



FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS GADJAH MADA

MODUL

KETERAMPILAN DASAR

LABORATORIUM

Disusun Oleh:
Agung Dian K
Prof. Donny Widiyanto

Daftar Isi

Daftar Isi	ii
BAB 1 : Masa Orientasi	1
1. Struktur dan Prosedur Laboratorium Umum	2
Gambaran Besar Laboratorium.....	2
Personil Laboratorium	3
Rutinitas Laboratorium	4
Hal Penting Pada Awal Memasuki Laboratorium	5
Aturan Dasar Laboratorium	7
2. Pengaturan dan Peralatan Laboratorium	10
Laboratorium Utama.....	10
Peralatan Dasar Area Kerja di Laboratorium.....	14
BAB 2. Perencanaan Kegiatan Laboratorium	18
1. Bagaimana Mengatur Penelitian	19
Dasar Pertimbangan	19
Rencana Penelitian	19
Interpretasi Data	25
Ketika Eksperimen Tidak Berjalan Dengan Baik	26
2. Notebook/logbook Penelitian	27
BAB 3. Pengelolaan Teknis Laboratorium.....	30
1. Pembuatan Reagen dan Buffer	31
Kebutuhan Umum	31
Preparasi dan Perhitungan	33
Menimbang dan Mencampur.....	35
Pengecekan pH	37
Sterilisasi Reagen dan Buffer	38
Penyimpanan Reagen dan Buffer	39
2. Penyimpanan dan Pembuangan	40
Pentingnya Penyimpanan	41
Aliquoting.....	41
Kulkas dan Freezer	43
Pembuangan Limbah Laboratorium	43
3. Bekerja tanpa kontaminasi.....	45
Peraturan teknik steril	44
4. Bakteri	46
Aturan Kerja	46
Pertumbuhan dan Pemeliharaan	47
Menghidupkan kembali kultur bakteri	48
Perhitungan Bakteri.....	48
Penyimpanan	49

5.DNA dan RNA	50
Tips.....	50
DNA	51
RNA	53
Daftar Pustaka	54

BAB 1

MASA ORIENTASI



1

STRUKTUR DAN PROSEDUR LABORATORIUM UMUM

GAMBARAN BESAR LABORATORIUM

Laboratorium adalah fasilitas khusus yang dirancang untuk kegiatan penelitian, eksperimen, dan analisis ilmiah. Laboratorium ini dilengkapi dengan beragam alat dan bahan, mulai dari peralatan dasar hingga teknologi canggih untuk riset lanjutan. Setiap laboratorium memiliki aturan ketat yang bertujuan menjaga keselamatan, efisiensi, dan akurasi hasil penelitian. Oleh karena itu, tata letak, pengaturan peralatan, dan prosedur kerja sangat diperhatikan agar lingkungan kerja tetap aman dan produktif.

Laboratorium umumnya merupakan bagian dari unit atau institusi yang lebih besar, seperti pusat penelitian atau departemen akademik. Misalnya, Agrotropical Laboratory Center (AGLC) menyediakan berbagai peralatan khusus dalam satu ruang yang dapat diakses oleh peneliti dari berbagai bidang. Laboratorium ini memiliki peralatan besar hingga alat yang memerlukan penanganan khusus dan protokol ketat, seperti PCR dan HPLC. Pengguna diwajibkan mengikuti prosedur penggunaan serta pelatihan keamanan untuk memastikan peralatan digunakan dengan benar, meminimalkan risiko kecelakaan, dan menjaga efektivitas pemakaian.



Gambar 1. Laboratorium terpadu

PERSONIL LABORATORIUM

Personil laboratorium terdiri dari berbagai individu yang memegang peran penting dalam memastikan kelancaran dan keamanan kegiatan di laboratorium, termasuk kepala laboratorium, laboran atau teknisi laboratorium, asisten penelitian, peneliti, dan mahasiswa yang berpartisipasi dalam eksperimen. Masing-masing memiliki tugas dan tanggung jawab sesuai dengan peran mereka.

Perlakukan semua anggota didalam lab dengan hormat seperti dengan kepala laboratorium

1. **Kepala Laboratorium:** Kepala laboratorium adalah pemimpin utama yang bertanggung jawab atas seluruh operasional laboratorium. Mereka menetapkan kebijakan, mengawasi penggunaan sumber daya, dan memastikan semua kegiatan berjalan sesuai dengan standar keamanan dan prosedur yang telah ditetapkan. Kepala laboratorium juga berperan dalam pengambilan keputusan terkait pengadaan alat, bahan, serta perencanaan penelitian jangka panjang di laboratorium.
2. **Laboran atau Teknisi Laboratorium:** Laboran atau teknisi laboratorium memiliki peran penting dalam menjaga kondisi dan ketersediaan peralatan serta bahan yang digunakan. Mereka memastikan bahwa setiap peralatan dalam kondisi baik, siap digunakan, dan sesuai dengan standar. Selain itu, teknisi bertanggung jawab dalam pemeliharaan rutin peralatan, kalibrasi, serta memonitor stok bahan habis pakai.
3. **Asisten Penelitian:** Asisten penelitian mendukung peneliti dalam pelaksanaan eksperimen dan pengumpulan data. Mereka sering terlibat dalam persiapan sampel, pengambilan data, dan analisis awal hasil eksperimen. Sebagai pendukung utama peneliti, asisten penelitian harus memiliki pemahaman yang kuat tentang teknik laboratorium yang digunakan serta mematuhi prosedur keselamatan.
4. **Peneliti dan Mahasiswa:** Peneliti dan mahasiswa yang berpartisipasi dalam laboratorium bertanggung jawab untuk mengikuti semua prosedur kerja yang berlaku serta menjalankan eksperimen dengan akurat dan aman. Mereka juga harus memahami aturan keselamatan laboratorium dan tahu cara menangani situasi darurat atau memberikan pertolongan pertama jika diperlukan.

Semua personil laboratorium harus bekerja sama dan memahami tanggung jawab masing-masing untuk menciptakan lingkungan kerja yang produktif dan aman.

Mengetahui posisi seseorang dalam laboratorium memberikan kita kemampuan untuk dengan tepat menunjuk individu yang paling sesuai untuk dijadikan sumber konsultasi, berdasarkan jenis persoalan yang dihadapi. Pendekatan ini tidak hanya melihat pada jabatan atau gelar formal, tetapi juga menghargai keahlian, keterampilan khusus, dan pengalaman praktis yang dimiliki setiap anggota tim laboratorium. Dengan cara ini, kita dapat mengidentifikasi siapa yang paling kompeten untuk menangani masalah tertentu, apakah terkait teknis peralatan, metodologi eksperimen, atau analisis data, dan pada akhirnya menciptakan kolaborasi yang lebih efektif dan produktif di lingkungan laboratorium.

RUTINITAS LABORATORIUM

Jam Kerja

Rutinitas laboratorium di setiap institusi dapat berbeda, namun umumnya memiliki jam kerja yang sudah ditetapkan untuk memastikan kegiatan di laboratorium berjalan dengan teratur dan aman. Di Fakultas Pertanian UGM, jam kerja laboratorium adalah **pukul 08.00 hingga 16.00**. Apabila ada kebutuhan untuk bekerja di luar jam kerja tersebut, maka izin khusus perlu diajukan (**surat ijin lembur**). Selain itu, apabila melakukan aktivitas di luar jam kerja, setiap individu wajib mematuhi peraturan khusus yang ditetapkan untuk memastikan bahwa prosedur keselamatan dan keamanan tetap terjaga. Langkah ini penting agar semua peralatan dan bahan yang digunakan tidak membahayakan, dan agar setiap kegiatan yang dilakukan tetap sesuai dengan standar operasional yang telah ditetapkan.

Sebelum masuk ke dalam laboratorium, sangat penting untuk mempersiapkan diri Anda dengan baik. Mengetahui dan memahami tujuan pekerjaan serta langkah-langkah yang akan dilakukan dapat membuat pekerjaan Anda lebih terstruktur dan efektif. Pastikan Anda mengenakan alat pelindung diri yang sesuai, menyiapkan bahan dan peralatan yang dibutuhkan, serta memverifikasi kondisi peralatan yang akan digunakan. Dengan persiapan yang matang, Anda akan dapat bekerja lebih efisien, menghindari kesalahan, dan menjaga keselamatan diri Anda selama berada di laboratorium.

Aturan Berpakaian

Sebelum masuk ke dalam laboratorium, sangat penting untuk memahami aturan berpakaian yang diterapkan demi menjaga keselamatan dan kenyamanan saat bekerja. Pakaian yang tepat tidak hanya melindungi Anda dari potensi bahaya, tetapi juga memastikan Anda dapat bergerak dengan leluasa tanpa terganggu.

Berikut adalah beberapa aturan berpakaian yang perlu diperhatikan sebelum bekerja di laboratorium:

1. **Pakaian Bebas namun Tepat:** Anda diizinkan mengenakan pakaian yang bebas, tetapi pastikan pakaian tersebut tidak mengganggu pergerakan saat bekerja.
2. **Hindari Pakaian Mahal:** Jangan memakai pakaian yang mahal atau bernilai tinggi, karena tumpahan bahan kimia atau kontaminasi dapat merusak pakaian tersebut.
3. **Kenakan Pakaian yang Nyaman:** Pilih pakaian yang nyaman dan praktis, serta sesuai dengan kegiatan di laboratorium.
4. **Gunakan Jas Laboratorium:** Pastikan untuk mengenakan jas laboratorium yang sesuai standar keselamatan, untuk melindungi tubuh dari bahan kimia atau kontaminasi lainnya.
5. **Hindari Pakaian Longgar atau Aksesori:** Hindari mengenakan pakaian yang terlalu longgar atau aksesori yang dapat terjatuh pada peralatan laboratorium.
6. **Kebersihan dan Keamanan:** Pastikan pakaian Anda bersih, tidak sobek, dan bebas dari kontaminasi bahan kimia atau bahan biologis.

HAL PENTING PADA AWAL MEMASUKI LABORATORIUM

Saat memasuki laboratorium, ada beberapa hal yang perlu dipersiapkan dan dipahami untuk memastikan pekerjaan Anda berjalan dengan lancar dan aman. Berikut adalah beberapa hal penting yang perlu diperhatikan pada awal memasuki laboratorium:

1. Tata Meja Kerja Anda dan Mulailah Eksperimen Segera

Setiap individu akan diberikan meja kerja khusus untuk menyiapkan bahan dan peralatan. Sebelum memulai eksperimen, pastikan meja kerja Anda tertata dengan rapi, seolah-olah Anda siap untuk segera memulai pekerjaan. Jangan menunggu hingga Anda memahami seluruhnya untuk memulai eksperimen. Anda akan belajar banyak sepanjang perjalanan penelitian. Mulailah dengan eksperimen yang lebih sederhana dan tingkatkan kesulitan eksperimen seiring dengan meningkatnya pemahaman dan keterampilan Anda.

2. Pematangan Penelitian yang Akan Dilakukan

Pastikan Anda telah mempersiapkan dengan matang tujuan, langkah-langkah eksperimen, bahan, dan peralatan yang diperlukan, serta memastikan bahwa semua prosedur keselamatan telah dipahami dan diterapkan dengan benar. Ini akan menjaga kelancaran eksperimen dan mengurangi risiko kesalahan atau kecelakaan.

3. Kenali Lingkungan Sekitar Anda

Luangkan waktu untuk mengenali lingkungan di sekitar Anda. Tanyakan jika Anda tidak tahu atau tidak familiar dengan sesuatu. Komunikasi yang baik antar penghuni laboratorium akan menciptakan atmosfer kerja yang positif, yang berdampak langsung pada produktivitas dan keselamatan kerja Anda.

4. Catat Informasi Penting

Segera setelah memasuki laboratorium, catat informasi terkait letak bahan kimia, peralatan yang akan digunakan, dan petunjuk keselamatan yang relevan. Ini akan membantu Anda mengetahui dengan jelas di mana bahan atau peralatan tersebut disimpan dan bagaimana cara menggunakannya dengan aman.

5. Bertanya Jika Tidak Tahu

Jangan ragu untuk bertanya jika ada yang tidak Anda pahami. Jangan bersikap sok tahu di laboratorium karena kesalahan bisa membuang waktu dan biaya. Jika Anda melakukan kesalahan, segera tanyakan kepada laboran atau senior di laboratorium dan catat kejadian tersebut agar Anda tidak mengulangnya di masa depan.

Poin-poin yang perlu diketahui pada minggu awal masuk laboratorium

Bahan Kimia: Ketahui lokasi penyimpanan bahan kimia, cara menimbanginya, serta prosedur pengaturan pH yang benar sesuai dengan eksperimen yang akan dilakukan.

P3K (Pertolongan Pertama pada Kecelakaan): Pahami lokasi kotak P3K dan cara penggunaannya jika terjadi kecelakaan atau cedera di laboratorium.

Glassware: Kenali jenis dan penggunaan peralatan kaca (glassware) yang tersedia, seperti labu, gelas ukur, beaker, dan pipet, serta cara membersihkannya setelah digunakan.

Notebook/Log Book: Siapkan dan catat semua kegiatan eksperimen dengan teliti dalam notebook atau log book, termasuk bahan yang digunakan, prosedur yang dilakukan, dan hasil yang diperoleh.

Pemadam Kebakaran: Pahami lokasi pemadam kebakaran dan cara penggunaannya dalam keadaan darurat. Pastikan Anda tahu jenis pemadam yang sesuai dengan jenis kebakaran yang mungkin terjadi (misalnya, kebakaran bahan kimia).

Pembuangan Bahan Kimia Tertentu: Ketahui prosedur pembuangan bahan kimia yang tidak terpakai atau bahan kimia berbahaya, serta pastikan untuk membuangnya sesuai dengan prosedur yang berlaku untuk mencegah kontaminasi atau bahaya lainnya.

Jam Kerja Laboratorium: Ketahui jam kerja laboratorium, serta aturan tentang bekerja di luar jam kerja dan prosedur yang harus diikuti jika Anda perlu bekerja setelah jam operasional.

ATURAN DASAR LABORATORIUM

Perilaku

1. Bertanya, Bukan Menyuruh

Selalu bertanya dengan sopan dan jelas jika Anda tidak memahami sesuatu, alih-alih menyuruh orang lain untuk melakukan tugas atau pekerjaan untuk Anda. Ini menciptakan suasana saling menghormati dan kerjasama yang lebih baik di laboratorium.

Jangan bertanya kepada seseorang yang sedang menulis atau sedang konsentrasi melakukan sesuatu di laboratorium. Buatlah keberadaan anda diketahui dan tunggu hingga dirasa mereka dapat menjawab dengan kondisi yang memungkinkan.

2. Tidak Berasumsi Apa Pun

Jangan berasumsi bahwa orang lain akan membantu Anda selama eksperimen. Setiap orang di laboratorium memiliki tanggung jawab masing-masing, jadi pastikan Anda memahami tugas dan prosedur yang harus dilakukan. Selain itu, jangan berasumsi bahwa semua informasi yang diberikan oleh orang lain benar tanpa memverifikasinya terlebih dahulu. Selalu cek kebenarannya untuk menghindari kesalahan.

3. Catat Semua Penjelasan Teknis

Selalu tulis setiap penjelasan teknis yang diberikan oleh orang lain, terutama jika itu berkaitan dengan waktu inkubasi, suhu inkubasi, lokasi reagen, cara penggunaan alat seperti autoclave, dan lainnya. Ini akan membantu Anda mengingat informasi penting dan mencegah munculnya pertanyaan yang sama di masa depan. Menulis catatan juga meningkatkan ketelitian dan memastikan kelancaran eksperimen.

