

**PEDOMAN PRAKTIKUM
DASAR BIOTEKNOLOGI & INSTRUMENTASI**

Disusun Oleh:

Firman Alamsyah, Ph.D.

H. Syafitri Jumianto, M.Si.

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

2021

**TATA TERTIB PRAKTIKUM
PROGRAM STUDI BIOLOGI
UNIVERSITAS AL AZHAR INDONESIA**

NO.	URAIAN
KEDISIPLINAN ASISTEN PRAKTIKUM	
1.	Asisten mendata kebutuhan praktikum tiap pertemuan dan menyiapkan kebutuhan alat serta bahan 1 minggu sebelum praktikum dilaksanakan. Jika terdapat kekurangan alat dan bahan maka asisten praktikum bertanggung jawab untuk mencari hari pengganti.
2.	Asisten diwajibkan hadir 1 jam sebelum praktikum dimulai
3.	Asisten praktikum wajib mengisi formulir kelengkapan alat dan bahan serta evaluasi praktikum
4.	Apabila Asisten praktikum berhalangan hadir wajib memberitahu laboran dan mencari pengganti
5.	Asisten bertanggung jawab terhadap kebersihan dan kerapihan Lab, serta merapihkan kembali alat dan bahan yang digunakan pada tempatnya.
6.	Asisten wajib mengembalikan laporan praktikan seminggu setelah dikumpulkan
7.	Asisten membuat jadwal UAS praktikum 1 minggu sebelum waktu pelaksanaan
8.	Asisten praktikum wajib mengumpulkan nilai akhir praktikum sebelum UAS
9.	Asisten praktikum yang melalaikan tata tertib yang berlaku akan dikenakan sanksi.
NILAI	
1.	Wajib diadakan Pre-test
2.	Nilai Akhir : Kehadiran 10%, Pre-test 20%, Laporan praktikan 40 %, Ujian Praktikum 25%, Adab dan sopan santun 5%
3.	Nilai Laporan Penilaian meliputi kerapihan, kedisiplinan, dan isi laporan. Kerapihan = tulisan dan penggunaan Bahasa ilmiah Kedisiplinan = waktu pengumpulan laporan (H-3, H-2, H-1, H) Isi laporan = Pendahuluan, Alat dan bahan, Cara Kerja, Hasil dan Pembahasan, Simpulan dan Saran, Daftar Pustaka.
KEDISIPLINAN PRAKTIKAN	
1.	Praktikan wajib mengenakan JasLab. Jika tidak, maka tidak diperkenankan mengikuti praktikum
2.	Praktikan wajib hadir 15 menit lebih awal. Jika terlambat, tidak diperkenankan mengikuti Pre-Test dan hanya diperbolehkan masuk ke ruangan setelah Pre-Test.
3.	Praktikan wajib mengumpulkan laporan paling lambat sebelum memasuki laboratorium. Jika tidak, maka tidak diperkenankan mengikuti praktikum.
4.	Praktikan hanya diperbolehkan menggunakan 1 handphone dalam 1 kelompok untuk dokumentasi data.
5.	Praktikan wajib membawa bahan-bahan praktikum yang telah diinstruksikan oleh Asisten praktikum. Jika tidak, maka praktikum ditunda.
6.	Dilarang makan dan minum saat praktikum berlangsung.
KEHADIRAN	
1.	Praktikan wajib hadir setiap pertemuan. Jika sakit atau berhalangan hadir, maka wajib memberikan surat kepada asisten dan tetap membuat laporan praktikum dan review jurnal internasional 10 tahun terakhir dengan materi yang berkaitan.
KERAPIHAN	
1.	Praktikan dan asisten praktikum wajib mengenakan pakaian yang rapih
2.	Sepatu dilepas dan diletakkan pada rak yang telah disediakan Selama kegiatan praktikum wajib mengenakan alas kaki yang telah disediakan di Laboratorium.
3.	Tas dan barang-barang disimpan di loker yang telah disediakan di Laboratorium.
4.	Praktikan harap menjaga kebersihan dan merapihkan kembali alat dan bahan yang telah digunakan pada tempatnya.
5.	Wajib membuang sampah pada tempatnya.

Mengetahui,
Ketua Program Studi Biologi

Dr. rer. nat. Yunus Effendi, S.Pd., M.Si., M.Sc.

**RUBRIK PENILAIAN PRE/POST TEST DAN ADAB DALAM PRAKTIKUM
LABORATORIUM PRODI BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS AL AZHAR INDONESIA**

Dimensi	Buruk (Skor 20)	Kurang (Skor 40)	Batas (Skor 60)	Memuaskan (Skor 80)	Sangat memuaskan (Skor 100)
Persentase jawaban pre/post test benar	d disesuaikan dengan jumlah soal				
(ADAB) Partisipasi dan penilaian kerja lab	Tidak antusias bekerja, kurang paham teknis kerja lab, laporan sementara tidak lengkap	Kurang aktif bekerja, kurang paham teknis kerja lab, laporan sementara tidak lengkap	Aktif bekerja, paham teknis kerja lab, laporan sementara lengkap	Aktif bekerja, menguasai teknis kerja lab, laporan sementara lengkap	Aktif bekerja, menguasai teknis kerja lab, laporan sementara lengkap, membantu teman kelompok

