

**PEDOMAN PRAKTIKUM
BIOTEKNOLOGI DASAR & INSTRUMENTASI**

Disusun Oleh:

Firman Alamsyah, Ph.D.

**LABORATORIUM BIOLOGI
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS AL AZHAR INDONESIA
JAKARTA**

2019

DAFTAR ISI

| | |
|---|---|
| MEMBUAT APLIKASI ETHICAL CLEARANCE UNTUK UJI IN VIVO..... | 3 |
| MEMPELAJARI KONDISI KLINIS HEWAN UJI DAN MENIMBANG BERAT BADAN. | 4 |
| PEMBUATAN KOMPOS | 5 |
| PEMBUATAN TAPE SINGKONG..... | 7 |
| PENJAJARAN SEKUEN, MEMBUAT PRIMER DAN HOMOLOGY SEARCHING..... | 8 |

MEMBUAT APLIKASI *ETHICAL CLEARANCE* UNTUK UJI *IN VIVO*

Tujuan Praktikum:

Melatih membuat aplikasi *ethical clearance* sebagai bagian bioetik pada penelitian bioteknologi yang menggunakan hewan coba (*in vivo*).

Dalam uji pra-klinis yang melibatkan hewan dan uji klinis yang melibatkan manusia sebagai subjek penelitian, dibutuhkan izin etik sebelum penelitian tersebut dilaksanakan. Izin etik ini dikeluarkan oleh suatu komisi etik yang akan memeriksa secara detail, apakah penelitian yang akan dilakukan tersebut aman bagi subjek penelitian dan memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi, berdasarkan hasil penelitian sebelumnya.

Alat dan Bahan:

Protokol penelitian dan formulir aplikasi pemeliharaan dan penggunaan hewan/jaringan hewan untuk penelitian/pengujian/pelatihan

Cara Kerja:

1. Mahasiswa membaca protocol penelitian
2. Mahasiswa mengisi formulir aplikasi pemeliharaan dan penggunaan hewan/jaringan hewan untuk penelitian/pengujian/pelatihan berdasarkan protocol penelitian

MEMPELAJARI KONDISI KLINIS HEWAN UJI DAN MENIMBANG BERAT BADAN

Tujuan Praktikum:

Mempelajari kondisi klinis tikus, selama pajanan medan listrik frekuensi menengah dan intensitas rendah.

Selama penelitian *in vivo*, hewan coba harus diperiksa kondisi klinisnya secara berkala (satu minggu 3x) untuk mengetahui apakah hewan coba mengalami stress selama perlakuan. Jika hewan coba mengalami stress dan kemudian mati, maka akan mengurangi jumlah ulangan dalam penelitian. Selain itu, dalam penelitian dengan kandang komunal, hewan coba yang stress, seperti misalnya tikus, akan menjadi mangsa dan dimakan oleh tikus-tikus lainnya yang lebih sehat atau kuat. Oleh karena itu, dengan mengenali kondisi klinis, dapat menyelamatkan nyawa hewan coba dan penelitian dapat selesai dengan baik.

Alat dan Bahan:

1. Hewan coba berjumlah 3 ekor mencit (*mus musculus*)
2. Kandang perlakuan 3 buah
3. Alat timbangan
4. Kertas berisi table data

Cara Kerja:

1. Hewan coba berjumlah 3 ekor mencit (*mus musculus*) untuk 1 kandang perlakuan
2. Hewan coba ditimbang berat badannya sebelum perlakuan, dan datanya ditulis dalam Tabel.
3. Hewan coba dimasukkan dalam kandang medan listrik dan dipajan medan listrik frekuensi menengah dan intensitas rendah selama 1 jam.
4. Hewan coba diperiksa kondisi klinisnya, meliputi kondisi mata (mata menyipit), kondisi rambu (piloerection atau rambut berdiri), perilaku social (menyendiri, kurang eksplorasi, kurang kewaspadaan), postur tubuh (membungkuk, kepala tertekan), dan kondisi makanan (makanan tersisa, kurang minum). Data kondisi klinis dimasukkan ke dalam Tabel.
5. Hewan coba kembali ditimbang berat badannya setelah perlakuan dan datanya dimasukkan dalam Table data.

PEMBUATAN KOMPOS

Tujuan Praktikum:

Melatih teknik dasar bioteknologi lingkungan dalam pengolahan limbah organik untuk menjadi kompos.

Kompos adalah produk pupuk yang berasal dari hasil pengolahan limbah organik, baik limbah organik rumah tangga maupun limbah pekarangan. Kompos mengandung mineral yang dibutuhkan oleh tumbuhan, yaitu Nitrogen (N), Phospor (P) dan Kalium (K). Pengolahan limbah menjadi kompos ini dapat mengurangi pencemaran limbah organik yang dapat merugikan kesehatan manusia dan lingkungan.