4. Jangan Diskusikan Hasil Kerja Orang Lain di Luar Laboratorium

Hindari membahas hasil kerja orang lain dengan pihak luar laboratorium (misalnya, teman atau kolega dari luar lab), karena data atau hasil eksperimen tersebut mungkin bersifat penting atau bahkan rahasia. Diskusi hasil harus dilakukan dalam lingkungan yang tepat, yaitu di laboratorium, untuk menjaga integritas penelitian dan mencegah penyebaran informasi yang tidak seharusnya.

Penggunaan Bahan

1. Jangan Menggunakan Reagen atau Buffer Orang Lain Tanpa Izin

Selalu pastikan untuk meminta izin sebelum menggunakan reagen atau buffer milik orang lain. Reagen tersebut mungkin memiliki kualitas khusus, seperti sterilisasi atau RNase-free, yang sangat penting untuk hasil eksperimen yang akurat.

2. Segera Ganti atau Beli Reagen yang Hampir Habis

Jangan menunggu sampai reagen habis untuk membeli atau membuatnya. Persiapkan bahan kimia yang dibutuhkan dengan cukup waktu sebelumnya, agar eksperimen Anda tidak terhambat.

3. Perhatikan Setiap Hal yang Tidak Biasa di Sekitar Anda

Jika ada sesuatu yang tampak aneh atau tidak biasa di sekitar Anda, seperti potongan alat atau alarm peralatan yang berbunyi, jangan diabaikan. Hal tersebut mungkin merupakan tanda penting atau menunjukkan masalah yang perlu segera diatasi.

4. Jangan Mengubah atau Memindahkan Bahan, Reagen, atau Peralatan

Hindari memindahkan atau mengubah posisi bahan, reagen, atau peralatan dari letaknya semula tanpa alasan yang jelas. Setiap bahan dan peralatan memiliki penempatan tertentu untuk memudahkan akses dan mencegah kesalahan.

5. Jangan Meninggalkan Meja Kerja Dalam Keadaan Kacau

Pastikan untuk selalu menjaga meja kerja Anda tetap bersih. Setelah selesai bekerja, rapikan dan pastikan tidak ada bahan atau alat yang tertinggal. Kebersihan adalah bagian penting dari eksperimen yang sukses dan menjaga lingkungan laboratorium tetap aman.

6. Jika Melakukan Kesalahan, Segera Mengakui dan Melaporkan

Jika Anda melakukan kesalahan, jangan ragu untuk mengakuinya dan segera melaporkannya kepada pihak yang bertanggung jawab di laboratorium. Transparansi akan membantu mencegah masalah lebih lanjut dan memastikan perbaikan yang cepat.

Peraturan Keamanan

1. Umum

a. Dilarang keras merokok, makan, atau minum di dalam laboratorium.

Merokok, makan, atau minum di dalam laboratorium dapat membahayakan kesehatan Anda dan mengganggu sterilitas area kerja, karena partikel atau zat berbahaya mungkin masuk ke tubuh atau mencemari sampel eksperimen.

Laboratorium dapat ditutup jika ditemukan anggota yang makan di laboratorium. Berbahaya!

b. Gunakan jas laboratorium hanya di dalam lab, dan jangan dipakai di luar.

Jas laboratorium berfungsi untuk melindungi pakaian Anda dan mencegah kontaminasi dari luar; oleh karena itu, melepasnya sebelum keluar dari laboratorium adalah langkah penting untuk menjaga kebersihan dan keamanan.

- c. **Biasakan mencuci tangan dengan bersih sebelum dan sesudah bekerja di laboratorium.**

Mencuci tangan secara menyeluruh mencegah kontaminasi yang mungkin terbawa dari luar dan memastikan Anda tidak membawa zat kimia atau mikroorganisme keluar dari laboratorium.

- d. **Gunakan alas kaki yang menutupi mata kaki saat bekerja di laboratorium**

Sepatu yang menutupi mata kaki memberikan perlindungan ekstra dari tumpahan bahan kimia, pecahan gelas, atau benda tajam yang mungkin membahayakan kaki.

2. Keadaan Darurat

a. Mencatat Nomor Darurat Kampus

Pastikan Anda mencatat dan menyimpan nomor darurat kampus yang penting, seperti kontak keamanan kampus, kepala laboratorium, dan teknisi laboratorium. Mengingat nomor ini dapat mempercepat respons dalam situasi darurat dan membantu mendapatkan bantuan dengan segera.

b. Mengetahui Lokasi Alat Keselamatan

Ketahui lokasi alat keselamatan di laboratorium, seperti tabung pemadam kebakaran, kotak P3K, eyewash, dan safety shower. Memahami lokasi dan cara menggunakan alat-alat ini adalah langkah awal yang penting untuk menanggulangi kejadian darurat dengan cepat dan efektif.

c. Melaporkan Kecelakaan Kerja Segera

Jika terjadi kecelakaan, seperti terpapar bahan kimia, segera cuci area yang terkena dengan air mengalir sebanyak mungkin untuk mengurangi dampaknya. Setelah itu, laporkan insiden tersebut ke teknisi laboratorium atau pihak yang berwenang agar dapat dilakukan tindakan lanjut yang tepat dan cepat.

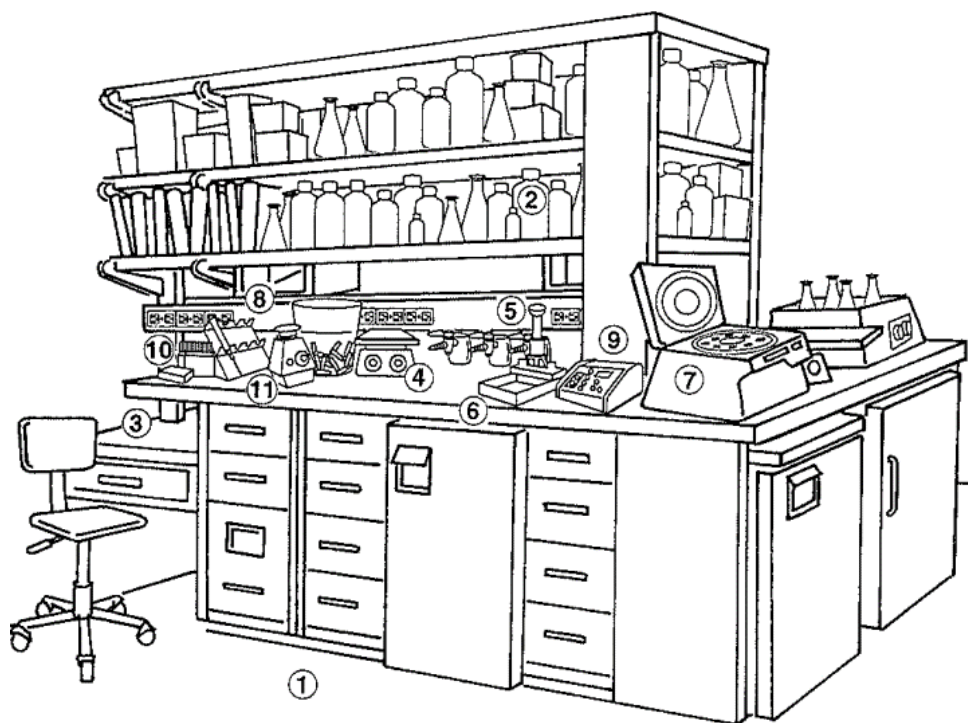
2

PENGATURAN DAN PERALATAN LABORATORIUM

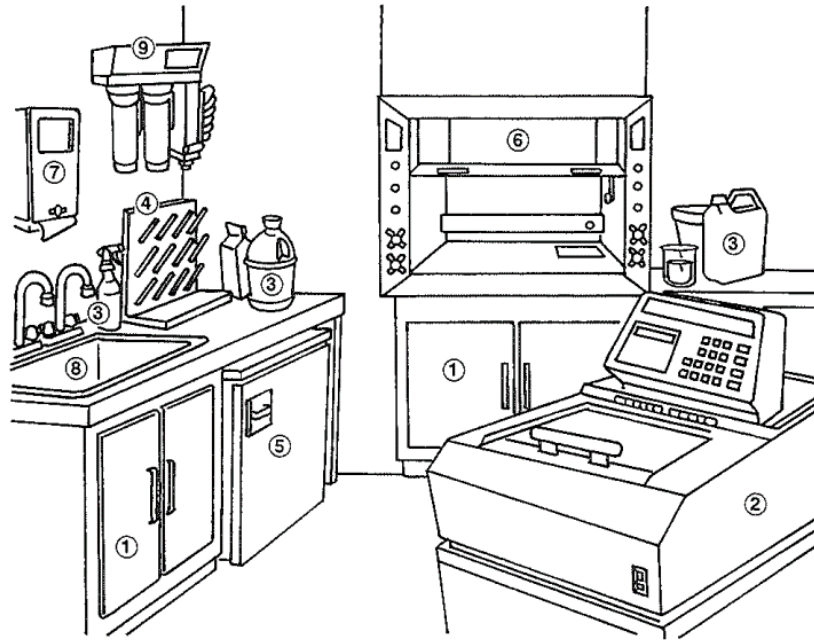
LABORATORIUM UTAMA

Ruang Kerja

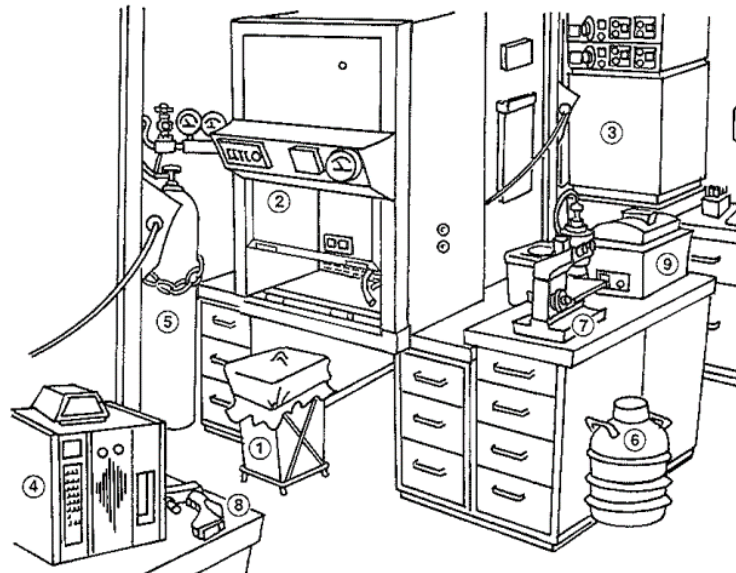
Setiap mahasiswa biasanya mendapatkan meja kerja pribadi di area tertentu yang akan menjadi "*your lab life*" selama berada di laboratorium. Di ruang kerja ini, tersedia beberapa peralatan dasar, seperti mikropipet, vortex, dan tips, yang sering digunakan untuk eksperimen sehari-hari. Meja kerja juga dilengkapi dengan laci-laci untuk menyimpan bahan dan perlengkapan pribadi, seperti pH paper, buku catatan, dan alat-alat kecil lainnya. Selain itu, di atas meja kerja, mahasiswa dapat menyimpan reagen, buffer, microtube, serta beberapa kit untuk ekstraksi atau isolasi yang mereka gunakan secara mandiri dalam penelitian.



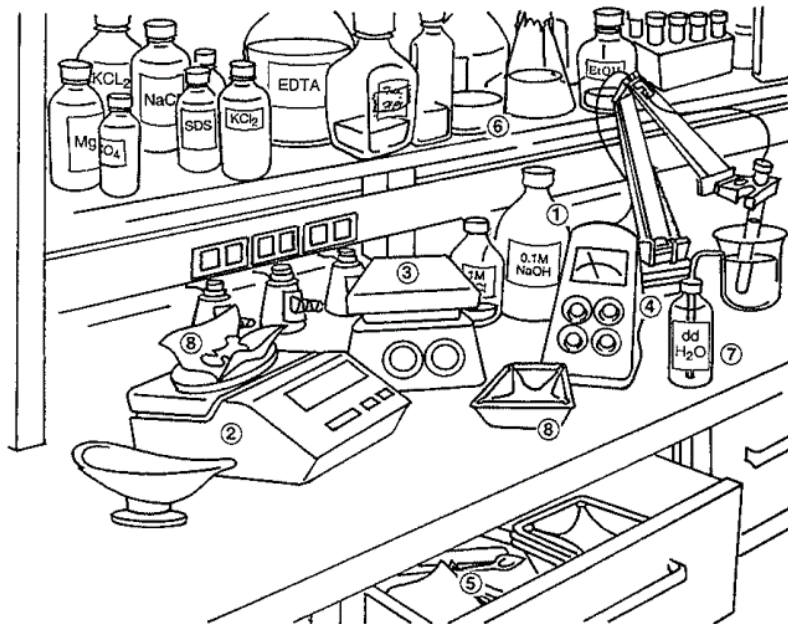
Gambar 2. Meja Kerja / area kerja di laboratorium. Terdapat laci, buffer dan reagen, hotplate, waterbath/microwave, microcentrifuge, pipet, tip boxes, vortex. (Barker, 1998).



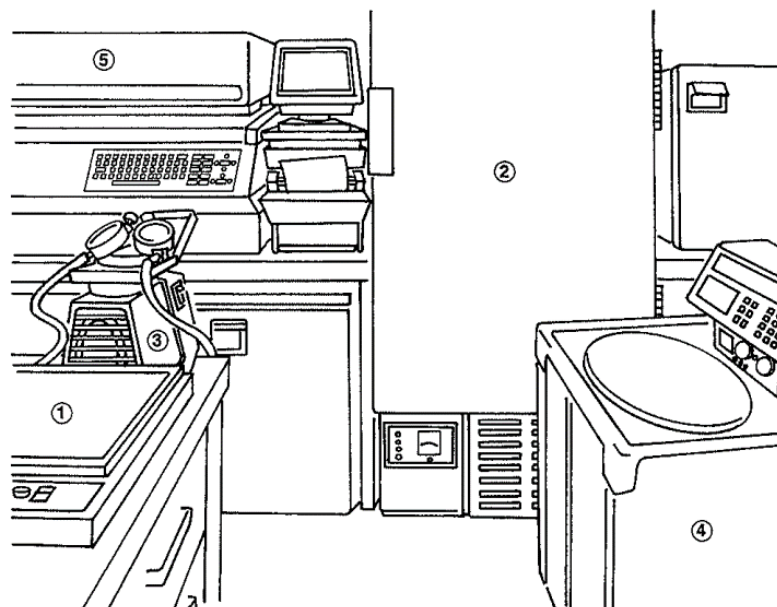
Gambar 3. Area mencuci, sentrifugasi, dan ruang asam (Barker, 1998).



