlahan-lahan
9. Setelah semua zat dimasukkan, tekan ujung jarum yang menusuk pada kulit dengan kapas alkohol
10. Tarik jarum spuit dengan tetap menekan kapas alkohol pada permukaan kulit yang diinjeksi
11. Lepaskan kapas alkohol dari kulit setelah satu menit agar zat yang diinjeksikan tidak keluar lagi dan perdarahan berhenti
12. Ganti spuit dan jarum setiap kali menginjeksi hewan coba
13. Keluarkan hewan coba dari toples dan kembalikan kedalam kandang



Gambar 2. Cara melakukan injeksi intravena

○ Injeksi Subkutan

1. Lakukan teknik aseptik (mengusap bagian kulit punggung yang akan di injeksi dengan kapas alkohol)

2. Tarik kulit dengan menggunakan jari jempol dan jari tengah dari tangan kiri (gerakan seperti mencubit)
3. Masukkan jarum spuit ke dalam kulit tidak lebih dari 1/3 panjang jarum
4. Masukkan zat yang diinjeksikan secara perlahan, jika saat memasukkan terasa mudah berarti zat benar masuk kedalam subkutan, tetapi jika saat memasukkan terasa berat/ada tekanan, maka zat salah masuk kedalam muscular/otot
5. Setelah semua zat dimasukkan, tekan ujung jarum yang menusuk kulit dengan kapas alkohol
6. Tarik dan lepaskan jarum spuit dengan kapas alkohol masih menekan kulit
7. Tekan kapas alkohol kurang lebih satu menit pada kulit untuk mencegah zat yang di injeksikan keluar lagi dan menghentikan perdarahan pada bekas suntikan

○ **Intramuskular**

1. Pegang mencit/tikus dengan posisi terlentang (jari jempol dan jari telunjuk menjepit leher, telapak tangan memegang tubuh, dan ekor difiksasi dengan dijepit menggunakan jari manis dan kelingking)
2. Lakukan teknik aseptik pada kulit yang akan dilakukan injeksi
3. Masukkan jarum dengan sudut $<45^\circ$ dan kedalaman $\frac{1}{2}$ panjang jarum
4. Masukkan zat yang diinjeksikan secara perlahan, jika masuk dengan mudah berarti injeksi benar pada intramuscular/otot, jika masuk dengan berat/ada tekanan berarti injeksi salah mengenai tulang
5. Setelah semua zat dimasukkan, tekan ujung jarum yang menusuk kulit dengan kapas alkohol
6. Tarik dan lepaskan jarum spuit dengan kapas alkohol masih menekan kulit
7. Tekan kapas alkohol kurang lebih satu menit pada kulit untuk mencegah zat yang di injeksikan keluar lagi dan menghentikan perdarahan pada bekas suntikan



Gambar 3. Cara melakukan injeksi intramuscular

o Injeksi Intraperitoneal

1. Pegang mencit/tikus dengan posisi terlentang (jari jempol dan jari telunjuk menjepit leher, telapak tangan memegang tubuh, dan ekor difiksasi dengan dijepit menggunakan jari manis dan kelingking)
2. Lakukan teknik aseptik pada kulit yang akan dilakukan injeksi
3. Masukkan jarum dengan sudut $<45^\circ$ dan kedalaman $\frac{1}{2}$ panjang jarum
4. Masukkan zat yang diinjeksikan secara perlahan, jika masuk dengan mudah berarti injeksi benar pada intraperitoneal, jika masuk dengan berat/ada tekanan berarti injeksi salah mengenai organ dalam perut
5. Setelah semua zat dimasukkan, tekan ujung jarum yang menusuk kulit dengan kapas alkohol
6. Tarik dan lepaskan jarum spuit dengan kapas alkohol masih menekan kulit
7. Tekan kapas alkohol kurang lebih satu menit pada kulit untuk mencegah zat yang diinjeksikan keluar lagi dan menghentikan perdarahan pada bekas suntikan



Gambar 4. Cara melakukan injeksi intraperitoneal

D. Pengamatan

Jenis Perlakuan	Pengamatan Perilaku Pada Hewan Coba	Pengamatan Pada Bekas Injeksi
Pencekohan		
Injeksi intravena		
Injeksi intramuskular		
Injeksi subkutan		
Injeksi intraperitoneal		

E. Bahan Diskusi

Mengapa kita harus mengamati keadaan hewan coba setiap kali setelah memberikan perlakuan?

PENGENALAN BAHAN DAN BAHAN

Oleh; dr. Nurlaili Susanti, Sked

1. Pengenalan Bahan

A. Tujuan :

mempelajari cara mengenali bahan kimia berbahaya dan teknik penanganannya

B. Alat dan Bahan

1. Larutan HCL (Asam Klorida)
2. Larutan H₂SO₄ (Asam Sulfat)
3. Larutan NaOH (Natrium Hidroksida)

C. Prosedur Kerja :

1. Amati Label pada kemasan Bahan Kimia yang telah disediakan
2. Bacalah keterangan mengenai bahan kimia tersebut dalam MSDS
3. Catat nama bahan kimia, gambar label dan interpretasinya, sifat bahaya dari bahan kimia tersebut, penanganan khusus dan alat pelindung diri serta penyimpanan bahan kimia tersebut.