Alat dan Bahan:

1. Limbah organik yang lunak, seperti sisa makanan, sisa buah, daun-daunan, serbuk gergaji, sekam padi dan kotoran kambing.
2. Ember dengan penutup
3. Spidol marker
4. Sarung tangan
5. Serok tanah
6. Tanah
7. Air
8. Selotip

Cara Kerja:

1. Siapkan sampah organik dan pisahkan dari sampah plastik dan sampah non-organik lainnya
2. Siapkan ember berpenutup sebagai wadah pembuatan kompos dan buat 3 tanda dengan menggunakan spidol marker untuk tanah di lapisan bawah, sampah organik dan tanah di lapisan atas
3. Tanah di lapisan bawah volumenya 25% dari volume ember, sampah organik volumenya 50% dari volume ember dan tanah di lapisan atas volumenya 25% dari volume ember
4. Tandai juga ember dengan nama atau kode masing-masing kelompok praktikan di bagian luar ember
5. Masukkan tanah ke dalam ember hingga tingginya mencapai tanda spidol marker untuk tanah lapisan bawah
6. Siram tanah tersebut dengan air secukupnya
7. Cacah bahan organik menjadi ukuran lebih kecil dan masukkan sampah organik yang telah disiapkan hingga tingginya mencapai tanda spidol marker untuk lapisan sampah dan ratakan
8. Siram sampah organik tersebut dengan air secukupnya
9. Masukkan kembali tanah ke atas sampah hingga tingginya mencapai tanda spidol marker untuk tanah lapisan atas

10. Tutup ember dengan rapat dan rekatkan dengan selotip, serta hindari dari sinar matahari
11. Setelah 1 minggu, cek kematangan kompos. Apabila sudah berwarna hitam kecoklatan dan tekstur gembur, dapat langsung digunakan sebagai pupuk

PEMBUATAN TAPE SINGKONG

Tujuan Praktikum:

Melatih teknik dasar bioteknologi pangan dengan menggunakan ragi pada pembuatan tape singkong.

Tape adalah salahsatu pangan tradisional yang dibuat dari singkong atau ketan yang difermentasi dengan menggunakan ragi, seperti *Saccharomyces cerevisiae*. Pada proses fermentasi, ragi akan mengubah glukosa ($C_6H_{12}O_6$) menjadi etanol ($2C_2H_5OH$). Produk pangan hasil bioteknologi tradisional ini telah menjadi pangan alternatif bagi masyarakat, khususnya di daerah Jawa Barat.

Alat dan Bahan:

1. Singkong
2. Pisau
3. Tempa sampah
4. Wadah plastic
5. Daun pisang
6. Ragi tape
7. Selotip
8. Panci
9. Kompor

Cara Kerja:

1. Kupas dan cuci bersih singkong, serta potong menjadi beberapa bagian
2. Kukus singkong setengah matang hingga dagingnya bisa ditusuk dengan garpu, lalu tiriskan dan dinginkan di suhu ruang
3. Masukkan singkong pada wadah plastic yang dilapisi daun pisang
4. Taburi dengan ragi tape secukupnya
5. Tutup singkong dengan daun pisang dan penutup wadah, serta rekatkan dengan selotip
6. Setelah 1 hari, cek kematangan tape singkong. Jika sudah empuk dan berbau harum, dapat langsung dikonsumsi

HOMOLOGY SEARCHING, PENJAJARAN SEKUEN, DAN MEMBUAT PRIMER

Tujuan Praktikum:

Melatih teknik dasar bioinformatika dalam riset rekayasa genetika.

Pada penelitian bioteknologi yang terkait dengan rekayasa genetika, dibutuhkan analisis *in silico* dengan menggunakan *software* bioinformatika. Analisis *in silico* dasar yang umum digunakan dalam riset rekayasa genetika adalah *homology searching*, penjajaran sekuen, dan membuat primer untuk sintesis cDNA dan amplifikasi DNA.

Homology searching dilakukan untuk mencari sekuen yang memiliki kemiripan dengan sekuen yang diinput ke program pencarian, misalnya BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Dalam penjajaran sekuen untuk membuat primer, dipilih sekuen dengan kemiripan yang tinggi (diatas 70%). Untuk mencari sekuen yang mirip (*homology searching*) digunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*). Program BLAST akan menjajarkan sekuen *query* (input) dengan sekuen nukleotida (BLASTn) atau sekuen asam amino (BLASTp) dan akan dihasilkan urutan sekuen yang paling tinggi kemiripannya.

Alat dan Bahan:

Laptop, internet, program *multiple alignment*.

Cara Kerja:

1. Mencari 1 sekuen gen pyrophosphate-dependent phosphofruktokinase (PFP) subunit-alpha dari tanaman tebu *Saccharum officinarum* di Genbank.
2. Run BLASTn untuk mencari sekuen nukleotida yang memiliki kemiripan dengan sekuen PFP subunit-alpha dari tanaman tebu yang didapatkan.
3. Pilih 5 sekuen DNA PFP subunit-alpha dari 5 spesies tanaman yang berbeda, kemudian *copy paste* ke notepad dalam bentuk fasta.
4. Copy paste 5 sekuen DNA PFP subunit-alpha di notepad ke program *multiple alignment*.
5. Tentukan daerah yang lestari (*conserved*) dari hasil penjajara sekuen.
6. Pilih daerah yang lestari untuk mendesain primer *forward* dan primer *reverse* dengan panjang 18-24 nukleotida, kandungan GC 45-55%, dan ujung 5' dan 3'-nya adalah basa G atau C.