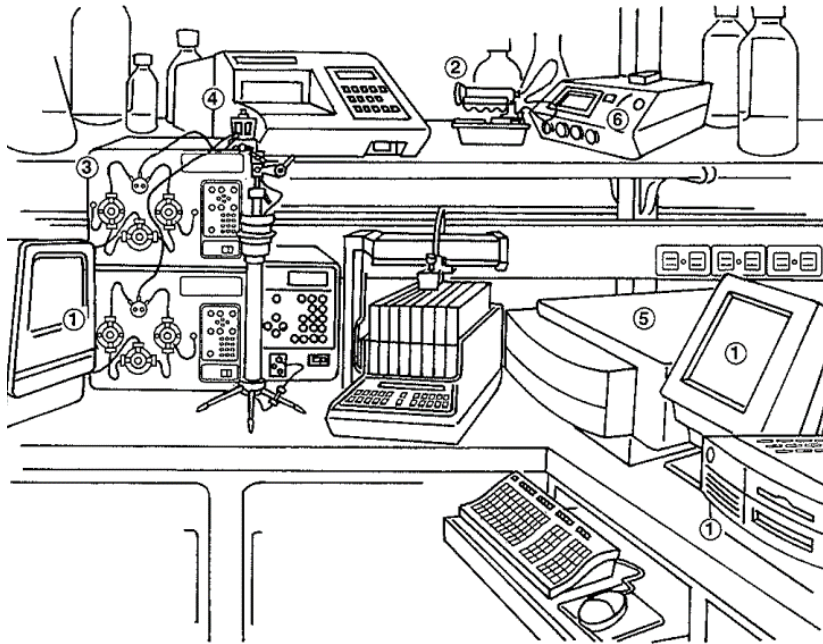
Gambar 4. Area kultur bakteri dan jamur. Biohazard waste disposal, biosafety cabinet/laminar, CO₂ inkubator, cell counter, gas silinder, pipet aids, waterbath, liquid tank (Barker, 1998).



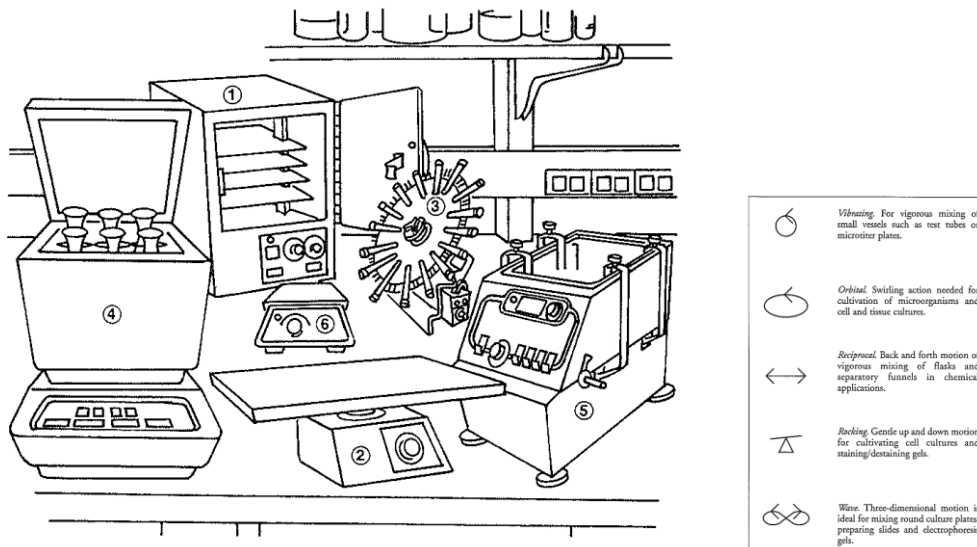
Gambar 5. Area pengukuran pH dan penimbangan. Asam dan basa, timbangan hotplate, striter, pH meter, spatula kecil, stock reagen, wight paper (Barker, 1998).



Gambar 6. Ruang peralatan umum. Gel dyer, Low temperatur frezeer (-70°C), ultrasentrifuge (Barker, 1998).



Gambar 7. Peralatan untuk menganalisis. Komputer, HPLC, plate reader, spektrofotometer (Barker, 1998).



Gmabar 8. Peralatan untuk mencampur. Inkubator shaker, nutator, roller wheel, shaking inkubator, stir plate, shaking waterbath (Barker, 1998).

Penggunaan Peralatan

1. Latihan Melalui Demonstrasi

Sebelum menggunakan peralatan, lakukan latihan melalui demonstrasi dari anggota lab berpengalaman. Misalnya, ketika belajar menggunakan pH meter, perhatikan prosedur penggunaan, termasuk buffer dan air yang digunakan, lalu catat setiap langkah dengan teliti. Prosedur serupa berlaku untuk semua peralatan lainnya di laboratorium.

2. Membersihkan dan Mengembalikan dengan Benar

Pastikan selalu mencuci, mengembalikan, dan mematikan peralatan dengan benar setelah digunakan. Jangan merubah pengaturan atau fitur apapun jika Anda tidak memahami fungsinya, dan jangan abaikan alarm atau lampu peringatan yang muncul pada peralatan karena ini dapat menandakan masalah.

3. Menggunakan Peralatan di Lab Lain

Jika Anda perlu menggunakan peralatan di laboratorium lain, bersikaplah sopan dan cek terlebih dahulu waktu yang tepat untuk menggunakannya agar tidak mengganggu pengguna lain. Pastikan untuk mematuhi aturan dan prosedur lab tersebut.

4. Mengenali Jenis Peralatan

Ketahui jenis peralatan yang ada di laboratorium, khususnya yang akan Anda gunakan. Cari tahu nama peralatan, apakah penggunaan alat tersebut berbayar atau tidak, dan jika ada, bacalah manual atau instruksinya. Pastikan Anda memahami lokasinya dan cara penggunaannya dengan tepat sebelum memulai.

Jangan menggunakan peralatan laboratorium tanpa mengetahui protokolnya / cara penggunaannya.

PERALATAN DASAR DI AREA KERJA LABORATORIUM

Area kerja laboratorium, peralatan dasar membantu para pengguna melaksanakan eksperimen dengan efisien dan aman. Beberapa peralatan yang sering ditemui mencakup:

1. Mikropipet

Alat ini digunakan untuk mengukur dan mentransfer volume cairan yang sangat kecil secara akurat, sering dalam kisaran mikroliter. Tersedia berbagai ukuran untuk menyesuaikan volume, seperti 1-10 μL , 10-100 μL , dan 100-1000 μL .

Prosedur Penggunaan Mikropipet

Berikut adalah tahapan yang benar dalam menggunakan mikropipet untuk mengambil larutan:

- (1). **Menyiapkan Alat dan Bahan:** Pastikan Anda sudah menyiapkan semua alat dan bahan yang diperlukan, seperti mikropipet, tips pipet, larutan yang akan dipipet, dan wadah tempat larutan akan dimasukkan.
- (2). **Memegang Mikropipet:** Pegang mikropipet dengan cara seperti Anda ingin meninju, dengan jari telunjuk dan jari tengah pada bagian pegangan utama. Ibu jari harus diletakkan pada bagian pengatur volume pipet.
- (3). **Memasang Tip:** Pasang tip yang sesuai dengan mikropipet yang digunakan. Sebagai contoh, jika menggunakan mikropipet ukuran 1000 μl (1 ml), gunakan blue tip, dan seterusnya. Pastikan tip terpasang dengan rapat agar tidak bocor selama proses pipetting.
- (4). **Mengatur Volume yang Diinginkan:** Pastikan volume yang diinginkan masuk dalam rentang ukuran mikropipet yang akan digunakan. Misalnya, jika akan mengambil 800 μl , bisa menggunakan mikropipet ukuran 1000 μl (1 ml). Ini adalah hal yang krusial, jangan mengatur volume mikropipet di luar rentangnya (lebih rendah atau lebih tinggi) karena dapat merusak mikropipet. Misalnya, mikropipet ukuran 10 μl - 50 μl tidak boleh disetel di bawah 10 μl atau di atas 50 μl , karena dapat menyebabkan kerusakan pada mikropipet.
- (5). **Mengambil Larutan:** Tekan tombol plunger (bagian yang bisa ditekan) hingga ke batas bawah (pada posisi pertama), kemudian masukkan pipet ke dalam larutan. Lepaskan tekanan pada tombol plunger secara perlahan untuk menarik larutan ke dalam tip. Jangan menekan tombol plunger hingga posisi kedua saat mengambil larutan.
- (6). **Memasukkan Larutan ke Wadah Baru:** Untuk memindahkan larutan ke wadah baru, tekan tombol plunger secara perlahan hingga posisi kedua untuk melepaskan larutan ke dalam wadah yang telah disiapkan.
- (7). **Membuang Tip:** Setelah proses pengambilan larutan selesai, lepaskan tip dari pipet dengan menekan tombol ejector. Tip akan terlepas secara otomatis tanpa perlu menyentuhnya secara langsung.
- (8). **Mengatur Kembali Volume ke Ukuran Maksimum Mikropipet:** Setelah penggunaan, pastikan untuk mengembalikan volume mikropipet ke posisi maksimum yang sesuai dengan ukuran mikropipet tersebut. Misalnya, jika ukuran maksimum mikropipet adalah 200 μl , kembalikan volume ke 200 μl setelah digunakan.
- (9). **Ganti Tip Jika Terkena Kontaminasi:** Jika tip pipet menyentuh permukaan lain selain larutan yang dimaksud, segera ganti tip dengan yang baru untuk mencegah kontaminasi.

2. Pipet

Alat dasar dalam laboratorium yang tersedia dalam berbagai jenis, antara lain:

- Pipet Volumetrik: Digunakan untuk mengukur satu volume tertentu dengan sangat presisi, cocok untuk larutan standar.
- Pipet Serologis: Digunakan untuk mengukur dan mentransfer cairan dalam kisaran volume yang lebih besar, biasanya dikombinasikan dengan pipet aids atau bulb.
- Pipet Pasteur: Pipet gelas yang digunakan untuk mentransfer volume kecil secara kasar; sering digunakan dalam biologi atau kimia organik.

3. Pipettor dan Pipet Aids

- Pipettor Otomatis: Memungkinkan pengguna mengatur dan mengukur volume dengan lebih cepat dan tepat. Pipettor ini sering digunakan dengan mikrotip.
- Pipet Aids (Bulb Pipet): Digunakan bersama pipet serologis untuk membantu menarik cairan dengan aman. Tersedia dalam beberapa desain seperti bulb (karet) atau pipet aids elektrik, yang lebih efisien dan akurat.

4. Vortex Mixer

Memungkinkan pencampuran larutan dalam tabung kecil secara merata dengan kecepatan tinggi.

Prosedur Penggunaan Vortex Mixer

Berikut adalah tahapan yang benar dalam menggunakan vortex mixer untuk mencampur larutan:

- (1). Tempatkan sakelar daya pada posisi TOUCH atau ON untuk mengaktifkan perangkat.
- (2). Putar pengontrol kecepatan ke pengaturan yang diinginkan.
- (3). Kepala pengocok akan mulai bergerak segera setelah sakelar daya dihidupkan.
- (4). Jika sakelar daya berada di posisi TOUCH, perangkat akan mulai beroperasi ketika sesuatu ditempatkan di kepala pengocok dan diberikan tekanan kecil untuk menekannya.
- (5). Begitu tekanan dilepaskan dan benda diangkat, pengocokan akan berhenti.
- (6). Putar tombol pengontrol kecepatan ke kecepatan yang diinginkan
- (7). Matikan sakelar utama untuk memutuskan daya.

5. pH Meter

Digunakan untuk mengukur tingkat keasaman (pH) dengan sangat presisi. Penggunaan alat ini harus disertai dengan kalibrasi rutin menggunakan buffer standar.

Prosedur Penggunaan pH meter

Berikut adalah tahapan yang benar dalam menggunakan mikropipet untuk mengambil larutan:

- (1). **Siapkan Larutan yang Akan Diuji pH-nya:** Masukkan larutan yang akan diukur pH-nya ke dalam gelas beaker untuk memudahkan proses pengukuran.
- (2). **Cuci Elektroda:** Cuci elektroda pH meter dengan air suling (akuades) untuk menghilangkan kontaminasi dari elektroda. Kemudian, bersihkan elektroda dengan tisu untuk menghindari sisa-sisa yang dapat memengaruhi hasil pengukuran.
- (3). **Masukkan Probe ke Dalam Sampel:** Celupkan probe pH meter ke dalam larutan yang akan diuji sambil mengaduknya secara perlahan. Pastikan elektroda terendam dengan baik dalam larutan untuk pembacaan yang akurat.
- (4). **Tunggu Pembacaan pH Stabil:** Tunggu beberapa saat hingga pH meter menunjukkan nilai pH yang stabil. Pastikan pembacaan pH tidak berubah atau fluktuatif sebelum mencatat hasilnya.
- (5). **Cuci Elektroda Kembali:** Setelah selesai mengukur, cuci elektroda menggunakan air suling (akuades) untuk membersihkannya dari sisa larutan yang diuji. Kemudian, bersihkan elektroda dengan tisu untuk menghindari kontaminasi silang.
- (6). **Pasang Penutup Elektroda:** Pasang kembali penutup elektroda berisi larutan khusus yang menjaga elektroda tetap dalam kondisi baik. Pastikan ujung elektroda selalu direndam dalam larutan kalium klorida (KCl) 3 M saat tidak digunakan, untuk menjaga keakuratan pengukuran dan memperpanjang umur elektroda.
- (7). **Tunggu Pembacaan pH Stabil:** Tunggu beberapa saat hingga pH meter menunjukkan nilai pH yang stabil. Pastikan pembacaan pH tidak berubah atau fluktuatif sebelum mencatat hasilnya.

6. Microtube dan Rak Microtube

Tabung dan rak ini memudahkan penyimpanan sampel dalam volume kecil (biasanya 0,5–2 mL).

7. Tips Pipet

Tips sekali pakai yang dipasangkan pada mikropipet untuk mencegah kontaminasi antar-sampel.

8. Alat Tulis dan Buku Catatan Lab (Log Book)

Membantu pencatatan prosedur, pengamatan, dan hasil percobaan yang penting sebagai dokumentasi resmi. Ini juga mencakup alat tulis lainnya seperti pena, pensil, dan spidol permanen yang digunakan untuk menulis catatan penting, serta kalender untuk mencatat jadwal eksperimen dan labeling (kertas dan selotip) untuk memberi tanda pada tabung sampel dan peralatan.

9. Wadah Limbah

Menampung limbah yang tidak berbahaya seperti tips pipet atau kertas bekas, membantu menjaga kebersihan area kerja.

BAB 2

Perencanaan Kegiatan Laboratorium



1

BAGAIMANA MENGATUR PENELITIAN

DASAR PERTIMBANGAN

Pertimbangan dalam Melakukan Penelitian Laboratorium

1. Tanamkan Pentingnya Penelitian

Selalu ingat bahwa penelitian ini memiliki nilai penting dan berpotensi memberi kontribusi besar pada ilmu pengetahuan, terutama dalam bidang yang Anda minati. Mempertahankan gambaran besar dalam pikiran akan membantu Anda menjaga integritas dan semangat selama proses penelitian, sekaligus memberi motivasi untuk tetap fokus pada tujuan jangka panjang.

2. Pentingnya Proses dalam Penelitian

Ingat bahwa proses penelitian atau eksperimen itu sendiri sangat berharga, tidak hanya hasil akhirnya. Hasil adalah buah dari proses yang penuh perhatian, sehingga setiap langkah, pengamatan, dan pengujian memiliki peran dalam membangun kesimpulan yang valid dan dapat diandalkan.

3. Selalu Hati-Hati dan Berpikir Kritis

Penelitian yang baik membutuhkan sikap yang teliti, penuh kehati-hatian, serta pola pikir kritis dalam setiap langkahnya. Mengatur diri untuk selalu mempertanyakan, mengevaluasi, dan berhati-hati saat menghadapi setiap prosedur dan hasil akan membantu Anda menghindari kesalahan dan memastikan integritas data yang diperoleh.