**RUBRIK PENILAIAN LAPORAN PRAKTIKUM
LABORATORIUM PRODI BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS AL AZHAR INDONESIA**

Dimensi	Buruk (Skor 20)	Kurang (Skor 40)	Batas (Skor 60)	Memuaskan (Skor 80)	Sangat memuaskan (Skor 100)	Bobot Akhir
Cover	Format cover tidak sesuai, Judul acara/praktikum tidak sesuai, Penulisan nama asprak tidak lengkap	Format cover sesuai, Judul acara/praktikum tidak sesuai, Penulisan nama asprak tidak lengkap	Format cover sesuai, Judul acara/praktikum sesuai, Penulisan nama asprak tidak lengkap	Format cover sesuai, Judul acara/praktikum sesuai, Penulisan nama asprak benar dan lengkap tetapi tidak sesuai abjad	Format cover sesuai, Judul acara/praktikum sesuai, Penulisan nama asprak benar dan lengkap sesuai abjad	5%
Pendahuluan	Terdiri dari latar belakang dan tujuan tidak sesuai dengan praktikum, latar belakang kurang dari 10 kalimat dan sumber referensi tidak ada, penulisan tujuan tidak dalam bentuk paragraf	Terdiri dari latar belakang dan tujuan kurang sesuai dengan praktikum, latar belakang kurang dari 10 kalimat dan sumber referensi kurang dari 2 sumber, penulisan tujuan tidak berbentuk paragraf	Terdiri dari latar belakang dan tujuan yang sesuai dengan praktikum, latar belakang kurang dari 10 kalimat dan sumber referensi kurang dari 2 sumber, Penulisan tujuan dalam bentuk paragraf	Terdiri dari latar belakang dan tujuan yang sesuai dengan praktikum, latar belakang lebih dari sama dengan dari 10 kalimat dan sumber referensi lebih dari sama dengan 2 sumber, Penulisan tujuan dalam bentuk paragraf	Terdiri dari latar belakang dan tujuan yang sesuai dengan praktikum, latar belakang lebih dari sama dengan dari 15 kalimat dan sumber referensi lebih 2 sumber, Penulisan tujuan dalam bentuk paragraf	10%
Tinjauan Pustaka	Poin-poin materi pada praktikum tidak dibahas.	Hanya beberapa poin materi pada praktikum yang dibahas, tidak ada sumber referensi.	Hanya beberapa poin materi pada praktikum yang dibahas, sumber referensi kurang dari 3 sumber.	Setiap poin materi pada praktikum dibahas, sumber referensi lebih dari 3 sumber.	Setiap poin materi pada praktikum dibahas, sumber referensi lebih dari 5 sumber.	15%
Metodologi	Penulisan alat dan bahan tidak lengkap, Cara kerja tidak sistematis, MK Kimia gambar metode tidak lengkap, Penulisan cara kerja tidak menggunakan kalimat pasif, tidak dalam bentuk paragraf	Penulisan alat dan bahan kurang lengkap, Cara kerja tidak dibuat secara sistematis, MK Kimia gambar metode tidak lengkap, Penulisan cara kerja tidak menggunakan kalimat pasif, tidak dalam bentuk paragraf	Penulisan alat dan bahan kurang lengkap, Cara kerja dibuat secara sistematis, MK Kimia gambar metode tidak lengkap, Penulisan cara kerja tidak menggunakan kalimat pasif, dalam bentuk paragraf	Penulisan alat dan bahan benar tetapi kurang lengkap, Cara kerja dibuat secara sistematis, Khusus MK kimia cara kerja dibuat dalam bentuk gambar, gambar tidak lengkap, penulisan cara kerja menggunakan kalimat pasif dan dibuat dalam bentuk paragraf.	Penulisan alat dan bahan benar dan lengkap, Cara kerja dibuat secara sistematis, Khusus MK kimia cara kerja dibuat dalam bentuk gambar, penulisan cara kerja menggunakan kalimat pasif dan dibuat dalam bentuk paragraf.	10%