2. Pengenalan Alat

A. Tujuan :

1. Mempelajari macam-macam alat-alat gelas dan penggunaannya
2. Mempelajari teknik penggunaan timbangan analitik
3. Mempelajari teknik penggunaan kerja vortex
4. Mempelajari teknik penggunaan sentrifugasi
5. Mempelajari teknik penggunaan mikro pipet

B. Alat dan bahan

1. Alat-alat gelas : tabung reaksi, cawan petri, gelas ukur, labu Erlenmeyer dan beaker glass,
2. Timbangan analitik
3. Vortex
4. Sentrifugator
5. Micro pipet

C. Prosedur Kerja :

- 1) Mempelajari macam-macam alat-alat gelas dan penggunaannya
 1. Amati masing-masing alat gelas
 2. Pelajari nama dan kegunaannya masing-masing
 3. Gambar dan catat dalam laporan praktikum
- 2) Pembuatan larutan NaCl 3 % sebanyak 100 mL

- a. Hitung dengan cermat berat NaCl yang dibutuhkan untuk membuat larutan NaCl 3% sebanyak 100 mL
 - b. Timbang NaCl sejumlah yang dibutuhkan dengan menggunakan timbangan analitik (Melakukan SOP penggunaan timbangan analitik)
 - c. Masukkan sedikit akuades ke dalam beaker glass
 - d. Tuang NaCl hasil penimbangan ke dalam beaker glass
 - e. Homogenkan larutan dengan menggunakan vortex (Melakukan SOP penggunaan vortex)
 - f. Tambahkan aquades sampai volume mencapai 100 mL
- 3) Pemisahan bahan terlarut dalam suatu suspensi
1. Ambil sebanyak 1 ml larutan NaCl 3% yang telah anda buat dan masukkan ke dalam *micro tube*
 2. Sentrifus dengan kecepatan 8000 g selama 30 detik (**Melakukan SOP penggunaan sentrifugasi**)
 3. Mikro tube dikeluarkan dari alat sentrifugator
 4. Memisahkan supernatant dari pellet dengan menggunakan mikro pipet (**Melakukan SOP penggunaan Micro pipet**)

UJI BOKIMIA : ANALISIS PROTEIN METODE BIURET

Oleh; dr. Nurlaili Susanti, Sked

1. **Tujuan :**
Menganalisis protein secara kualitatif dan kuantitatif menggunakan Metode Biuret
2. **Alat dan Bahan :**
 1. Labu ukur
 2. Tabung reaksi
 3. Pipet
 4. Spektrofotometer
 5. Reagen Biuret : Larutkan 1,5 gram $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ dan 6 gram Kalium Natrium Tartrat dengan sedikit air, tambahkan 300 ml NaOH 10% kemudian diencerkan hingga menjadi 1 L larutan.
 6. Sampel
 7. Aquades
 8. Kurva Standart Protein
3. **Prosedur Kerja :**
 1. Sebanyak 1 gram sampel dimasukkan ke dalam labu ukur dan dilarutkan dengan aquadest sampai volume 100 ml.
 2. Ambil sebanyak 1 ml larutan dan masukkan ke dalam tabung reaksi kemudian tambahkan aquades hingga volumenya 4 ml.
 3. Tambahkan Reagen Biuret sebanyak 6 ml, aduk hingga homogeny kemudian diamkan 30 menit pada suhu kamar.
 4. Amati perubahan warna yang terjadi
 5. Ukur absorbansinya pada panjang gelombang 540 nm
 6. Kadar protein sampel dapat dihitung melalui perbandingan dengan kurva standar protein yang telah diketahui.

FISIOLOGI HEWAN

Oleh; dr. Nurlaili Susanti, Sked

A. Tujuan

1. Mempelajari prinsip kerja dan teknik penggunaan tensimeter dan stetoskop
2. Mempelajari prinsip kerja dan teknik penggunaan Glucotest

B. Alat dan Bahan

1. Tensimeter
2. Stetoskop
3. Glucotest
4. Blood lancet
5. Kapas
6. Alkohol 70%

C. Prosedur Kerja

A. Pengukuran tekanan darah

1. Probandus dalam posisi duduk atau terbaring
2. Lilitkan manset tensimeter ke lengan probandus
3. Buka aliran raksa pada tensimeter
4. Tempatkan membran stetoskop pada lengan probandus dan bagian untuk mendengarkan pada telinga pemeriksa
5. Tutup panel putaran di dekat pompa tensimeter
6. Pompa tensimeter hingga raksa naik melebihi tekanan darah rata-rata probandus (sekitar 150-160)
7. Secara perlahan buka panel putaran sedikit demi sedikit hingga raksa turun
8. Perhatikan angka pada tensimeter saat terdengar bunyi pertama pada stetoskop (menunjukkan tekanan sistole) dan menghilangnya bunyi pada stetoskop (menunjukkan tekanan diastole).

B. Pengukuran kadar gula darah

1. Masukkan bagian ujung strip uji ke dalam alat pengukur dan tunggu sampai muncul tanda siap digunakan
2. Desinfeksi ujung jari probandus dengan kapas alkohol
3. Ujung jari probandus ditusuk dengan blood lancet sampai darah dapat keluar
4. Strip uji didekatkan pada tetes darah dan dibiarkan terserap pada strip
5. Tunggu hingga alat ukur menunjukkan angka tertentu yang merupakan kadar gula pada darah probandus