RENCANA PENELITIAN

LATARBELAKANG PENELITIAN

1. Definisikan atau Temukan Pertanyaan/Masalah

Identifikasi pertanyaan utama atau masalah penelitian yang ingin dipecahkan. Pastikan masalah ini jelas dan dapat dijawab dengan metode ilmiah.

Berpikir hati-hati sebelum melakukan eksperimen adalah hal yang penting untuk menghindari terbuangnya waktu dan bahan/reagen. Banyak peneliti pemula melakukan banyak hal tanpa persiapan yang cukup sehingga tidak mendapatkan hasil apa-apa.

2. Desain Eksperimen

- Tentukan variabel yang akan diukur, baik variabel bebas maupun variabel terikat.
- Siapkan kelompok kontrol untuk perbandingan.

- Tentukan jumlah sampel yang diperlukan untuk validitas hasil.
- Pilih metode statistik yang akan digunakan untuk menganalisis data.

3. Persiapan Eksperimen

- Buat protokol eksperimen yang jelas dan terperinci.
- Siapkan bahan-bahan yang akan digunakan, pastikan semua bahan dalam kondisi yang sesuai.
- Periksa kesiapan semua peralatan dan pastikan semuanya berfungsi dengan baik.

4. Lakukan Eksperimen

Pastikan waktu yang cukup untuk melakukan eksperimen sesuai rencana.

Catat semua hasil yang diperoleh, termasuk pengamatan atau kejadian yang tidak terduga.

5. Kumpulkan dan Analisis Data

Kumpulkan semua data yang telah diperoleh dan lakukan analisis menggunakan metode statistik yang telah ditentukan. Tinjau apakah data tersebut menjawab pertanyaan penelitian.

6. Ulangi Eksperimen

Ulangi eksperimen untuk memastikan validitas data. Pengulangan ini penting untuk memastikan bahwa hasilnya konsisten dan dapat diandalkan.

Fokus / jangan berbicara ketika sedang melakukan experiment yang rumit dan jangan ragu untuk meminta orang lain untuk tidak berbicara kepada anda pada saat itu. Beberapa peneliti menggunakan headset sebagai sinyal agar tidak diganggu / diajak bicara.

KONTROL

Secara teori, kontrol sampel menunjukkan apa yang terjadi jika tidak ada perlakuan yang dilakukan. Ini membantu menentukan apakah hasil eksperimen benar-benar memiliki arti atau hanya kebetulan. Dalam setiap eksperimen, diperlukan kontrol untuk setiap variabel yang berbeda.

Tipe-Tipe Kontrol:

1. Kontrol Eksperimental

Kontrol ini memastikan bahwa prosedur dasar eksperimen bekerja dengan benar. Misalnya, kontrol untuk DNA, RNA, atau protein, yang berfungsi untuk mengecek apakah langkah-langkah seperti ekstraksi atau deteksi molekul berjalan sesuai harapan.

2. Kontrol Perlakuan

Kontrol perlakuan digunakan untuk menilai apakah perlakuan tertentu memberikan efek nyata pada hasil. Terdapat dua jenis utama:

- **Kontrol Positif:** Digunakan untuk menunjukkan apa yang terjadi jika perlakuan memiliki efek. Ini berfungsi untuk memastikan bahwa hasil yang diharapkan dapat terlihat dengan jelas ketika perlakuan dilakukan.
- **Kontrol Negatif:** Digunakan untuk menunjukkan apa yang terjadi jika tidak ada perlakuan yang diberikan. Ini membantu mengidentifikasi apakah ada efek dasar atau bias yang muncul pada hasil tanpa adanya perlakuan.

Kontrol-kontrol ini penting dalam eksperimen untuk memberikan kepercayaan bahwa hasil yang diperoleh memang disebabkan oleh perlakuan yang diberikan, bukan oleh faktor eksternal lainnya.

STATISTIK

Poin penting statistik dalam analisis data adalah:

1. Uji Hipotesis

- Memverifikasi apakah perbedaan atau hubungan dalam data signifikan secara statistik, menggunakan metode seperti uji t, ANOVA, atau chi-square.
- Menentukan apakah hipotesis nol (tidak ada efek) bisa ditolak atau diterima berdasarkan hasil uji statistik.

Uji statistik mana yang harus saya lakukan? Cek data dan putuskan metode uji statistik mana yang sesuai dengan data dan tujuan interpretasi data hasil penelitian.

- Contoh:

Misalkan Anda ingin mengetahui apakah pemberian pupuk jenis A lebih efektif dibandingkan tanpa pupuk pada tanaman tomat.

- a) Anda dapat menggunakan **uji t** untuk membandingkan tinggi rata-rata tanaman tomat yang diberi pupuk dengan yang tidak diberi pupuk. Jika hasil uji menunjukkan nilai $p < 0,05$, Anda bisa menyimpulkan bahwa perbedaan tinggi tanaman signifikan secara statistik.

Nilai P atau probabilitas menunjukkan peluang mendapatkan hasil seperti yang diamati. Jika nilai P rendah maka hasil penelitian dianggap signifikan secara statistik. Peluang bahwa hasil tersebut terjadi hanya kebetulan sangat kecil.

2. Analisis Deskriptif

- Meringkas data untuk memberikan gambaran umum dengan menghitung mean (rata-rata), median (nilai tengah), standar deviasi (variabilitas), dan persentase.
- Memudahkan pemahaman pola atau distribusi data.
- Contoh:
Misalkan Anda mengukur berat badan tikus laboratorium dalam sebuah penelitian diet.

- a) Anda dapat menghitung **mean** (rata-rata) berat badan tikus setelah menjalani diet tertentu.
- b) **Standar deviasi** bisa digunakan untuk mengetahui seberapa tersebar data berat badan tersebut dari nilai rata-rata.
- c) Selain itu, Anda juga bisa menyajikan **persentase** dari tikus yang berhasil menurunkan berat badannya setelah menjalani diet.

3. Analisis Inferensial

- Menggunakan data sampel untuk membuat kesimpulan atau generalisasi mengenai populasi, dengan mempertimbangkan margin kesalahan.
- Melibatkan perhitungan interval kepercayaan untuk memastikan tingkat keyakinan pada kesimpulan yang diambil.
- Contoh:
Misalkan Anda melakukan survei pada 100 orang untuk mengetahui rata-rata jam tidur per malam di kalangan mahasiswa.
 - a) Dengan menggunakan data dari sampel 100 orang ini, Anda dapat memperkirakan rata-rata jam tidur mahasiswa di populasi yang lebih luas.
 - b) Interval kepercayaan (misalnya, 95%) dapat dihitung untuk memberikan rentang nilai rata-rata jam tidur yang bisa diandalkan untuk populasi, dengan mempertimbangkan tingkat ketidakpastian pada sampel yang kecil.

4. Validitas dan Reliabilitas Data

- Memastikan bahwa analisis dilakukan dengan metode statistik yang tepat sehingga hasilnya valid dan dapat diandalkan.
- Meminimalkan bias dan kesalahan dalam interpretasi data agar kesimpulan penelitian akurat.
- Contoh:
Misalkan dalam sebuah penelitian tentang efektivitas obat, Anda perlu memastikan bahwa pengukuran tekanan darah dilakukan dengan alat yang terkalibrasi dan prosedur yang konsisten.
 - a) Dengan menjaga konsistensi metode dan alat ukur, Anda dapat meningkatkan validitas (keakuratan) dan reliabilitas (konsistensi) data.
 - b) Hal ini penting agar hasil statistik yang diperoleh benar-benar mencerminkan efek obat tersebut dan dapat diandalkan untuk penelitian lebih lanjut.

PENGUNAAN PROTOKOL

Berikut adalah langkah-langkah penggunaan protokol/prosedur dalam eksperimen:

1. Siapkan Prosedur

- Cari dan siapkan prosedur eksperimen dari sumber yang terpercaya, seperti penelitian sebelumnya, buku panduan prosedur, atau artikel jurnal.
- Contoh:
Jika Anda akan melakukan isolasi DNA, Anda bisa mencari protokol dari artikel penelitian yang relevan, atau menggunakan protokol dari buku panduan molekuler seperti "Molecular Cloning: A Laboratory Manual".

Setiap eksperimen, tidak peduli seperti apa eksperimentnya, harus mempunyai prosedur kerja. Meskipun baru pertama kali melakukan eksperimen atau melakukan pengulangan eksperimen, kita harus mempersiapkan prosedurnya dan catat jika ada modifikasi yang dilakukan.

2. Tinjau Prosedur

- Baca dengan seksama untuk memahami langkah-langkahnya. Lakukan simulasi mental untuk memastikan setiap tahap masuk akal dan asumsi-asumsi yang ada sudah jelas dan benar.
- Contoh:
Setelah membaca protokol isolasi DNA, Anda menemukan bahwa prosedur tersebut melibatkan pencampuran larutan pelisis. Sebelum memulai eksperimen, coba bayangkan atau "pura-pura" melakukan pencampuran tersebut untuk memastikan semua alat yang dibutuhkan, seperti tabung mikro dan pipet, tersedia dan jumlahnya cukup.

3. Sesuaikan dan Tulis Ulang Prosedur

- Modifikasi protokol sesuai kebutuhan eksperimen Anda, lalu tulis ulang versi yang sudah disesuaikan ini agar lebih jelas dan sesuai dengan kondisi laboratorium Anda.
- Contoh:
Jika Anda menggunakan kit berbeda dari yang direkomendasikan dalam protokol asli, sesuaikan tahapan seperti waktu inkubasi dan suhu, lalu tulis ulang protokol agar sesuai dengan kit yang Anda miliki. Jika prosedur aslinya menyarankan inkubasi pada 37°C selama 1 jam, tetapi kit baru menyarankan 30 menit pada 42°C, tulis kembali langkah-langkah sesuai ketentuan kit.

Jika ada pertanyaan, segera konfirmasi dengan orang yang dianggap tau di laboratorium tersebut atau dosen pembimbing atau orang yang mempunyai protokol tersebut.

4. Persiapan Alat dan Bahan

- Siapkan semua alat dan bahan sesuai prosedur, dan pastikan semua sudah tersedia sebelum memulai eksperimen.
- Contoh:
Untuk eksperimen PCR (Polymerase Chain Reaction), pastikan semua bahan seperti primer, template DNA, buffer, dan enzim Taq sudah disiapkan di meja kerja sebelum memulai. Siapkan juga peralatan seperti pipet dan tabung PCR yang telah bersih.

5. Ikuti Prosedur Saat Eksperimen Pertama

- Laksanakan eksperimen dengan mengikuti protokol yang telah disusun untuk pertama kalinya guna memahami alur kerja secara langsung.
- Contoh:
Saat pertama kali melakukan PCR, ikuti setiap langkah dalam protokol tanpa perubahan, seperti memasukkan jumlah bahan yang tepat dan menggunakan siklus suhu yang disarankan. Catat setiap kejadian atau kendala selama proses berlangsung, seperti kemungkinan kontaminasi atau ketidakstabilan suhu.

6. Evaluasi dan Modifikasi Prosedur

- Berdasarkan pengalaman, lakukan evaluasi terhadap prosedur tersebut. Catat dan terapkan perbaikan yang akan memudahkan atau meningkatkan efektivitas eksperimen, dan tulis ulang protokol untuk digunakan di eksperimen berikutnya.
- Contoh:
Jika Anda melihat bahwa amplifikasi DNA dalam PCR kurang efisien pada suhu yang disarankan, coba lakukan penyesuaian suhu denaturasi atau waktu inkubasi. Catat hasilnya, dan jika berhasil, tulis ulang protokol dengan perubahan tersebut untuk eksperimen berikutnya, agar prosedur menjadi lebih efisien dan sesuai dengan kondisi aktual di laboratorium Anda.

Jangan khawatir jika tidak berhasil atau tidak melakukan dengan benar pada awal eksperimen. Semua orang di laboratorium pernah mengalami hal yang sama. Yang terpenting adalah belajar dari kesalahan, menganalisis apa yang salah, dan mencoba lagi. Lakukan dengan tekun dan konsisten, karena keberhasilan dalam eksperimen sering kali datang setelah upaya yang berulang dan dedikasi.

INTERPRETASI DATA

Interpretasi data penelitian adalah langkah penting dalam menganalisis hasil eksperimen dan memahami apakah tujuan penelitian tercapai. Berikut adalah panduan untuk memeriksa dan menganalisis data penelitian secara sistematis:

1. Apakah eksperimen bekerja dengan baik?

- Cek kontrol yang digunakan (kontrol negatif dan positif).
- Periksa protokol eksperimen untuk memastikan semua langkah diikuti dengan benar.
- Pastikan kontrol yang digunakan dapat memberikan hasil yang diharapkan untuk memvalidasi eksperimen.

2. Hasil apa ini?

- Bandingkan hasil eksperimen dengan data kontrol untuk mengevaluasi apakah perlakuan yang diberikan menimbulkan efek.
- Tentukan seberapa besar efek yang dihasilkan oleh perlakuan tersebut.
- Jika ada perubahan, apakah itu signifikan secara statistik atau hanya kebetulan?

3. Apa arti dari eksperimen ini?

- Tentukan apakah hasil eksperimen sesuai dengan ekspektasi atau hipotesis yang diajukan sebelumnya.
- Apakah data yang diperoleh sesuai dengan tujuan eksperimen? Jelaskan apakah hasilnya logis dan mendukung atau menentang hipotesis.

4. Lakukan konfirmasi data dengan orang yang berkompeten:

- Diskusikan hasil penelitian dengan rekan yang lebih berpengalaman atau dengan ahli di bidang tersebut.
- Dapatkan masukan untuk memastikan interpretasi data Anda tepat dan tidak ada bias dalam penafsiran.

5. Apakah hasil bisa diulang?

- Uji keberlanjutan hasil dengan mengulang eksperimen menggunakan prosedur yang sama.
- Jika eksperimen dapat diulang dengan hasil yang serupa, ini menunjukkan bahwa temuan tersebut dapat dipercaya.

Dengan mengikuti langkah-langkah ini, Anda dapat memastikan bahwa data eksperimen dianalisis secara kritis dan dapat diandalkan, serta memastikan kesimpulan yang diambil sesuai dengan fakta yang ada.

Hanya dengan melakukan interpretasi data sebanyak mungkin menjadi jalan anda untuk belajar melakukan hal tersebut. Anda akan mengembangkan perasaan untuk mengartikan sebuah data eksperimen dan untuk apa data tersebut dibutuhkan. Pengalaman dengan banyak eksperimen akan membuat anda lebih “tau” ketika sesuatu itu bekerja dengan baik atau tidak. Lakukan sebanyak mungkin eksperimen.

KETIKA PENELITIAN TIDAK BERJALAN DENGAN BAIK

Ketika eksperimen tidak berjalan dengan baik, penting untuk tetap tenang dan mengambil langkah sistematis untuk mengidentifikasi dan memperbaiki masalah. Berikut adalah strategi yang dapat diterapkan:

1. Evaluasi Prosedur Eksperimen

- **Cek ulang prosedur:**
 - Pastikan semua langkah eksperimen dilakukan sesuai protokol.
 - Gunakan buffer, bahan, dan alat yang sesuai serta dalam kondisi baik.
- **Catatan eksperimen:**
 - Tinjau catatan sebelumnya untuk memastikan tidak ada langkah yang terlewat.
 - Jika ada tahapan atau bahan yang dihilangkan, pastikan alasan dan dampaknya dipahami.