Hasil dan Pembahasan	Isinya tidak sesuai dengan hasil praktikum, Isi pembahasan tidak dibahas secara lengkap. Penulisan tidak diparafrase dan tidak sistematis, Tidak mencantumkan bodynote.	Isinya kurang sesuai dengan hasil praktikum, Gambar hasil praktikum tidak sesuai dengan keterangan gambarnya, Isi pembahasan kurang dibahas secara lengkap. Penulisan diparafrase namun tidak sistematis, Tidak mencantumkan bodynote.	Isinya sesuai dengan hasil praktikum, Gambar hasil praktikum tidak sesuai dengan keterangan gambarnya, Isi pembahasan dibahas cukup lengkap. Penulisan diparafrase dan sistematis, mencantumkan bodynote.	Isinya sesuai dengan hasil praktikum, Gambar hasil praktikum sesuai dengan keterangan gambarnya, Isi pembahasan dibahas cukup lengkap, Penulisan diparafrase dan sistematis, mencantumkan bodynote.	Isinya sesuai dengan hasil praktikum, Gambar hasil praktikum sesuai dengan keterangan gambarnya, Isi pembahasan dibahas secara lengkap, Penulisan diparafrase dan sistematis, mencantumkan bodynote.	40%
Kesimpulan	Isi kesimpulan tidak menjawab tujuan.	Isi kesimpulan kurang menjawab tujuan dan penulisan kurang dari 3 kalimat.	Isi kesimpulan menjawab tujuan dan penulisan kurang dari 3 kalimat.	Isi kesimpulan menjawab tujuan dan penulisan terdiri dari 3 kalimat.	Isi kesimpulan menjawab tujuan dan penulisan lebih dari 3 kalimat.	10%
Daftar Pustaka	sumber referensi kurang dari 5 sumber, penulisan daftar pustaka tidak sesuai dengan kaidah penulisan.	sumber referensi kurang dari 5 sumber, sumber referensi yang digunakan tidak 5/10 tahun terakhir, penulisan daftar pustaka tidak sesuai dengan kaidah penulisan.	sumber referensi lebih dari sama dengan 5 sumber, sumber referensi yang digunakan tidak 5/10 tahun terakhir, penulisan daftar pustaka kurang sesuai dengan kaidah penulisan.	sumber referensi kurang dari sama dengan 5 sumber, sumber referensi yang digunakan 5/10 tahun terakhir, penulisan daftar pustaka sesuai dengan kaidah penulisan.	sumber referensi lebih dari 5 sumber, sumber referensi yang digunakan 5/10 tahun terakhir, penulisan daftar pustaka sesuai dengan kaidah penulisan.	10%

**RUBRIK PENILAIAN REVIEW JURNAL DALAM PRAKTIKUM
LABORATORIUM PRODI BIOTEKNOLOGI
UNIVERSITAS AL AZHAR INDONESIA**

Dimensi	Buruk (Skor 20)	Kurang (Skor 40)	Batas (Skor 60)	Memuaskan (Skor 80)	Sangat memuaskan (skor 100)	Bobot Akhir
Cover	-	-	Format cover tidak sesuai dan atau tidak lengkap.	-	Format cover sesuai dan lengkap. Terdiri dari Judul, nama, NIM, Judul Praktikum yang diganti.	5%
Pendahuluan	-	Terdiri dari latar belakang dan tujuan kurang sesuai dengan topik yang dibahas, latar belakang kurang dari 7 kalimat dan sumber referensi tidak dikutip, penulisan tujuan tidak berbentuk paragraf	Terdiri dari latar belakang dan tujuan kurang sesuai dengan topik yang dibahas, latar belakang kurang dari 7 kalimat dan sumber referensi dikutip, Penulisan tujuan dalam bentuk paragraf	Terdiri dari latar belakang dan tujuan yang sesuai dengan topik yang dibahas, latar belakang lebih dari sama dengan dari 7 kalimat dan sumber referensi dikutip, Penulisan tujuan dalam bentuk paragraf	Terdiri dari latar belakang dan tujuan yang sesuai dengan topik yang dibahas, latar belakang lebih dari sama dengan dari 10 kalimat dan sumber referensi dikutip, Penulisan tujuan dalam bentuk paragraf	15%
Metodologi	-	Menjelaskan dan Membandingkan metodologi, dengan tidak jelas, mengutip dengan tidak rinci metode mana yang sedang dibahas.	Menjelaskan dan Membandingkan metodologi, dengan kurang jelas, mengutip dengan kurang rinci metode mana yang sedang dibahas.	-	Menjelaskan dan Membandingkan metodologi, dengan jelas, mengutip dengan rinci metode mana yang sedang dibahas.	10%

Hasil dan Pembahasan	-	Menjelaskan dan Membandingkan hasil ketiga jurnal dengan tidak jelas, mengutip dengan tidak rinci hasil mana yang sedang dibahas.	Menjelaskan dan Membandingkan hasil ketiga jurnal dengan kurang jelas, mengutip dengan kurang rinci hasil mana yang sedang dibahas.	-	Menjelaskan dan Membandingkan hasil ketiga jurnal dengan jelas, mengutip dengan rinci hasil mana yang sedang dibahas.	30%
Kesimpulan	Isi kesimpulan tidak menjawab tujuan mengulang kata-kata di hasil	Isi kesimpulan kurang menjawab tujuan, mengulang kata-kata di hasil dan penulisan kurang dari 3 kalimat	Isi kesimpulan menjawab tujuan, mengulang kata-kata di hasil dan penulisan kurang dari 3 kalimat	Isi kesimpulan menjawab tujuan, tidak mengulang kata-kata di hasil dan penulisan lebih dari 3 kalimat	Isi kesimpulan menjawab tujuan, tidak mengulang kata-kata di hasil dan penulisan lebih dari 4 kalimat	20%
Daftar Pustaka	-	-	Penulisan referensi salah/ tidak lengkap	-	Penulisan referensi lengkap	10%

DAFTAR ISI

PEMBUATAN KOMPOS.....	9
PEMBUATAN TAPE SINGKONG	11
MEMBUAT APLIKASI <i>ETHICAL CLEARANCE</i> UNTUK UJI <i>IN VIVO</i>	12
<i>HOMOLOGY SEARCHING</i> DAN PENJAJARAN URUTAN DNA.....	22
TEKNIK DASAR : PIPETTING DAN TIMBANGAN	23
HOMOGENITAS DAN SENTRIFUGASI.....	27

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
9. Ponsel berkamera

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 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 $\pm 1 \text{ cm}^2$ 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 dan siram kembali dengan air secukupnya.

