

JADWAL PRAKTIKUM BIOKIMIA

Waktu	Kegiatan dan Judul Percobaan
2 Februari 2018	Penjelasan Awal Praktikum di Lab. Biokimia Dasar
9 Februari 2018	Modul 1 Isolasi DNA dan Elektroforesis Gel Agarosa
23 Februari 2018	
2 Maret 2018	Modul 2 Reaksi Uji Protein dan Penentuan Kadar Protein
9 Maret 2018	
16 Maret 2018	Modul 3 Kinetika Reaksi Enzim
23 Maret 2018	
6 April 2018	Modul 4 Penentuan Kadar Glukosa dalam Darah
13 April 2018	
20 April 2018	Modul 5 Uji Aktivitas Suksinat Dehidrogenase
27 April 2018	
4 Mei 2018	Ujian Akhir Praktikum Akhir masa pengembalian dan penggantian peralatan

PANDUAN PENGGUNAAN

HAZARDOUS MATERIALS IDENTIFICATION SYSTEM

Hazardous Identification System adalah suatu metode untuk mengidentifikasi potensi bahaya suatu bahan kimia dengan kode numerik dan warna berdasarkan OSHA *Hazard Communication Standard*. Metode yang biasa digunakan untuk mengklasifikasikan *hazard* terbagi menjadi dua yaitu NFPA 704 (*National Fire Protection Association*) dan HIMS (*Hazardous Materials Identification System*). Prinsip kedua metode ini hampir sama hanya saja terdapat perbedaan pada cara menggambarkan risiko bahaya dan penggunaan standar *hazardnya*. Pada NFPA 704, bahaya digambarkan dengan belah ketupat berwarna sedangkan pada HIMS digunakan bar berwarna dan kode angka dari nol sampai empat.



Gambar 1 *Hazardous Identification System* untuk NFPA (a) dan HIMS (b)

NFPA

Warna biru di sebelah kiri menandakan risiko kesehatan. Warna Merah di bagian atas merupakan keterangan mengenai tingkat mudah menyalanya suatu bahan dan warna kuning di sebelah kanan memberikan informasi mengenai tingkat reaktivitas bahan kimia tersebut. Proteksi personal sendiri diberikan pada warna putih di bagian bawah. Setiap warna pada *Hazardous Identification System* cara NFPA ini memiliki kode numerik yang menunjukkan tingkatan bahaya.

HIMS

Pada *Hazardous Identification System* cara HIMS, boleh dikatakan tidak terlalu berbeda dengan NFPA hanya saja penggambaran masing-masing kategorinya disusun berdasarkan kolom-kolom berwarna. Kolom pertama adalah kolom risiko kesehatan dan dilanjutkan dengan kolom kedua yang berisikan informasi tingkat mudah menyalanya suatu bahan kimia. Kolom ketiga berwarna oranye berisikan informasi reaktivitas dan terakhir kolom berwarna putih berisikan informasi alat kelengkapan untuk proteksi diri. Sama dengan NFPA, HIMS ini juga menggunakan kode numerik untuk memberikan informasi pada masing-masing kolom.

Kode Numerik *Hazardous Identification System*

Biru / Kesehatan

Kode Angka	Keterangan
0	Tidak ada resiko signifikan bagi kesehatan
1	Iritasi atau cedera ringan mungkin
2	Cedera sementara atau minor dapat terjadi
3	Kemungkinan besar cedera kecuali dilakukan pengobatan medis dengan segera
4	Mengancam jiwa, kerusakan besar atau permanen dapat dihasilkan dari <i>overexposures</i> tunggal atau berulang

Merah / Kemudahan menyala

Kode Angka	Keterangan
0	Bahan yang tidak akan terbakar
1	Bahan yang harus dipanaskan sebelum pengapian terjadi. Termasuk cairan, padatan dan semi-kristalin yang memiliki titik nyala di atas 93°C
2	Bahan yang harus dipanaskan atau terkena suhu lingkungan yang tinggi sebelum pengapian terjadi. Termasuk cairan yang memiliki titik nyala pada atau di atas 38°C, tetapi di bawah 93°C
3	Dapat menyala hampir di semua kondisi suhu normal. Termasuk cairan yang mudah terbakar dengan <i>flash point</i> di bawah 23°C dan titik didih di atas 38°C, serta cairan dengan <i>flash point</i> antara 23°C dan 38°C
4	Gas yang mudah terbakar, atau cairan yang mudah terbakar sangat fluktuatif dengan <i>flash point</i> di bawah 23°C, dan titik didih di bawah 38°C. Bahan dapat menyala secara spontan saat kontak dengan udara