2. Lakukan Eksperimen Ulang

- **Belajar dari kesalahan:**
 - Kesalahan pada tahap awal eksperimen adalah hal yang wajar.
 - Identifikasi bagian yang bermasalah dan perbaiki langkah tersebut.
- **Uji ulang eksperimen:**
 - Ulangi eksperimen secara menyeluruh dengan memperhatikan semua detail.

3. Uji Bagian Tertentu

- Jika tidak perlu mengulang seluruh eksperimen, fokus pada bagian yang bermasalah saja.
 - Misalnya, tambahkan kontrol positif atau negatif yang belum digunakan sebelumnya.
 - Cek tahapan kritis seperti inkubasi atau reaksi kimia tertentu.

4. Lakukan Eksperimen Kecil untuk Identifikasi Masalah

- Setelah menduga kemungkinan penyebab masalah, lakukan eksperimen kecil (pilot test).
 - Contoh: Uji konsentrasi buffer, suhu, atau durasi tertentu.
 - Tujuannya adalah mengisolasi variabel yang menyebabkan kesalahan.

5. Jika Masalah Tidak Ditemukan

- **Konsultasi:**
 - Tanyakan kepada rekan kerja, supervisor, atau ahli yang relevan untuk mendapatkan perspektif baru.
- **Ulangi dengan sabar:**
 - Jika tidak ada jawaban yang jelas meskipun sudah bertanya dan mencari, ulangi eksperimen.
 - Pengulangan sering kali membantu menemukan masalah tersembunyi.

Catatan Penting:

- *Dokumentasikan setiap perubahan yang dilakukan selama proses evaluasi.*
- *Gunakan pendekatan sistematis untuk memastikan bahwa hasil eksperimen konsisten dan dapat dipercaya setelah masalah teratasi.*
- *Jangan ragu meminta bantuan dan mencari literatur tambahan jika diperlukan.*

2

NOTEBOOK/LOGBOOK LABORATORIUM

Catatan tersebut adalah rekaman permanen dari pekerjaan Anda dan harus mencakup semua pekerjaan terkait penelitian yang dilakukan. **Buku catatan** adalah catatan sistematis lengkap dari pekerjaan/studi/proyek secara rinci. Beberapa poin penting antara lain:

- **Catatan Permanen dan Sistematis:** Buku catatan harus menjadi rekaman permanen dan sistematis dari semua pekerjaan penelitian, dicatat secara lengkap dan teratur.
- **Buku Lapangan untuk Penggunaan Harian:** Buku lapangan/laboratorium digunakan untuk mencatat kegiatan harian di laboratorium, termasuk perhitungan kasar, jadwal, dan memo.
- **Referensi Bagi Peneliti Lain:** Buku ini harus dijaga dengan baik, karena bisa menjadi referensi berharga bagi peneliti berikutnya.
- **Kepemilikan dan Penyerahan:** Buku-buku ini adalah milik laboratorium dan tidak boleh dibawa pulang. Saat sudah selesai penelitian, buku harus diserahkan kepada penanggung jawab laboratorium atau ditempatkan pada tempat tertentu di laboratorium.

Tabel 1. Keuntungan dan kekurangan semua jenis lab notebook/logbook

Jenis	Keuntungan	Kekurangan
Buku catatan	- Tidak ada lembar yang hilang - Bukti terhadap penipuan	Eksperimen dicatat sesuai urutan pelaksanaan, tidak berurutan secara logis
Lembar lepas/map	- Dapat dikelompokkan berdasarkan eksperimen, menjaga urutan - Mudah mencatat data selama eksperimen	Lembar bisa hilang, sulit membuktikan keaslian
Komputer/spreadsheet	- Mudah dibaca - Mudah melakukan perhitungan	Data bisa hilang, sulit membuktikan keaslian

Poin penting buku catatan

Catatan dibuat setiap melakukan penelitian harus terdapat:.

1. **Tanggal mulai eksperimen:** Cantumkan tanggal lengkap (hari, bulan, dan tahun) di setiap halaman, termasuk pada halaman lanjutan

2. **Judul eksperimen:** Buat judul eksperimen secara singkat. Contohnya, “isolasi DNA bakteri dari tanaman pisang” atau “Efek penambahan konsorsium bakteri endofit pada tanaman duckweed.”
3. **Pernyataan tujuan singkat:** Tambahkan penjelasan singkat untuk memperjelas judul. Misalnya, untuk judul di atas, Anda dapat menambahkan “Untuk mendapatkan DNA bakteri dari tanaman pisang ” atau “Membandingkan perlakuan bakteri dengan tanpa perlakuan pada tanaman duckweed.”
4. **Deskripsi eksperimen:** Tuliskan protokol eksperimen di buku sebelum memulai melakukan penelitian, dan lakukan perubahan sesuai kebutuhan selama eksperimen berlangsung. Sertakan referensi protokol yang digunakan, misalnya artikel jurnal atau protokol yang Anda kembangkan sendiri.
5. **Pengamatan:** Pengamatan berkala atau kuantitatif maupun kualitatif. Pastikan setiap perubahan atau fenomena yang terjadi selama eksperimen dicatat dengan detail.
6. **Hasil:** Bagian ini harus memuat hasil akhir eksperimen sesuai dengan tujuan, disusun dalam tabel dan gambar yang valid secara statistik. Semua data mentah, termasuk foto gel, cetakan, grafik, otoradiograf, dll. jika ada, harus ditempelkan pada buku catatan. Tulis rangkuman singkat dari setiap data yang didapatkan.
7. **Kesimpulan:** Interpretasikan data hasil yang diperoleh dengan menghubungkannya dengan prinsip eksperimen yang telah dilakukan dan buat rencana untuk langkah berikutnya segera.

Poin-poin berikut perlu diperhatikan:

1. *Jangan merobek halaman dari buku lapangan. Nomori halaman buku*
2. *Gunakan bulpen/bolpoint dalam menulis buku catatan, jangan menggunakan pensil.*
3. *Jangan menulis ulang jika ada kesalahan dalam pencatatan; coret dengan membuat dua garis di atasnya dan tulis kata yang benar.*
4. *Tetap tulis seperti apapun data yang didapatkan. Jangan hapus data apapun karena diperlukan dalam tahap evaluasi penelitian untuk menentukan langkah kedepan yang harus dilakukan setelahnya.*

Mencatat dengan jelas dan akurat semua eksperimen yang dilakukan di laboratorium adalah kewajiban.

BAB 3

Pengelolaan Teknis Laboratorium



1

PEMBUATAN REAGEN DAN BUFFER

Penelitian sering kali sangat bergantung pada kualitas reagen yang digunakan, termasuk buffer. Buffer adalah larutan yang dirancang untuk mempertahankan kestabilan pH dalam berbagai kondisi, sehingga esensial dalam mendukung reaksi enzimatik, ekstraksi sel, atau prosedur biokimia lainnya. Setiap reaksi memiliki pH optimum yang berbeda-beda, tergantung pada jenis enzim, sel, atau molekul yang terlibat.

Oleh karena itu, pemilihan buffer yang tepat dengan pH yang sesuai menjadi faktor kunci dalam memastikan efisiensi dan reproduktivitas eksperimen. Penggunaan buffer berkualitas rendah atau yang tidak sesuai dengan kondisi reaksi dapat menyebabkan gangguan dalam proses biologis, menurunkan aktivitas enzim, atau bahkan menghasilkan data yang tidak akurat. Dengan demikian, memastikan kualitas dan kesesuaian buffer menjadi langkah awal yang penting dalam perencanaan dan pelaksanaan penelitian.

KEBUTUHAN UMUM

1. Tentukan Kebutuhan Anda

- Periksa protokol penelitian secara menyeluruh dan buat daftar lengkap reagen atau buffer yang diperlukan.
- Identifikasi reagen dengan spesifikasi tertentu (misalnya, konsentrasi, pH, atau tingkat kemurnian).

2. Estimasi Volume Reagen yang Dibutuhkan

- Hitung volume yang diperlukan berdasarkan protokol, lalu buat lebih dari yang dibutuhkan untuk mengantisipasi kesalahan atau kebutuhan tambahan.
- Sebagai contoh, jika protokol membutuhkan 10 mL larutan 1M NaCl, buatlah 100 mL untuk memastikan ada cadangan.

3. Periksa Stok Laboratorium

- Identifikasi bahan kimia yang sudah tersedia di laboratorium.
- Catat reagen atau bahan yang tidak ada, dan segera siapkan rencana untuk membelinya.

4. Peroleh Bahan yang Tidak Tersedia

- Cari bahan kimia yang dibutuhkan di laboratorium lain (jika memungkinkan) atau beli dari pemasok terpercaya sesuai kebutuhan penelitian.

Keamanan Bahan Kimia

1. Kenali Bahaya Bahan Kimia

- Gunakan *Material Safety Data Sheets* (MSDS) untuk memahami risiko dari setiap bahan kimia yang digunakan.

- Perhatikan informasi terkait toksisitas, korosivitas, reaktivitas, dan pengaruh terhadap kesehatan.



Gambar. Material Safety Data Sheet (MSDS)

2. Ikuti Rekomendasi Penanganan

- Gunakan alat pelindung diri (APD) seperti sarung tangan, pelindung mata, dan jas laboratorium.
- Ikuti prosedur penyimpanan yang direkomendasikan (misalnya, suhu tertentu atau tempat penyimpanan khusus).

Jenis Air yang Digunakan

1. Tap Water (Air Keran)

- Digunakan untuk keperluan umum seperti mencuci alat laboratorium. Tidak disarankan untuk membuat larutan.

Selalu siapkan stok air steril, dan air reagen (reagen grade water) untuk membuat / mengencerkan buffer dari concentrated buffer

2. Laboratory Grade Water (Air Laboratorium)

- Air dengan kualitas yang cukup baik untuk kebutuhan pembersihan lanjutan atau larutan non-kritikal.

3. Reagent Grade Water (Air Reagen)

- Digunakan untuk membuat larutan kimia biasa. Sudah melalui proses penyaringan dan deionisasi.

4. Ultrapure Reagent Grade Water (Air Reagen Ultrapure)

- Digunakan untuk kebutuhan eksperimen yang sangat sensitif, seperti reaksi PCR atau eksperimen dengan persyaratan kemurnian tinggi.

Dengan mengikuti panduan ini, Anda dapat memastikan bahwa eksperimen dilakukan dengan persiapan yang matang dan hasil yang dapat diandalkan.

Reagen berbahaya

- **Acrylamide**

Acrylamide adalah reagen yang dikenal sebagai neurotoksin dan sering digunakan dalam pembuatan gel poliakrilamida untuk elektroforesis protein. Penting untuk menggunakan masker, sarung tangan, dan pelindung mata saat menangani bahan ini. Hal ini untuk mencegah paparan melalui inhalasi atau kontak dengan kulit.

- **Etidium Bromida (EtBr)**

Etidium bromida adalah zat mutagenik dan sangat beracun yang umum digunakan dalam pewarnaan DNA atau RNA pada elektroforesis gel agarosa. Mengingat bahayanya, penggunaan EtBr harus disertai dengan alat pelindung diri seperti sarung tangan nitril dan pelindung mata. Limbah EtBr juga harus dikelola secara ketat sesuai dengan prosedur keselamatan laboratorium.

- **Phenol**

Phenol adalah bahan kimia korosif yang dapat menyebabkan luka bakar serius jika bersentuhan dengan kulit. Zat ini sering digunakan dalam ekstraksi DNA atau RNA. Untuk menghindari bahaya, preparasi phenol sebaiknya dilakukan di dalam ruang asam dengan menggunakan perlengkapan pelindung seperti sarung tangan tahan kimia dan jas lab.

- **Sodium Dodecyl Sulfate (SDS)**

Sodium dodecyl sulfate adalah detergen yang umum digunakan dalam proses lisis sel dan elektroforesis protein. Meskipun sangat efektif, SDS dapat menyebabkan iritasi hebat pada kulit, mata, atau saluran pernapasan. Oleh karena itu, penting untuk menghindari kontak langsung dengan zat ini dan selalu memakai alat pelindung diri, seperti sarung tangan dan masker, selama penggunaannya.

PREPARASI DAN PERHITUNGAN

Dalam prosedur kerja atau resep reagen/buffer akan mendeskripsikan tiap larutan ke dalam molar (M) atau persentase.

Larutan Molar (M)

Larutan molar mengacu pada konsentrasi larutan dalam mol per liter (mol/L). Untuk membuat larutan molar, langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

Langkah 1: Tentukan Berat Molekul (Molecular Weight - MW)

- Berat molekul (MW) dihitung dengan menjumlahkan massa atom relatif (Ar) dari semua atom dalam formula senyawa tersebut. Nilai Ar dapat ditemukan dalam tabel periodik.
- **Contoh: NaCl (Natrium Klorida)**
 - Na (Natrium): 22,99

- Cl (Klorin): 35,45

$$\text{MW NaCl} = 22,99 + 35,45 = 58,44 \text{ g/mol}$$

Langkah 2: Gunakan Rumus Umum Larutan Molar

$$\text{Molaritas (M)} = \frac{\text{massa zat terlarut (g)}}{\text{volume larutan (L)} \times \text{berat molekul } (\frac{\text{g}}{\text{mol}})}$$

Langkah 3: Persiapkan Massa Zat

- Jika ingin membuat larutan dengan molaritas tertentu, gunakan rumus berikut untuk menghitung massa zat terlarut yang diperlukan:

$$\text{massa zat (g)} = \text{Molaritas (M)} \times \text{volume larutan (L)} \times \text{berat molekul (g/mol)}$$

Contoh 1 : Membuat 1 L larutan NaCl 1 M

- MW NaCl = 58,44 g/mol
- Molaritas = 1 M
- Volume = 1 L

Substitusi nilai : massa zat (g) = 1 M × 1 L × 58,44 g/mol = **58,44 g**

Langkah praktis: Timbang 58,44 g NaCl, larutkan dalam sebagian air suling, dan encerkan hingga mencapai 1 L.

Contoh 2 : Membuat 400 ml larutan NaCl 1 M

- Molaritas (M) = 1 M
- Volume larutan (V) = 400 mL = 0,4 L
- Berat molekul NaCl (MW) = 58,44 g/mol

Substitusi nilai: massa zat (g) = 1 M × 0,4 L × 58,44 g/mol = 23,38 g

Langkah praktis: Timbang 23,38 g NaCl, larutkan dalam sebagian air suling, dan encerkan hingga mencapai 400 L.

Contoh 3 : Membuat 400 ml larutan NaCl 0.25 M

- Molaritas (M) = 0,25 M
- Volume larutan (V) = 400 mL = 0,4 L
- Berat molekul NaCl (MW) = 58,44 g/mol

Substitusi nilai: massa zat (g) = 0,25 M × 0,4 L × 58,44 g/mol = 5,844 g

Langkah praktis: Timbang 5,844 g NaCl, larutkan dalam sebagian air suling, dan encerkan hingga mencapai 400 L.

Catatlah perhitungan anda pada notebook/log book penelitian. Ini akan mempermudah untuk mengecek alasan ketika buffer/reagen/larutan yang dibuat tidak bekerja dengan baik.

Larutan Persentase (% w/v atau v/v)

Untuk larutan berbasis persentase, perhitungan tergantung pada jenis konsentrasi yang diminta:

- **% w/v (weight/volume):** Jumlah gram zat per 100 mL larutan.
Contoh: 10% NaCl = 10 g NaCl dalam total volume 100 mL.
- **% v/v (volume/volume):** Jumlah mL zat cair per 100 mL larutan.
Contoh: 70% Etanol = 70 mL Etanol dalam total volume 100 mL.

Menentukan Berat Molekul (MW)

1. **Periksa Rumus Molekul** dari senyawa yang akan digunakan.