10. Tutup ember dengan rapat dan rekatkan dengan selotip, serta hindari dari sinar matahari
11. Setelah 4 minggu, cek kematangan kompos. Apabila sudah berwarna hitam kecoklatan dan tekstur gembur, dapat langsung digunakan sebagai pupuk.
12. Rekam seluruh aktivitas pembuatan kompos, dari awal hingga akhir dengan menggunakan ponsel berkamera untuk menghasilkan video dengan durasi 10 menit.
13. Unggah video yang sudah dibuat ke youtube

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. Tempat sampah
4. Wadah plastik
5. Daun pisang
6. Ragi tape
7. Selotip
8. Panci
9. Kompor
10. Ponsel berkamera

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 plastik yang dilapisi daun pisang yang telah dibersihkan
4. Taburi dengan ragi tape secukupnya
5. Tutup singkong dengan daun pisang dan penutup wadah, serta rekatkan dengan selotip
6. Cek kematangan tape singkong setiap hari. Jika sudah empuk dan berbau harum, dapat langsung dikonsumsi
7. Rekam seluruh aktivitas pembuatan tape singkong, dari awal hingga akhir dengan menggunakan ponsel berkamera untuk menghasilkan video dengan durasi 10 menit.
8. Unggah video yang sudah dibuat ke youtube

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 coba, dibutuhkan izin etik sebelum penelitian tersebut dapat dilaksanakan. Izin etik ini dikeluarkan oleh suatu komisi etik yang akan memeriksa secara detail, apakah penelitian yang akan dilakukan tersebut aman bagi hewan coba, memiliki tingkat keberhasilan yang tinggi, berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, dan memperhatikan tingkat kesejahteraan hewan coba.

Alat dan Bahan:

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

Cara Kerja:

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

Protokol Penelitian

Pengaruh Medan Listrik Statis Frekuensi Menengah dan Intensitas Rendah terhadap Berat Badan Hewan Coba

A. Pendahuluan

Medan listrik arus bolak-balik mempunyai pengaruh yang luas pada jaringan tubuh. Pada frekuensi rendah (<1 kHz), medan listrik ini menstimulasi jaringan yang mudah tereksitasi, seperti jaringan saraf, otot, dan jantung. Tetapi, semakin meningkatnya frekuensi medan listrik di atas 1 kHz, efek stimulasi semakin berkurang. Medan listrik berfrekuensi menengah (10 kHz-1 MHz) bergerak terlalu cepat untuk dapat menstimulasi saraf dan otot, sehingga relatif tidak mempunyai pengaruh biologis (Kirson *et al.*, 2004), selain penjajaran partikel mikroskopis (Takashima & Schwan, 1985) dan rotasi sel (Dalton *et al.*, 2004; Mahaworasilpa *et al.*, 1996). Medan listrik homogen yang dikenakan pada sel, dapat menginduksi arus ion dan mengorientasikan molekul polar pada arah garis gaya medan listrik (Kirson *et al.*, 2007). Sementara, pada medan listrik nonhomogen, medan listrik mendorong molekul polar bergerak ke arah intensitas medan listrik terbesar, suatu proses yang disebut dielektroforesis (Ma *et al.*, 2011; Tsutsui & Ho, 2009).

Pada uji praklinis *Electro-Capacitive Cancer therapy* (ECCT) pada hewan model tumor, yaitu mencit dan tikus, diketahui paparan medan listrik ECCT dengan frekuensi menengah dan intensitas rendah, dapat menurunkan laju pertumbuhan tumor pada kelompok perlakuan, 10x lebih lambat dibandingkn kelompok kontrol. Selain pengukuran ukuran tumor, perlu dilakukan juga studi pengaruh medan listrik terhadap berat badan hewan coba, sebagai salahsatu parameter keamanan alat terapi kanker ini.

B. Tujuan

Penelitian ini ini adalah penelitian pilot untuk mengetahui pengaruh paparan medan listrik statis frekuensi menengah dan intensitas rendah terhadap berat badan hewan coba.

C. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan selama di Laboratorium Biologi Universitas Al Azhar Indonesia, Jakarta.

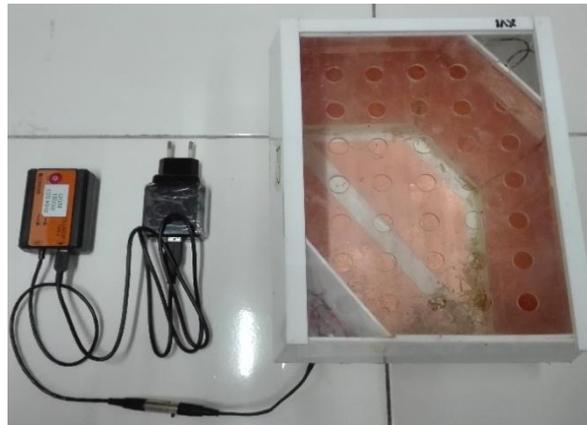
D. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan-bahan yang digunakan antara lain 32 ekor tikus (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) galur Sprague Dawley betina umur 5 pekan dengan bobot 50-80 gram, serbuk gergaji sebagai bedding, pelet AD II, akuades, dan mentimun sebagai substitusi air minum selama perlakuan.