Contoh: Asam Sulfat (H_2SO_4)

2. **Gunakan Massa Atom Relatif (Ar):**

- $\text{H} = 1,008$
- $\text{S} = 32,07$
- $\text{O} = 16,00$
- Molecule Weight

$$(\text{H}_2\text{SO}_4) = (2 \times 1,008) + (1 \times 32,07) + (4 \times 16,00) = 98,09 \text{ g/mol}$$

3. Pastikan penulisan akurat, dan gunakan alat bantu seperti kalkulator kimia atau perangkat lunak jika diperlukan.

Tips:

- Gunakan **timbangan analitik** untuk akurasi dalam menimbang zat.
- Pastikan larutan homogen dengan pengadukan yang baik.
- Selalu labeli larutan dengan molaritas dan tanggal pembuatan.

MENIMBANG DAN MENCAMPUR

Penimbangan Bahan untuk Membuat Buffer

Penimbangan bahan adalah langkah penting dalam pembuatan larutan, termasuk buffer. Persiapan yang baik dan penggunaan timbangan analitik dengan benar memastikan hasil yang akurat. Sebelum menimbang, **kumpulkan semua alat dan bahan** agar Anda tidak perlu meninggalkan area penimbangan.

Jangan menimbang sampel langsung pada wadah timbangan (balance pan) tanpa alas apapun.

Peralatan yang Dibutuhkan:

- **Kertas timbang (weighing paper)** atau **weighing boats**: untuk menahan bahan yang akan ditimbang.
- **Spatula**: untuk mengambil bahan kimia.
- **Beaker** atau **erlenmeyer flask**: untuk menampung bahan setelah ditimbang.
- **Magnetic stirrer dan stir bar**: untuk melarutkan bahan secara efisien.
- **Kimwipes**: untuk membersihkan peralatan dan meja kerja.

- **Air suling (distilled water):** sebagai pelarut.

Cara Menimbang yang Benar Menggunakan Timbangan Analitik

1. **Persiapkan Timbangan:**

- Pastikan timbangan analitik dalam kondisi bersih.
- Hidupkan timbangan dan biarkan beberapa saat agar stabil sebelum digunakan.
- Kalibrasi timbangan jika diperlukan, mengikuti petunjuk pabrik.

2. **Pasang Alat Penampung:**

- Letakkan **kertas timbang** atau **weighing boat** di atas timbangan.
- Tekan tombol **tare/zero** untuk menghilangkan berat alat penampung dari perhitungan.

3. **Tambahkan Bahan:**

- Gunakan **spatula** untuk menambahkan bahan secara perlahan ke atas kertas timbang atau weighing boat.
- Tambahkan bahan sedikit demi sedikit untuk mencapai jumlah yang diinginkan, hindari menuang langsung dari wadah utama untuk menghindari kelebihan berat.

4. **Periksa Berat:**

- Pastikan nilai berat di layar timbangan sesuai dengan perhitungan yang diperlukan.
- Jika berlebih, ambil sedikit bahan dengan spatula dan timbang ulang.

5. **Pindahkan Bahan:**

- Setelah bahan sesuai dengan berat yang diinginkan, pindahkan bahan ke **beaker** atau **erlenmeyer flask** menggunakan kertas timbang atau weighing boat.
- Jika menggunakan bahan higroskopis, segera tambahkan air pelarut untuk mencegah penggumpalan.

6. **Bersihkan Peralatan:**

- Gunakan **Kimwipes** untuk membersihkan spatula, meja, atau timbangan dari sisa bahan kimia.

7. **Simpan Bahan dan Timbangan:**

- Tutup kembali wadah bahan kimia dengan rapat.
- Matikan timbangan dan pastikan area kerja bersih.

Tips Penting:

- *Hindari menimbang bahan di area dengan banyak aliran udara atau getaran untuk menjaga kestabilan timbangan.*
- *Gunakan **sarung tangan** jika menimbang bahan kimia berbahaya.*
- *Selalu cek kapasitas maksimum timbangan analitik untuk menghindari kerusakan alat.*

Pengecekan pH

Setiap buffer dan larutan yang digunakan dalam eksperimen harus diperiksa pH-nya sebelum diautoklaf. Hal ini dilakukan dengan menggunakan pH meter untuk memastikan pH larutan sesuai dengan kebutuhan eksperimen. Prosedur pengecekan pH larutan dapat dilihat kembali pada halaman 17.

Tips Penggunaan pH Meter

1. Elektroda Sensitif:

- pH meter memiliki elektroda yang sensitif untuk mendeteksi konsentrasi ion hidrogen (H^+) dalam larutan.
- Elektroda dilindungi oleh larutan buffer khusus untuk mencegah kerusakan dan menjaga keakuratannya. Pastikan untuk selalu menjaga elektroda tetap basah saat tidak digunakan.

2. Jenis Elektroda:

- Beberapa elektroda pada pH meter diisi dengan gel atau cairan elektrolit, dan jenis ini mungkin memerlukan perawatan seperti penggantian cairan elektrolit secara berkala.

3. Kalibrasi Berkala:

- pH meter harus dikalibrasi secara berkala menggunakan larutan standar buffer (misalnya pH 4.0, 7.0, dan 10.0) agar pengukuran tetap akurat.

4. Pengaruh pH terhadap Kelarutan:

- pH larutan dapat memengaruhi kelarutan bahan kimia tertentu. Misalnya, larutan 0.5M EDTA membutuhkan pH sekitar 8 agar dapat larut dengan baik dalam air. Gunakan buffer atau tambahkan NaOH/KOH untuk mencapai pH yang diinginkan.

5. Pengaruh Suhu pada pH:

- Pengukuran pH dapat dipengaruhi oleh suhu. Oleh karena itu, sebaiknya pH diukur pada suhu yang sama dengan standar yang digunakan, atau gunakan pH meter dengan kompensasi suhu otomatis (ATC).

Setelah pengecekan/tanpa pengecekan pH. Segera campur kembali dan persiapkan untuk di sterilisasi (autoklaf atau steril menggunakan filter)

STERILISASI REAGEN DAN BUFFER

Sterilisasi buffer dan larutan merupakan langkah penting untuk memastikan tidak adanya kontaminasi mikroba yang dapat memengaruhi hasil eksperimen. Dua metode utama yang digunakan adalah **autoklaf** dan **penyaringan steril**.

1. Sterilisasi dengan Autoklaf

Autoklaf adalah metode sterilisasi menggunakan uap panas bertekanan tinggi. Proses ini bekerja dengan memanfaatkan kombinasi panas, tekanan, dan waktu tertentu untuk membunuh semua mikroorganisme, termasuk bakteri, spora, dan jamur. Autoklaf sangat efektif untuk sterilisasi larutan, buffer, alat-alat laboratorium, dan media kultur.

Syarat:

- **Tekanan:** Biasanya 15 psi (pounds per square inch).
- **Suhu:** 121°C adalah standar yang umum digunakan.
- **Durasi:** Sterilisasi dilakukan selama 15–20 menit tergantung pada volume larutan atau bahan yang disterilkan.
- **Kondisi Larutan:**
 - Larutan harus ditempatkan dalam wadah tahan panas (misalnya, botol kaca atau polypropylene).
 - Wadah tidak boleh diisi penuh; sisakan ruang untuk ekspansi cairan selama proses pemanasan.
 - Tutup wadah jangan terlalu rapat untuk menghindari tekanan berlebih.

Catatan Penting:

- Buffer yang mengandung komponen peka panas, seperti antibiotik, vitamin, atau enzim, tidak boleh diautoklaf. Sterilisasi dilakukan dengan metode lain (penyaringan steril).
- Periksa pH larutan sebelum diautoklaf karena pH dapat berubah setelah proses sterilisasi.

2. Sterilisasi dengan Penyaringan Steril

Narasi:

Penyaringan steril dilakukan menggunakan filter dengan ukuran pori 0,22 µm, yang mampu menghilangkan bakteri dan mikroorganisme lainnya. Metode ini digunakan untuk bahan yang tidak tahan panas, seperti larutan antibiotik, vitamin, atau protein.

Syarat:

- Gunakan syringe filter atau perangkat penyaringan vakum dengan membran filter steril (0,22 µm).
- Larutan harus bebas dari partikel besar yang dapat menyumbat filter; jika perlu, lakukan penyaringan awal dengan pori yang lebih besar (misalnya, 0,45 µm).
- Semua alat yang digunakan, termasuk syringe, filter, dan botol penampung, harus steril.

Langkah-Langkah:

1. Isi syringe dengan larutan yang akan disterilkan.
2. Pasang filter steril pada ujung syringe.
3. Tekan larutan perlahan melalui filter ke dalam wadah steril.

Catatan Penting:

- Simpan larutan yang sudah disterilkan dalam wadah tertutup steril untuk mencegah kontaminasi.
- Hindari menyentuh bagian filter yang steril selama proses penyaringan.

PENYIMPANAN BUFFER DAN LARUTAN

Penyimpanan buffer dan larutan yang tepat penting untuk menjaga stabilitas dan efektivitasnya. Berikut adalah panduan penyimpanan berdasarkan jenis buffer atau larutan:

1. Penyimpanan pada Suhu Ruang (25°C)

Buffer atau larutan yang stabil dan tidak mengandung komponen sensitif biasanya disimpan pada suhu ruang.

Contoh:

- Larutan buffer fosfat (PBS).
- Larutan garam biasa seperti NaCl.
- Larutan basa atau asam kuat seperti NaOH dan HCl.

2. Penyimpanan pada Suhu 4°C (Kulkas)

Buffer atau larutan yang rentan terhadap degradasi pada suhu ruang atau mengandung komponen biologis harus disimpan pada suhu dingin (4°C).

Contoh:

- Buffer mengandung enzim atau protein.
- Media kultur yang sudah dilarutkan.
- Larutan dengan bahan organik seperti Tris buffer atau EDTA setelah dilarutkan.

3. Penyimpanan Larutan Konsentrat pada Suhu Ruang

Larutan konsentrat yang lebih stabil terhadap suhu tinggi atau tekanan osmotik lebih baik disimpan pada suhu ruang. Penyimpanan dalam bentuk konsentrat juga menghemat ruang dan mencegah degradasi lebih cepat.

Contoh:

- Larutan buffer 10x PBS.
- Larutan konsentrasi tinggi seperti 5M NaCl atau 1M Tris-HCl.

4. Penyimpanan Reagen Sensitif Cahaya

Reagen atau larutan yang sensitif terhadap cahaya harus disimpan dalam botol gelap atau botol coklat dengan suhu yang sesuai untuk mencegah fotodegradasi.

Contoh:

- DMSO.
- Vitamin atau senyawa seperti riboflavin.
- Reagen fluoresens seperti SYBR Green atau EtBr.

Kapan Buffer Perlu Dibuang?

1. Mengalami Perubahan Warna:

- Warna buffer atau larutan yang berubah menunjukkan adanya reaksi kimia atau degradasi. Misalnya, buffer fosfat yang berubah menjadi kekuningan.

2. Terdapat Kontaminasi:

- Jika ditemukan tanda-tanda kontaminasi mikroba seperti kekeruhan, munculnya lapisan atau endapan biologis (biofilm), buffer harus segera dibuang.

3. Presipitasi:

- Jika buffer menghasilkan presipitasi yang tidak dapat larut kembali setelah pemanasan atau pencampuran, hal ini menunjukkan perubahan komposisi kimia dan larutan tidak layak digunakan lagi.

Tips:

- *Selalu beri label tanggal pembuatan pada buffer atau larutan untuk memantau masa simpannya.*
- *Hindari menyimpan larutan yang sudah terlalu lama atau yang digunakan secara berulang tanpa kontrol sterilitas.*
- *Jika ragu buffer atau reagen apa itu, buang.*

2. Penyimpanan dan Pembuangan

Penyimpanan yang tidak tepat dapat menyebabkan kerusakan bahan kimia, degradasi reagen, atau bahkan matinya koleksi mikroorganisme yang berharga. Hal ini tidak hanya berdampak pada keberlanjutan penelitian, tetapi juga dapat menyebabkan pemborosan sumber daya dan waktu untuk mengganti bahan atau memulai ulang proses penelitian. Oleh karena itu, penting untuk mematuhi panduan penyimpanan yang telah ditentukan, seperti suhu, kelembapan, dan kondisi lingkungan lainnya, agar kualitas bahan tetap terjaga dan koleksi mikroorganisme tetap hidup serta dapat digunakan di masa depan.

PENTINGNYA PENYIMPANAN

Penyimpanan yang tepat sangat penting untuk menjaga kualitas bahan, reagen, dan sampel penelitian, karena penyimpanan yang salah dapat menyebabkan kerusakan bahan, degradasi reagen, atau matinya koleksi mikroorganisme. Setiap bahan memiliki kebutuhan penyimpanan tertentu, seperti reagen yang memerlukan suhu 4°C atau suhu ruangan, mikroorganisme yang perlu disimpan pada 4°C hingga -80°C tergantung jenisnya, dan RNA/DNA yang membutuhkan perlakuan khusus sesuai stabilitasnya. Jika penelitian selesai larut malam dan tidak ada yang bisa dihubungi, penting untuk tidak berasumsi sembarangan; gunakan panduan penyimpanan yang tersedia, tempatkan bahan di lokasi yang sesuai, seperti freezer atau kulkas, beri label jelas, dan catat lokasinya. Jika ragu, pilih penyimpanan yang lebih aman, seperti suhu 4°C untuk bahan sensitif, hingga informasi lebih lanjut dapat diperoleh (Tabel 2).

Ketika anda ragu akan menyimpan dimana, aturan umumnya untuk penyimpanan jangka pendek adalah tempatkan di pendingin.

ALIUQUOTING

Aliquoting adalah teknik laboratorium yang melibatkan pembagian larutan stok ke dalam volume kecil (aliquot) yang terpisah. Teknik ini memiliki sejumlah manfaat penting, yaitu:

1. **Mencegah Kerusakan Larutan Stok**

Aliquoting mencegah degradasi larutan stok akibat pembekuan dan pencairan berulang, sehingga larutan tetap stabil.

2. **Mencegah Kontaminasi**

Aliquoting melindungi larutan stok dari risiko kontaminasi yang disebabkan oleh penggunaan oleh banyak orang.

3. **Kemudahan Penggunaan**

Aliquoting mempermudah penanganan larutan karena dibagi dalam volume kecil yang praktis dan mudah disimpan.

4. **Menghemat Waktu**

Aliquoting menghemat waktu karena larutan dalam volume yang tepat sudah tersedia untuk langsung digunakan.

Dengan demikian, aliquoting adalah langkah penting untuk menjaga efisiensi, kualitas, dan kepraktisan dalam eksperimen laboratorium.

Larutan stok adalah larutan pekat yang di aliquoted. Larutan siap pakai (working solutions) adalah larutan dengan konsentrasi akhir (siap pakai), yang mana hasil pengenceran larutan pekat. Jangan lupa pelabelan pada setiap larutan yang dibuat.