2. Alat

Peralatan yang digunakan meliputi timbangan analitik, kandang tikus, dan alat ECCT. Alat terapi listrik statis ECCT ini diproduksi oleh PT. Ctech Labs Edwar Teknologi (www.c-techlabs.com) yang berlokasi di Tangerang, Banten. Alat ini telah memperoleh paten dari Direktorat Hak Atas Kekayaan Intelektual (HAKI) Departemen Hukum dan HAM Republik Indonesia pada tahun 2017 dengan nomor paten IDP000047826.



Gambar 1. Peralatan terapi medan listrik statis ECCT (dari kanan ke kiri): kandang ECCT, adaptor, dan osilator (Dok. Tim Peneliti ECCT 2017)

E. Desain Penelitian

Sebanyak 32 ekor tikus putih (*Rattus norvegicus* Berkenhout, 1769) betina galur Sprague Dawley dibagi dalam dua kelompok, yaitu kelompok control dan kelompok perlakuan. Pada kelompok kontrol, 16 ekor tikus dimasukan ke kandang ECCT tanpa dialiri listrik. Sementara pada kelompok perlakuan, 16 ekor tikus diterapi medan listrik dalam kandang ECCT selama 8 jam (2 x 4 jam) per hari selama 3 pekan.

Tabel 1. Rancangan kelompok kontrol dan perlakuan hewan uji

Kelompok	Perlakuan	Jumlah Tikus
Kontrol	Dalam kandang dan listrik off	16
Perlakuan	Dalam kandang dan listrik on	16
Jumlah		32

F. Cara Kerja

1. Aklimatisasi hewan coba

Hewan coba diaklimatisasi di dalam kandang ECCT selama 1 jam, agar tikus mengenali lingkungan barunya dan terhindar dari stress.

2. Penimbangan berat badan

Sebelum dan setelah tikus diterapi medan listrik ECCT, semua tikus ditimbang berat badannya dan datanya disimpan dalam *log book*.

3. Terapi ECCT pada Tikus

Terapi dilakukan dengan kandang ECCT menggunakan osilator yang menghasilkan gelombang elektrostatis dengan frekuensi menengah (150 kHz) dan intensitas rendah (18 Vpp) (*Voltage peak-to-peak*). Pada masing-masing kandang ECCT, dimasukkan 1 ekor tikus. Pada kelompok perlakuan, listrik pada osilator dinyalakan (*on*), sedangkan pada kelompok kontrol, tetap mati (*off*). Perlakuan medan listrik berlangsung selama 8 jam (2 x 4 jam) per hari selama 3 pekan. Waktu perlakuan diatur sebagai berikut: jam 8:00-12:00 dan jam 14:00-18:00. Pada setiap kandang, diberikan potongan mentimun, sebagai substitusi air minum, karena ujung botol air minum mengandung logam yang dapat menerima medan listrik, sehingga tikus beresiko mengalami shock atau kejutan listrik. Makanan dan minum tikus berupa pellet AD2 dan akuades yang diberikan *ad libitum*. Semua tikus ditimbang sebelum perlakuan dan selama perlakuan

dengan frekuensi 2x dalam sepekan. Digunakan *bedding* serbuk gergaji di dalam kandang ECCT yang diganti dengan frekuensi 2x dalam sepekan. Data penimbangan berat badan tikus disimpan di dalam *log book*. Setelah perlakuan selesai setiap harinya, tikus dikembalikan pada kandang komunal dan diberikan air dalam botol air minum. Setelah perlakuan selesai dalam 3 pekan dan tikus ditimbang untuk terakhir kalinya, tikus dikembalikan ke kandang komunal tanpa dieuthanasia.

Referensi

- Dalton C, Goater AD, Burt JPH, and Smith HV. Analysis of parasites by electrorotation. *J. Appl. Microbiol.* 2004; 96: 24-32.
- Kirson ED, Gurvich Z, Schneiderman R, *et al.* Disruption of cancer cell replication by alternating electric fields. *Cancer Res.* 2004; 64: 3288-3295.
- Kirson ED, Dbaly V, Tovarys F, *et al.* Alternating electric fields arrest cell proliferation in animal tumor models and human brain tumors. *PNAS.* 2007; 104(24): 10152-10157.
- Ma W, Shi T, Tang Z, Liu S, Malik R, and Zhang L. Highthroughput dielectrophoretic manipulation of bioparticles within fluids through biocompatible three-dimensional microelectrode array. *Electrophoresis.* 2011; 32: 494-505.
- Mahaworasilpa TL, Coster HGL, and George EP. Forces on biological cells due to applied alternating (AC) electric fields. II. Electro-rotation. *Biochim. Biophys. Acta.* 1996; 1281: 5-14.
- Takashima S, and Schwan HP. Alignment of microscopic particles in electric fields and its biological implications. *Biophys. J.* 1985; 47: 513-521.
- Tsutsui H, and Ho CM. Cell separation by non-inertial force fields in microfluidic systems, *Mech. Res. Commun.* 2009; 36(1): 92-103.

CONTOH

**FORMULIR APLIKASI PEMELIHARAAN DAN PENGGUNAAN HEWAN/
JARINGAN HEWAN UNTUK PENELITIAN/PENGUJIAN/PELATIHAN**

A. Informasi Umum

Nama Peneliti Utama :
Pendidikan :
Institusi :
Alamat :
Telepon :
Fax :
Email :
Co-investigator :
Tanggal mulai :
Tanggal selesai :
Judul Penelitian :

Tipe protocol : Baru Lama
Tipe penelitian : Riset Holding Pilot Lain-lain

B. Informasi Hewan yang Digunakan

Spesies :
Jenis kelamin :
Umur :
Jumlah :
Catatan :

(tolong diberi catatan, jika terdapat ketentuan dalam pengandangan atau perawatan, dimana etika penelitian harus diperhatikan)

C. Personal Training

Mohon disebutkan semua personel yang terlibat dalam prosedur penelitian yang melibatkan hewan/jaringan.

Nama	Pendidikan	Peranan dalam penelitian	Training dan pengalaman bekerja dengan hewan yang akan digunakan

D. Prosedur

1. Tempat persiapan dan prosedur yang melibatkan hewan atau jaringan:
2. Deskripsi non teknis pada penelitian dan manfaatnya:
3. Pemakaian adjuvant: Ya Tidak
Jika Ya, mohon mengacu pada aturan etika penelitian.
4. Induksi tumor: Ya Tidak
(Dengan menggunakan spesifik perlakuan dan atau penambahan sel tumor atau antibody monoclonal).
5. Pembatasan pemberian pakan: Ya Tidak
Jika Ya, berapa lama?
6. Pembatasan air minum: Ya Tidak
Jika Ya, berapa lama?
7. Pengambilan darah: Ya Tidak
Jika Ya, sebutkan rincian volume darah yang diambil, frekuensi pengambilan darah dan tempat pengambilan darah.

Volume	Frekuensi	Tempat pengambilan
8. Materi radioaktif atau sinar X (termasuk jika menggunakan fluoroscopy, dan lain-lain)
Jika Ya, harus melampirkan keterangan materi radioaktif atau sinar X yang digunakan.
9. *Biohazardous agents*: Ya Tidak
(*Biohazardous agents* antara lain agen infeksi, mutagen, carcinogen, DNA rekombinan, organ non manusia atau primate atau sel pada hewan).
Jika Ya, harus melampirkan keterangan materi biohazards.
10. Produksi antibody: Ya Tidak
Jika Ya, harus melampirkan keterangan produksi antibody.
11. Bedah: Ya Tidak

(Jika prosedur anda melibatkan bedah pada hewan, dalam keadaan hidup atau tidak hidup, anda harus mengacu pada aturan institusi dan lampirkan tindakan pembedahan dan perawatan pasca bedah yang akan dilakukan).

12. Pain dan Distress: Ya Tidak

(Prosedur yang melibatkan hewan harus menghindari atau meminimalkan ketidaknyamanan, menderita dan nyeri pada hewan).

- Jika hewan akan terkena prosedur yang mengakibatkan pain and distress, mohon diisi sedative atau analgesic yang akan digunakan pada Tabel di bawah ini.

Sedative/anastesi	Dosis/Kg berat badan	Cara pemberian	Frekuensi dan durasi

Analgesik	Dosis/Kg berat badan	Cara pemberian	Frekuensi dan durasi

- Jika hewan akan terkena prosedur yang mengakibatkan pain and distress, tetapi tidak akan digunakan sedative, anastesi atau analgesic, mohon dijelaskan alasannya.

13. Efek yang merugikan:

(Jika anda mengantisipasi efek yang merugikan pada prosedur anda atau stimuli yang anda berikan pada hewan, anda harus menjelaskan efek tersebut, seperti tidak bersuara dan tidak bergerak).

14. Prosedur yang akan dilakukan:

(Jelaskan semua prosedur, termasuk perlakuan, bedah, injeksi, uji tingkah laku, koleksi organ, end point untuk semua tahapan prosedur, efek merugikan yang mungkin timbul pada setiap tahapan prosedur, bagaimana hewan akan dimonitor, kapan hewan akan dieuthanasia, cara pemberian obat, dan disposisi akhir dari semua hewan di akhir prosedur).

15. Jumlah hewan:

(Jelaskan alasan jumlah hewan yang akan digunakan dan metode statistic yang akan digunakan).

16. Euthanasia:

(Jelaskan metode euthanasia pada hewan, termasuk agen yang digunakan, dosis, dan cara pemberian. Dijelaskan pula metode yang akan digunakan untuk memastikan bahwa hewan sudah dalam keadaan mati sebelum dilakukan pengambilan organ atau pembuangan karkas).

17. Model non-hewan:

(Jelaskan apakah model non-hewan telah dikembangkan dalam penelitian anda).

18. Pustaka yang digunakan:

(Cantumkan dua atau lebih sumber pustaka, disertai tanggal dan tahun pencarian, tahun dipublikasikan dan kata kunci).

Sumber pustaka	Tanggal pencarian	Tahun dipublikasikan	Kata kunci

19. Orang ahli:

(Berikan satu atau lebih orang yang ahli dengan prosedur yang anda gunakan untuk dapat dihubungi komite etik).