Tabel 2. Rekomendasi penyimpanan beberapa bahan di laboratorium

No	Bahan		Suhu penyimpanan	Keterangan
1	Asam/Basa		suhu ruang	Simpan di tempat kering, jauh dari kelembapan dan panas
2	Bakteri	Agar miring/Plate	4°C	Simpan di kulkas, gunakan segel plastik untuk mencegah kontaminasi
		Kultur cair	4°C	Simpan dalam tabung tertutup rapat
		Kultur liofilisasi	4°C	Hindari paparan udara langsung, pastikan botol tertutup rapat
		Kultur Beku	-80°C	Gunakan cryobox, label dengan jelas untuk identifikasi
3	Buffer		4°C	Simpan di kulkas, pastikan tertutup untuk menghindari kontaminasi
4	Detergent		suhu ruang	Jauhkan dari sinar matahari langsung dan kelembapan
5	Etanol		suhu ruang	Simpan di lemari tahan api jika dalam jumlah besar
6	Bahan kimia berbahaya		lemari khusus	Simpan di lemari ventilasi sesuai protokol keselamatan bahan kimia
7	Media		4°C	Simpan dalam wadah steril, periksa secara rutin untuk kontaminasi
8	Lemak		-20°C	Simpan dalam freezer, pastikan wadah kedap udara
9	Reaksi PCR		4°C	Hindari paparan suhu tinggi dan cahaya langsung
10	RNA		-20°C dengan etanol -70°C dengan air	Hindari siklus pencairan dan pembekuan berulang
11	DNA		4°C	Simpan di tempat gelap untuk mencegah kerusakan
12	Enzim		-20°C	Simpan di freezer, hindari pembekuan dan pencairan berulang
13	Serum		4°C	Simpan di kulkas, hindari pencairan yang tidak perlu

KULKAS AND FREEZER

Berikut narasi singkat untuk setiap poin terkait penggunaan **refrigerator dan freezer**:

1. **Menggunakan Refrigerator/Freezer yang Layak**
Pastikan menggunakan refrigerator atau freezer yang berfungsi dengan baik untuk menjaga stabilitas suhu dan keawetan sampel atau reagen.
2. **Semua Kotak Harus Diberi Label dengan Baik**
Setiap kotak atau wadah di dalam refrigerator/freezer harus dilabeli dengan jelas agar mudah diidentifikasi dan menghindari kesalahan pengambilan.
3. **Secara Periodik Buang Material yang Tidak Lagi Digunakan**
Lakukan pembersihan rutin dengan membuang bahan yang sudah kadaluwarsa atau tidak lagi dibutuhkan untuk menjaga ruang penyimpanan tetap efisien.
4. **Simpan Rekaman Lokasi Semua Reagen**
Buat catatan terorganisir tentang lokasi penyimpanan setiap reagen untuk mempermudah pencarian dan menghemat waktu.
5. **Hormati Ruang Pribadi**
Hindari mengambil atau menyentuh sampel atau bahan milik orang lain tanpa izin untuk menjaga keteraturan dan etika kerja di laboratorium.

PEMBUANGAN LIMBAH LABORATORIUM

Pengelolaan sampah laboratorium harus dilakukan dengan hati-hati dan sesuai dengan peraturan keselamatan untuk mencegah risiko terhadap kesehatan, lingkungan, dan keselamatan kerja. Berikut adalah aspek penting yang harus diketahui sebelum membuang sampah laboratorium:

- **Komposisi Bahan Kimia**
Penting untuk mengetahui komposisi bahan kimia yang terkandung dalam sampah. Informasi ini dapat diperoleh dari label, lembar data keselamatan bahan (MSDS), atau catatan laboratorium. Identifikasi bahan kimia membantu menentukan metode pembuangan yang aman.
- **Apakah Berbahaya atau Tidak Berbahaya**
Sampah harus diklasifikasikan berdasarkan tingkat bahayanya. Sampah kimia berbahaya (seperti asam pekat, logam berat, atau pelarut organik) memerlukan pengelolaan khusus untuk mencegah polusi dan risiko kesehatan.
- **Apakah Radioaktif**
Jika sampah mengandung bahan radioaktif, prosedur pembuangan khusus harus diikuti, sesuai dengan regulasi yang berlaku. Sampah radioaktif harus ditangani dengan alat pelindung diri (APD) yang memadai dan disimpan di lokasi yang disetujui hingga pengelolaan lebih lanjut.

Pembuangan sementara telah disediakan di setiap laboratorium. Tindakan lanjut pembuangan akan di koordinasikan oleh laboran setempat.

- **Apakah Biohazard**

Sampah yang berpotensi mengandung patogen (seperti sisa kultur mikroba, jaringan hewan, atau alat habis pakai yang terkontaminasi) harus dikelola sebagai limbah biohazard. Limbah ini memerlukan autoklaf, disinfeksi, atau metode sterilisasi lainnya sebelum dibuang.

- **Apakah Bisa Didaur Ulang**

Beberapa jenis sampah laboratorium, seperti kertas, karton, atau kontainer bekas pengemasan reagen, dapat didaur ulang. Pisahkan sampah yang dapat didaur ulang dari limbah berbahaya untuk mendukung pengelolaan lingkungan yang berkelanjutan.

Pentingnya Pemisahan dan Labeling

Semua jenis sampah harus dipisahkan dan dilabeli dengan jelas sesuai kategori (kimia berbahaya, biohazard, radioaktif, atau daur ulang). Wadah khusus dengan kode warna atau simbol harus digunakan untuk mempermudah identifikasi dan pengelolaan.

Dengan memahami karakteristik sampah laboratorium dan mematuhi regulasi yang berlaku, risiko terhadap lingkungan dan kesehatan dapat diminimalkan, sekaligus mendukung keberlanjutan dalam aktivitas laboratorium.

Asam

Asam kuat atau pekat harus diencerkan terlebih dahulu, sebisa mungkin dinetralkan dengan basa sebelum ditampung pada wadah khusus.

Asam dan basa tidak boleh di campur

Basa

Limbah basa pekat harus dinetralkan dengan asam sebelum ditampung pada wadah khusus.

Bakteri/Jamur

Limbah yang mengandung bakteri atau mikroorganisme lain harus disterilkan/dimatikan menggunakan autoklaf atau metode disinfeksi lainnya sebelum dibuang untuk menghindari risiko kontaminasi lingkungan.

Supernatan

Supernatan dari sentrifugasi adalah sampah biohazard. Autoklaf atau campur dengan 10% clorox sebelum dibuang di pembuangan dengan dicampur kembali air yang banyak. Tampung terlebih dahulu supernatan yang dibuang dalam botol terlebih dahulu, lakukan prosedur penghancuran (*destruction*) sampah menggunakan metode diatas.

Jangan autoclave larutan dengan Clorox.

Buffers

Buffer yang tidak berbahaya dapat dibuang ke saluran pembuangan setelah diencerkan. Namun, buffer dengan senyawa toksik memerlukan pengelolaan sebagai limbah kimia.

Bahan Kimia Berbahaya

Semua bahan kimia harus dikategorikan berdasarkan bahayanya (misalnya, toksik, korosif, atau mudah terbakar) dan dibuang sesuai prosedur pengelolaan limbah kimia yang berlaku. Terpadat tempat penampungan untuk bahan-bahan tersebut di tiap laboratorium.

Jangan campurkan limbah asam dan basa ($pH < 3$ dan $pH > 9$) dalam wadah besi logam karena akan mengakibatkan korosi.

DNA/RNA

Sampah yang mengandung DNA/RNA (termasuk sampah biohazard)

Gel

Gel elektroforesis (termasuk sampah biohazard) berbahan agarosa dapat dibuang sebagai sampah padat biasa jika tidak mengandung bahan toksik. Gel berbasis poliakrilamida harus dikelola sebagai limbah kimia.

Gloves

Sarung tangan yang terkontaminasi bahan kimia atau biohazard harus dibuang di tempat sampah khusus. Sarung tangan bersih dapat dimasukkan ke sampah biasa.

Phenol/Larutan Campuran Phenol

Larutan phenol atau campurannya adalah bahan toksik yang memerlukan pengelolaan khusus sebagai limbah berbahaya dan tidak boleh dibuang ke saluran pembuangan. Tampung pada penampungan khusus yang telah disediakan dilaboratorium.

Pipet

Pipet plastik sekali pakai yang tidak terkontaminasi dapat dibuang sebagai sampah umum. Pipet yang terkontaminasi harus dibuang di tempat limbah biohazard atau kimia, tergantung jenis kontaminasinya.

3.3 BEKERJA TANPA KONTAMINASI

Teknik steril adalah prosedur penting untuk mencegah kontaminasi dalam eksperimen laboratorium, khususnya saat bekerja dengan mikroorganisme, bahan biologis, atau sampel sensitif. Berikut adalah panduan dan peraturan utama yang harus dipatuhi untuk memastikan area kerja tetap steril:

Peraturan Teknik Steril

1. Area Kerja yang Terisolasi

- Pilih area kerja yang jauh dari rak, pergerakan orang lain, atau jendela yang terbuka untuk meminimalkan risiko kontaminasi.

2. Pengaturan dan Kebersihan Area Kerja

- Pastikan area kerja bebas dari bahan dan alat yang tidak digunakan.
- Setelah eksperimen selesai, singkirkan bahan dan alat dari area kerja dan bersihkan permukaan kerja dengan antiseptik.

3. Pembersihan Sebelum dan Sesudah Eksperimen

- Gunakan alkohol/etanol 70% untuk membersihkan area kerja sebelum dan sesudah eksperimen, atau kapan saja jika area kerja diragukan kebersihannya.

4. Sterilisasi Alat dan Bahan

- Semua pipet, botol, dan alat lain yang digunakan harus steril.
- Jika tidak yakin terhadap sterilisasi alat, jangan gunakan alat tersebut. Pastikan setiap alat diberi label untuk menunjukkan status sterilnya.

5. Pengaturan Alat di Area Kerja

- Atur alat di area kerja dengan sedikit mungkin pergerakan tangan.
- Sesuaikan pengaturan dengan dominasi tangan: alat yang sering digunakan di sisi tangan dominan, seperti pipet dan tips di sebelah kanan untuk pengguna tangan kanan, dan wadah pembuangan di sebelah kiri.

6. Persiapan Sebelum Memulai

- Pastikan semua bahan dan alat yang dibutuhkan sudah tersedia sebelum memulai eksperimen untuk menghindari keperluan meninggalkan area kerja.

Dengan mematuhi peraturan ini, risiko kontaminasi dapat diminimalkan, menjaga keakuratan hasil eksperimen dan keamanan kerja. Teknik steril bukan hanya tentang alat yang digunakan, tetapi juga tentang kesadaran dan kedisiplinan dalam menjaga kebersihan dan efisiensi di laboratorium.

3.4 BAKTERI

1. Aturan Kerja

Bekerja dengan bakteri membutuhkan kehati-hatian untuk mencegah kontaminasi dan menjaga keselamatan:

1. Ikuti Standar Keamanan Umum di Laboratorium

- Gunakan alat pelindung diri (APD) seperti sarung tangan, masker, dan jas laboratorium.
- Hindari menyentuh wajah atau barang pribadi selama bekerja.

2. Bersihkan Area Kerja Secara Berkala

- Gunakan disinfektan seperti etanol atau alkohol 70% sebelum dan sesudah bekerja untuk memastikan area tetap steril.

Jaga permukaan area kerja bersih, botol-botol tertutup dan minimalkan pergerakan kerja.

3. Dekontaminasi Limbah Bakteri Sebelum Dibuang

- Autoklaf limbah cair atau padat yang terkontaminasi bakteri sebelum membuangnya sesuai protokol biohazard.

4. Cuci Tangan

- Pastikan mencuci tangan dengan sabun atau menggunakan antiseptik setelah bekerja dengan bahan menular dan sebelum meninggalkan laboratorium.

2. Pertumbuhan dan Pemeliharaan

Pola Pertumbuhan Bakteri:

Bakteri memiliki pola pertumbuhan tertentu yang terdiri dari empat fase utama:

1. Fase Lag:

- Merupakan tahap adaptasi, di mana bakteri menyesuaikan diri dengan lingkungan baru.
- Tidak ada pembelahan sel yang signifikan, tetapi terjadi sintesis enzim dan komponen seluler.

2. Fase Eksponensial (Log):

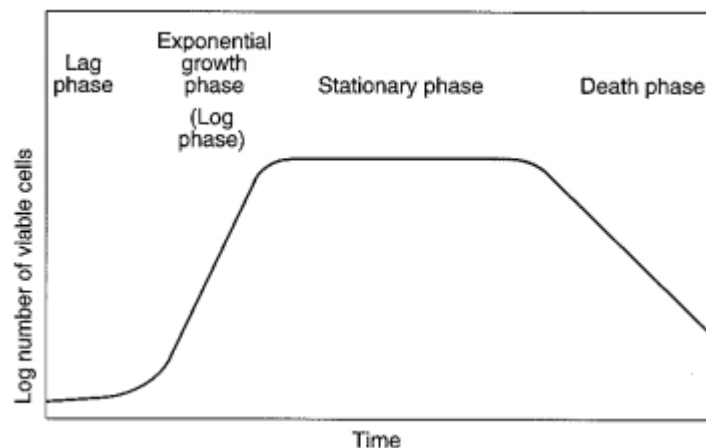
- Bakteri mulai membelah diri dengan laju maksimum sesuai dengan kondisi optimalnya.
- Terjadi peningkatan jumlah sel secara eksponensial.

3. Fase Stasioner:

- Pertumbuhan bakteri mulai melambat dan akhirnya berhenti.
- Disebabkan oleh keterbatasan nutrisi, akumulasi produk metabolik toksik, atau perubahan lingkungan seperti pH.

4. Fase Kematian (Death):

- Jumlah sel mati melebihi jumlah sel yang bertahan hidup atau membelah.
- Populasi bakteri berkurang secara bertahap hingga habis jika tidak ada intervensi.



Gambar . Pertumbuhan normal bakteri dalam media cair. Fase-fase pertumbuhan bakteri harus dipertimbangkan ketika akan menggunakan atau memanen kultur untuk penyimpanan atau eksperimen (Barker, 1998).

Metode Pertumbuhan dan Isolasi Bakteri:

1. **Pour Plate:** Media agar cair dituangkan ke dalam cawan Petri bersama dengan kultur bakteri yang telah diencerkan. Koloni tumbuh di seluruh media, baik permukaan maupun dalam media.
2. **Streak Plate:** Kultur bakteri dioleskan ke permukaan media agar menggunakan loop steril untuk mengisolasi koloni individu.
3. **Spread Plate:** Kultur bakteri diencerkan dan disebarakan secara merata di permukaan media agar menggunakan batang kaca steril.

3. Menghidupkan kembali kultur bakteri

Prosedur menghidupkan kembali kultur bakteri tergantung pada metode penyimpanan:

A. Freeze-Dried Samples (Lyophilized):

1. Bersihkan bagian luar vial dengan alkohol 70%.
2. Tambahkan 0.4 mL media steril yang telah dipanaskan ke dalam vial.
3. Dengan pipet steril, campur kultur perlahan hingga larut sepenuhnya.
4. Pindahkan larutan ke dalam 5 mL media steril tambahan.
5. Inkubasi di tabung atau media miring (*slant*) pada kondisi yang direkomendasikan.

B. Frozen Culture:

1. Ambil vial dari freezer atau dry ice ke rak.
2. Panaskan loop sampai steril, dinginkan sebentar, lalu sentuhkan ke kultur beku.
3. Letakkan sisa kultur dalam es untuk menjaga stabilitas.
4. Streak bakteri pada plate atau media miring untuk isolasi.
5. Segera kembalikan kultur beku ke freezer untuk penyimpanan.
6. Inkubasi plate atau media miring pada suhu dan kondisi yang sesuai.

Menghidupkan kultur mungkin membutuhkan waktu lebih panjang untuk gase lag nya, jadi berikan waktu dua kali lipat dari waktu yang diekspetasikan.

Perhitungan Bakteri

Menghitung jumlah bakteri merupakan langkah penting dalam mikrobiologi untuk menentukan konsentrasi sel dalam kultur. Dua metode yang umum digunakan adalah **viable plate count** dan **counting chamber**, masing-masing memiliki prinsip dan aplikasi yang berbeda.

1. Viable Plate Count (CFU)

Metode ini mengukur jumlah sel bakteri yang hidup dan mampu membentuk koloni pada media agar. Langkah-langkahnya meliputi:

- Melakukan **serial dilusi** pada kultur bakteri untuk mengurangi kepadatan sel.

- Menginokulasikan 100 µL dari larutan yang telah dilarutkan ke permukaan media agar.
- Menyebarkan larutan secara merata menggunakan **spreader** steril.
- Menginkubasi piring pada suhu dan waktu yang sesuai hingga koloni tumbuh.
- Menghitung jumlah koloni yang muncul pada piring dengan 30–300 koloni, lalu menggunakan rumus berikut untuk menghitung konsentrasi bakteri:

$$\frac{CFU}{ml} = \frac{Jumlah\ koloni}{Volume\ yang\ diinokulasikan\ (ml)} + Faktor\ dilusi$$

Metode ini sangat akurat untuk menghitung bakteri hidup, tetapi memerlukan waktu lebih lama karena memerlukan inkubasi.

2. Optical Density (OD)

Metode ini lebih cepat dibandingkan plate count dan digunakan untuk mengestimasi jumlah total bakteri, baik yang hidup maupun mati, dalam suatu kultur. Prinsipnya berdasarkan pengukuran kekeruhan (turbiditas) kultur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang tertentu, biasanya 420 atau 600 nm (**OD 420** atau **OD600**).

- Kultur bakteri ditempatkan dalam **kuvet** steril, dan tingkat absorbansi cahaya diukur.
- Nilai OD600 kemudian dikaitkan dengan jumlah bakteri menggunakan **kurva standar**, yaitu grafik yang menghubungkan nilai OD dengan konsentrasi sel berdasarkan percobaan sebelumnya.

Meskipun lebih cepat, metode OD memiliki keterbatasan, seperti ketidakmampuan membedakan antara sel hidup dan mati. Oleh karena itu, metode ini sering digunakan dalam aplikasi yang memerlukan pemantauan cepat, seperti fermentasi atau uji kinetika pertumbuhan.

Kedua metode ini saling melengkapi: viable plate count digunakan ketika data bakteri hidup penting, sementara OD digunakan untuk estimasi cepat jumlah total bakteri.

Pewarnaan dapat digunakan untuk membedakan bakteri yang mati dan yang masih hidup..

6. Penyimpanan

Penyimpanan bakteri bertujuan untuk memastikan viabilitas dan kelangsungan hidup bakteri untuk penggunaan di masa mendatang. Metode penyimpanan bergantung pada kebutuhan jangka waktu dan jenis bakteri yang disimpan.

1. Jangka Pendek

Untuk penyimpanan sementara, bakteri dapat disimpan pada media agar miring di suhu 4°C. Agar viabilitas tetap terjaga, subkultur dilakukan setiap beberapa minggu. Isolat koloni dapat digunakan kembali sebagai inokulum selama periode ini. Untuk

memperpanjang masa simpan dan mencegah dehidrasi, piring kultur dapat dibungkus rapat menggunakan **parafilm** atau bahan penutup lain yang sesuai.

2. Jangka Panjang

Penyimpanan jangka panjang biasanya dilakukan dengan penambahan **cryoprotectant** seperti gliserol 15–20% pada kultur cair untuk mencegah kerusakan sel akibat pembekuan. Kultur ini kemudian disimpan pada suhu **-80°C** untuk mempertahankan viabilitas bakteri selama bertahun-tahun.

3. Lyophilization (Freeze-Drying)

Lyophilization, atau pengeringan beku, adalah metode penyimpanan jangka sangat panjang yang dapat mempertahankan viabilitas bakteri hingga 10–50 tahun. Dalam proses ini, air dalam sampel bakteri yang telah dibekukan dihilangkan melalui **sublimasi**, yaitu perubahan langsung dari fase padat ke gas tanpa melalui fase cair. Hasilnya adalah kultur bakteri dalam bentuk kering yang stabil, mudah disimpan, dan tidak memerlukan suhu ekstrem.

Bakteri beku

- *Minimalkan subkultur, semakin sering digunakan, mutasi, kontaminasi mungkin dapat terjadi*
- *Tumbuhkan dalam kondisi ideal baik penggunaan medium dan suhu inkubasinya*
- *Preparasi pembuatan bakteri beku kembali. Umumnya medium sedikit berbeda dengan medium pertumbuhan dan gunakan gliserol steril.*
- *Dokumentasikan. Catat strain bakteri, kondisi pertumbuhan, labelisasi umu (hari/tanggal/tahun) dan tempat penyimpanan.*

3.2 DNA dan RNA

TIPS

DNA, RNA, dan protein adalah tiga molekul utama dalam biologi molekuler yang memainkan peran penting dalam menyimpan, mentransfer, dan mengekspresikan informasi genetik. DNA (deoxyribonucleic acid) adalah molekul utama yang menyimpan informasi genetik dalam bentuk kode. RNA (ribonucleic acid) berperan sebagai perantara untuk menyalin dan mentransfer informasi dari DNA ke protein. Protein, hasil akhir ekspresi genetik, melakukan berbagai fungsi dalam sel, seperti enzim, struktur, dan pengatur proses biologis. Hubungan DNA-RNA-protein dikenal sebagai "dogma sentral" biologi molekuler.

TIPS Biologi Molekuler untuk Eksperimen yang Efektif

1. Pahami Dasar Teorinya

Sebelum memulai, pelajari teori di balik pekerjaan Anda, termasuk protokol, komponen kit, dan mekanisme reaksi. Ini membantu Anda memahami langkah-langkah dan mengantisipasi hasil.

2. **Jangan Terus-Menerus “Protocol-Shop”**
Fokus pada protokol yang sudah terbukti dan sesuai dengan tujuan eksperimen Anda. Jangan terlalu sering berganti protokol tanpa alasan yang jelas.
3. **Gunakan Kit dengan Bijaksana**
Pilih kit yang sesuai dengan kebutuhan eksperimen Anda, pertimbangkan biaya, efisiensi, dan kualitas hasil.
4. **Konsultasikan Hasil Anda**
5. Jika hasil eksperimen tidak sesuai harapan, segera diskusikan dengan supervisor atau rekan yang lebih berpengalaman untuk mendapatkan solusi atau rekomendasi.
6. **Labeli Semua dengan Jelas**
Setiap tabung, reagen, atau sampel harus diberi label yang jelas dan spesifik untuk mencegah kesalahan.
7. **Buang Tabung Lama**
Hindari penggunaan ulang tabung lama. Ini dapat mengurangi risiko kontaminasi dan memastikan hasil yang lebih akurat.
8. **Catat Semuanya**
Dokumentasikan setiap langkah, hasil, dan modifikasi protokol untuk mempermudah analisis dan pengulangan eksperimen di masa depan.

Jika menggunakan kit isolasi DNA, baca dan ikuti secara hati-hati prosedurnya. Ada banyak hal detail yang tidak terlihat/sekilas tidak tertulis dengan jelas, sebagai contoh O.D bakteri, hal ini akan menjadi hal penting.

DNA

Aturan Dasar

1. **Isolasi DNA dari Genomik atau Ekstrakromosomal**
 - **DNA Genomik:** DNA ini diisolasi langsung dari sel atau jaringan organisme dan digunakan untuk berbagai analisis genetik, seperti PCR, sekueing, atau analisis genom. DNA genomik mencakup informasi genetik yang ada dalam kromosom sel.
 - **DNA Ekstrakromosomal (Plasmid atau Page DNA):** Biasanya ditemukan pada bakteri, plasmid adalah molekul DNA kecil yang terpisah dari kromosom utama dalam sel. DNA ekstrakromosomal ini sering digunakan untuk eksperimen rekombinan atau kloning. Plasmid membawa gen yang dapat digunakan untuk sintesis protein atau analisis genetik lainnya.
2. **Investigasi Kits untuk Isolasi DNA**
Pemilihan kit untuk isolasi DNA sangat tergantung pada beberapa faktor:
 - **Jenis Sampel:** Jenis sampel yang digunakan (misalnya, sel hewan, tumbuhan, mikroorganisme, atau bahan lainnya) akan mempengaruhi pilihan kit yang sesuai.

Setiap jenis sampel memerlukan teknik yang berbeda untuk isolasi DNA yang efisien.

- **Tujuan Isolasi:** Tentukan tujuan isolasi DNA Anda, apakah untuk PCR, kloning, analisis genom, atau aplikasi lainnya. Kit yang berbeda memiliki desain dan kualitas yang lebih sesuai untuk setiap aplikasi spesifik.
- **Kualitas DNA yang Dibutuhkan:** Pilih kit yang dapat menghasilkan DNA dengan kualitas yang sesuai untuk tujuan eksperimen. Pertimbangkan kebersihan (minimal kontaminasi protein dan RNA), integritas (hindari kerusakan atau fragmentasi), dan konsentrasi DNA yang dihasilkan.
- **Kemudahan Penggunaan dan Protokol:** Beberapa kit dilengkapi dengan instruksi yang lebih mudah dipahami atau dilengkapi dengan sistem kolom untuk pemurnian yang lebih cepat dan efisien. Pilih kit yang sesuai dengan tingkat kenyamanan Anda.

3. Pertimbangan Pemilihan Kits Isolasi DNA

- **Pilih Kit Berdasarkan Ukuran Sampel dan Tujuan Eksperimen:**
 - **Kit Mini:** Cocok untuk isolasi DNA dalam jumlah kecil (misalnya, plasmid dari kultur bakteri). Biasanya digunakan untuk aplikasi yang memerlukan DNA dalam jumlah terbatas.
 - **Kit Midi dan Maxi:** Cocok untuk isolasi DNA dalam jumlah lebih besar. Midi dan maxi sering digunakan untuk eksperimen yang membutuhkan banyak DNA atau untuk aplikasi seperti kloning atau analisis genom.
- **Kualitas DNA:** Beberapa kit menunjukkan performa yang berbeda dalam menghasilkan DNA berkualitas. Perhatikan kebutuhan eksperimen Anda, apakah DNA harus memiliki integritas tinggi untuk PCR, sekueing, atau eksperimen lainnya. Sebagian kit lebih unggul dalam menghasilkan DNA murni tanpa kontaminasi.

Prosedur Isolasi DNA

Berikut adalah tahapan umum dalam isolasi DNA:

1. **Lisis Sel:** Langkah pertama dalam isolasi DNA adalah merusak membran sel menggunakan buffer lisis. Proses ini melepaskan DNA dan komponen lainnya dari dalam sel ke dalam larutan.
2. **Penghilangan Kontaminan:** Proses ini dilakukan untuk menghilangkan protein, RNA, dan lipid yang terkontaminasi dalam sampel. Penghilangan ini dapat dilakukan dengan teknik ekstraksi fenol-kloroform atau menggunakan kit berbasis kolom yang lebih efisien.

Fenol-kloroform harus dibuang sebagai limbah berbahaya. Kumpulkan pada wadah/botol tertentu. Jangan dibuang di wastafel.

3. **Presipitasi DNA:** DNA yang telah terlepas dari sel akan dipresipitasi dengan menambahkan alkohol seperti etanol atau isopropanol. Alkohol ini mengendapkan DNA sehingga dapat dipisahkan dari kontaminan yang lebih mudah larut.
4. **Pembersihan DNA:** Untuk memastikan DNA yang diisolasi bersih dan bebas dari kontaminan lainnya, pencucian dengan etanol sering dilakukan. Selain itu, pengeringan dilakukan untuk menghilangkan sisa alkohol yang dapat mengganggu analisis selanjutnya.
5. **Elusi DNA:** Terakhir, DNA yang telah dipresipitasi dan dibersihkan akan dilarutkan dalam buffer atau air bebas nuklease. DNA yang sudah terelusi siap digunakan untuk eksperimen selanjutnya, seperti PCR, kloning, atau analisis lainnya.

RNA

Aturan Dasar untuk Kerja dengan RNA

1. **Autoclave Semua Peralatan:** Pastikan semua plastikware dan glassware yang akan bersentuhan dengan RNA (seperti tabung reaksi, pipet, dan botol) telah di-autoclave. Ini untuk menghindari kontaminasi oleh RNase, yang dapat merusak RNA.
2. **DEPC-Treatment untuk Air:** Semua air yang akan digunakan dalam pembuatan buffer RNA harus diperlakukan dengan DEPC (diethylpyrocarbonate) untuk menginaktivasi RNase. Tambahkan DEPC pada konsentrasi 0.1% dan biarkan selama beberapa jam, lalu autoclave untuk menghilangkan sisa DEPC. **Catatan:** Jangan gunakan DEPC pada buffer tris, karena DEPC dapat terurai menjadi etanol dan karbon dioksida.
3. **Hindari Buffer Alkalin:** Karena RNA sangat sensitif terhadap pH basa, hindari penggunaan buffer yang bersifat alkali. Grup hidroksil pada RNA membuat molekul ini sangat sensitif terhadap basa.
4. **Pisahkan Buffer RNA dari Buffer Lain:** Pastikan buffer yang digunakan untuk isolasi RNA dipisahkan dari buffer lain yang digunakan dalam eksperimen lain untuk meminimalkan risiko kontaminasi silang.

Tahapan Isolasi RNA Secara Singkat

1. **Lisis Sel:** Menggunakan buffer lisis yang mengandung detergen untuk merusak membran sel dan melepaskan RNA ke dalam larutan. Proses ini harus dilakukan dengan hati-hati untuk meminimalkan kerusakan RNA.
2. **Penghilangan Protein dan DNA:** RNA yang telah dilepaskan dari sel perlu dipisahkan dari protein dan DNA. Ini biasanya dilakukan menggunakan larutan fenol-kloroform atau kolom pemurnian berbasis silika untuk menghilangkan kontaminan tersebut.

3. **Presipitasi RNA:** RNA dipresipitasi dengan menambahkan alkohol (seperti etanol atau isopropanol), yang menyebabkan RNA mengendap. Ini memudahkan pemisahan RNA dari kontaminan yang lebih larut dalam alkohol.
4. **Pembersihan RNA:** Setelah presipitasi, RNA dibersihkan dengan pencucian menggunakan etanol untuk menghilangkan sisa-sisa alkohol dan kontaminan lainnya.
5. **Elusi RNA:** Setelah dibersihkan, RNA yang terpresipitasi dilarutkan dalam buffer bebas RNase atau air bebas nuklease untuk digunakan dalam eksperimen lebih lanjut, seperti qPCR atau analisis RNA-seq.

Daftar Pustaka

- Barker, K.** 1998. At the Bench: A Laboratory Navigator. 1st Edition. Cold Spring Harbor Laboratory Press. New York, pp 460.
- Dariel, B., John, G., Janet, Hurst.** 2016. Basic Practical Microbiology: A Manual. The Microbiology Society, London, 1-40.
- Mistry, N., Gorman, S.G.** 2020. What laboratory skills to students possess at the start of University? Chemistry Education Research and Practice. 21(3).
- Sanchez, E., Wilkes, T.** 2016. Practical laboratory skills for molecular biologists. 1st Edition. LGC, United Kingdom, (1) 1-94.
- Varghese, N., Joy, P.P.** 2014. Microbiology Laboratory Manual. Pineapple Research Station (Kerala Agricultural University), 2-76