Nama	No. Telepon	Email

Pernyataan Peneliti Utama:

Saya menyetujui untuk mematuhi *the Guide for the Care and Use of Laboratory Animals and Public Health Service Policy on Human Care and Use Laboratory Animals* (1996). Saya telah memeriksa dan menyetujui semua peraturan di Laboartorium Biologi Universitas Al Azhar Indonesia dalam penggunaan hewan/jaringan hewan untuk tujuan pelatihan/penelitian/uji. Saya menyatakan bahwa prosedur tidak dilakukan duplikasi. Saya juga menyatakan jika hewan yang saya gunakan dalam prosedur mengalami nyeri atau distress, maka saya akan segera melakukan euthanasia atas rekomendasi dokter hewan atau orang ahli.

Peneliti Utama
Nama:

Tanggal
....

HOMOLOGY SEARCHING DAN PENJAJARAN URUTAN DNA

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 (*sequence alignment*), dan mendesain primer (*primer design*) untuk sintesis cDNA dan amplifikasi DNA.

Homology searching dilakukan untuk mencari sekuen yang memiliki kemiripan dengan sekuen yang diinput ke program pencarian tersedia secara gratis di berbagai server, seperti NCBI (*National Center for Biotechnology Information*). Dalam penjajaran sekuen untuk membuat primer, dipilih sekuen DNA dengan kemiripan yang tinggi (diatas 70%). Untuk mencari sekuen yang mirip (*homology searching*) digunakan program BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) di website NCBI. 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 urutan DNA PFP subunit-alpha dari 5 spesies tanaman yang berbeda, kemudian *copy paste* ke notepad dalam format fasta, seperti di bawah ini.
>Deskripsi sekuen DNA
Urutan DNA
4. *Copy paste* 5 urutan DNA PFP subunit-alpha di notepad ke program *multiple alignment*.
5. Tentukan daerah yang lestari (*conserved*) dari hasil penjajara sekuen.

TEKNIK DASAR : PIPETTING DAN TIMBANGAN

Pendahuluan

Dalam penelitian di laboratorium biologi, pipetting merupakan salah satu alat laboratorium yang digunakan untuk memindahkan suatu cairan/larutan/bahan/reagen/sampel. Teknik penggunaan pipetting harus benar-benar dipahami agar menghasilkan data yang sesuai dengan yang diharapkan. Di dalam laboratorium biologi, genetika dan molekuler penggunaan reagen yang digunakan biasanya dalam jumlah volume yang sangat sedikit berkisar antara 2 μ l-1000 μ l, sehingga teknik penggunaan pipetting menjadi kebutuhan utama.

Dengan menggunakan mikropipet yang tepat, memungkinkan mendapatkan hasil yang sesuai dan terhindar dari pemborosan reagen yang digunakan. Selain teknik pipetting yang tepat, teknik penimbangan juga menjadi faktor yang menentukan keberhasilan penelitian yang dilakukan di laboratorium. Teknik penimbangan juga diperlukan pemahaman cara penggunaan timbangan di laboratorium dengan menggunakan neraca analitik dengan tingkat ketelitian yang lebih teliti. Jenis cairan/larutan/bahan/reagen/sampel yang ditimbang akan menunjukkan hubungan volume dengan hasil pengukuran massa yang berbeda sesuai dengan jenis massa yang ditimbang.

Tujuan

- Memahami prinsip dasar teknik pipetting dalam mentransfer cairan sesuai dengan yang diharapkan.
- Memahami teknik pemilihan mikropipet yang digunakan dalam mentransfer cairan dengan ukuran yang ditentukan.
- Memahami teknik penimbangan yang baik.
- Memahami ketelitian dalam penimbangan.

Alat dan Bahan

1. Mikropipet (2-20 μ l, 10-100 μ l, 100-1000 μ l)
2. Tip (Berbagai Ukuran)
3. Mikrotube (200 μ l dan 1.5ml-2ml)
4. Timbangan analitik
5. Tissue
6. Beakerglass (50 ml, 100 ml)
7. Kertas label dan Aluminium Foil
8. Pipet serologi (1 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml)
9. Balp atau pipet aid
10. Aquades
11. Larutan Viskositas (Minyak)

Cara Kerja

A. Teknik Pipetting

1. Transfer aquades dan Larutan Viskositas di bawah ini dengan menggunakan mikropipet yang telah ditentukan dan masukkan ke dalam tube yang telah disediakan.
2. Lakukan proses transfer masing-masing volume aquades dan larutan viskositas tersebut diatas sebanyak 3 kali.
3. Timbang aquades yang sudah ditransfer ke dalam tube dan catat hasilnya.

B. Teknik Penimbangan

1. Sambungkan Aliran listrik terlebih dahulu
2. Pastikan timbangan dalam keadaan bersih dan stabil
3. Tekan Tombol on/off yang teletak pada sebelah kanan atau kiri timbangan
4. Biarkan posisi angka pada display menjadi 0.000
5. Jika angka tidak stabil Auto zero kan timbangan dengan menekan tombol zero
6. Letakan objek/wadah kosong yang akan ditimbang, kemudian catat hasil pengukurannya.
7. Kondisikan timbangan dalam keadaan autozero pada saat objek/wadah masih diatas timbangan.
8. timbang kembali objek/ wadah tersebut setelah di isi dengan aquades dan catat hasilnya.
9. Angkat objek/wadah tesebut dan kembalikan timbangan dalam keadaan zero (kondisi normal)
10. Timbang kembali objek/wadah yang telah diisi dengan aquades tadi secara keseluruhan dan catat hasil pengukurannya.
11. Hitunglah hasil pengukuran berat aquades yang di timbang setelah timbangan dikembalikan pada kondisi normal dan bandingkan hasilnya dengan pengukuran akuades pada kondisi timbangan outozero dengan wadah kosong diatasnya.

$$1 \text{ ml air} = 1 \text{ gram}$$

Data Pengamatan

Teknik Pipetting

A. Mikropipet (Aquadess)

No	Volume yang akan di pipet	Ukuran Mikropipet	Berat Tabung Kosong (gram)			Rata-Rata	Hasil Penimbangan Berat Aquades (gram)			Rata-Rata
			1	2	3		1	2	3	
1	1500 μl	100-1000 μl								
2	550 μl	100-1000 μl								
3	200 μl	100-1000 μl								
4	200 μl	20-200 μl								
5	57 μl	20-200 μl								
6	3 μl	2-10 μl								

B. Mikropipet (Larutan Viskositas)

No	Volume yang akan di pipet	Ukuran Mikropipet	Berat Tabung Kosong (gram)			Rata-Rata	Hasil Penimbangan Larutan Viskositas (gram)			Rata-Rata
			1	2	3		1	2	3	
1	1500 μl	100-1000 μl								
2	550 μl	100-1000 μl								
3	200 μl	100-1000 μl								
4	200 μl	20-200 μl								
5	57 μl	20-200 μl								
6	3 μl	2-10 μl								

C. Pipet Serologi (Aquadess)

No	Volume	Ukuran Pipet Serologi	Berat Tabung Kosong (gram)			Rata-Rata	Hasil Penimbangan Berat Aquades (gram)			Rata-Rata
			1	2	3		1	2	3	
1	18 ml									
2	10 ml									
3	6.5 ml									
4	1 ml									
5	0.5 ml									

Bahan Diskusi

1. Apakah ada perbedaan hasil penimbangan volume aquades setelah dilakukan transfer menggunakan mikropipet? Mengapa demikian?
2. Sebutkan prinsip dasar pada praktikum pipetting yang saudara temukan!
3. Apakah ada hubungan dari hasil penimbangan dengan ketepatan dalam pengukuran volume pipetting, Mengapa demikian?
4. Sebutkan prinsip dasar pada praktikum timbangan yang saudara temukan

HOMOGENITAS DAN SENTRIFUGASI

Pendahuluan

Selain teknik pipetting yang tepat maka sentrifugasi juga menjadi faktor 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.

Tujuan

- Memahami teknik penggunaan dan prinsip kerja sentrifus.
- Memahami teknik pemilihan kecepatan sentrifus yang tepat dalam memisahkan sampel tertentu
- Mempelajari Teknik Kerja Vortex mixer

Alat dan Bahan

1. Sentrifugasi
2. Beakerglass
3. Micropipet dan Tip
4. Microtube
5. Vortek Mixer
6. Aquades
7. NaCL
8. Kopi
9. Teh celup

Cara Kerja

Sentrifugasi

A) 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 8000xg 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**)

B) Teknik sentrifugasi

1. Ambil 1.5 ml sampel air tersuspensi dan kopi hitam, masukkan ke dalam tube ukuran 2 ml
2. Letakkan masing – masing mikrotube pada lubang yang ada pada rotor secara berhadapan sesuai dengan berat yang sama/volume yang sama

3. Sentrifugasi masing-masing sampel tersebut dengan menggunakan kecepatan yang berbeda (misal dengan kecepatan 5000 rpm, 6000xg dan 10.000 rpm)
4. Amati dan foto larutan sebelum disentrifugasi dan sesudah sentrifugasi
5. Catat volume supernatant yang diperoleh dan berapa kali sentrifugasi yang perlu dilakukan sampai supernatant terbebas dari pellet (bening)
6. Ulangi cara kerja di atas dengan sampel suspensi teh

Data Pengamatan

Hitunglah nilai konversi rpm ke dalam bentuk rcf

Tabel 1. Data Pengamatan Volume Supernatan setelah Sentrifugasi

RPM	RCF / xg	Lama waktu sentrifugasi (menit)	Volume supernatan NaCl 3 % (µL)	Volume supernatan kopi hitam (µL)	Volume supernatan suspensi teh (µL)
5000	...	5			
...	6000	3			
10.000	...	1			

Rumus konversi RPM ke RCF

$$g = (1.118 \times 10^{-5}) R S^2$$

Ket. :

g : Nilai RCF(*time gravity*)

R: Diameter rotor (cm)

S: Nilai rpm

Bahan Diskusi

1. Sebutkan prinsip dasar yang saudara temukan dalam praktikum sentrifugasi!
2. Bagaimana hasil pengamatan sampel sebelum dan sesudah di sentrifugasi?
3. Apakah ada perbedaan hasil supernatan yang didapat dari masing– masing sampel dengan masing-masing nilai rpm dan waktu yang digunakan?