Kuning / Reaktivitas

Kode Angka	Keterangan
0	Bahan yang biasanya stabil, bahkan di bawah kondisi api, dan tidak akan bereaksi dengan air, berpolimerisasi, membusuk, menguap, atau bereaksi sendiri. Bahan yang tidak eksplosif
1	Bahan yang biasanya stabil tetapi dapat menjadi tidak stabil (bereaksi sendiri) pada suhu tinggi dan pada tekanan tertentu. Bahan dapat bereaksi dengan air atau mengalami polimerisasi berbahaya dengan tidak adanya inhibitor

2	Bahan yang tidak stabil dan dapat mengalami perubahan kimia pada suhu dan tekanan normal dengan risiko ledakan rendah. Bahan dapat bereaksi hebat dengan air atau membentuk peroksida setelah terpapar udara
3	Bahan yang memungkinkan membentuk ledakan apabila bercampur dengan air, sangat eksplosif apabila ada sumber inisiasi kuat. Bahan dapat berpolimerisasi, membusuk, bereaksi sendiri, atau mengalami perubahan kimia lainnya pada suhu dan tekanan normal dengan risiko ledakan sedang
4	Bahan yang segera bereaksi dengan air (eksplosif), berpolimerisasi, atau bereaksi sendiri pada suhu dan tekanan normal

Putih / Proteksi personal

Kode Angka	Keterangan
0	Bahaya minimal
1	Agak berbahaya
2	Cukup berbahaya
3	Berbahaya
4	Sangat berbahaya

HAZARDOUS MATERIALS IDENTIFICATION SYSTEM

HAZARD INDEX

4 = SEVERE HAZARD	An asterisk(*) or other designation corresponds to additional information on a data sheet or separate chronic effects notification Additional Information
3 = SERIOUS HAZARD	
2 = MODERATE HAZARD	
1 = SLIGHT HAZARD	
0 = MINIMAL HAZARD	

PERSONAL PROTECTION INDEX

A
B
C
D
E
F
G
H
I
J
K
X Consult your supervisor or S.O.P. for "SPECIAL" handling directions

PERSONAL PROTECTION EQUIPMENT

A <small>Safety Glasses</small>	n <small>Splash Goggles</small>	o <small>Face Shield & Eye Protection</small>	p <small>Gloves</small>
q <small>Boots</small>	r <small>Synthetic Apron</small>	s <small>Full Suit</small>	t <small>Dust Respirator</small>
u <small>Vapor Respirator</small>	w <small>Dust & Vapor Respirator</small>	y <small>Full Face Respirator</small>	z <small>Airline Hood or Mask</small>

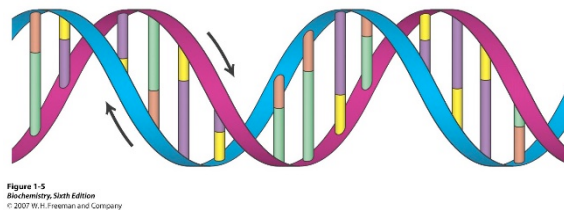
Gambar 2 Alat kelengkapan proteksi diri

PERCOBAAN I

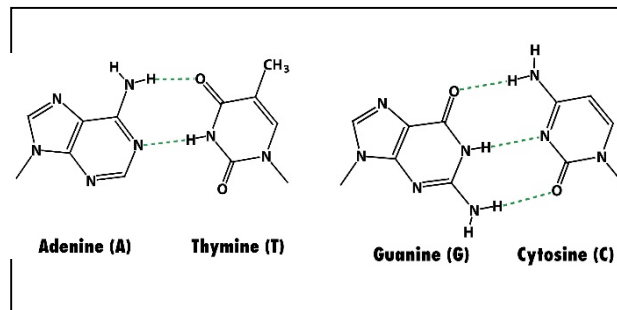
ISOLASI DNA DARI BUAH DAN ELEKTROFORESIS GEL AGAROSA

PENDAHULUAN

DNA (*dexoyribonucleotide acid*) atau asam nukleat deoksi merupakan materi genetik yang menentukan sifat suatu organisme. DNA adalah suatu polinukleotida yang disusun oleh monomer dATP (deoksi adenine trifosfat), dTTP (timin), dGTP (guanin), dCTP (sitosin) yang bergabung melalui ikatan fosfodiester. Struktur DNA di dalam sel umumnya membentuk untai ganda berbentuk heliks dimana kedua untainya mempunyai urutan nukleotida yang komplemen dan terhubung oleh ikatan hidrogen antar basa, adenine-timin dan guanin-sitosin (**Gambar 1.1** dan **Gambar 1.2**).



Gambar 1.1 Struktur DNA.



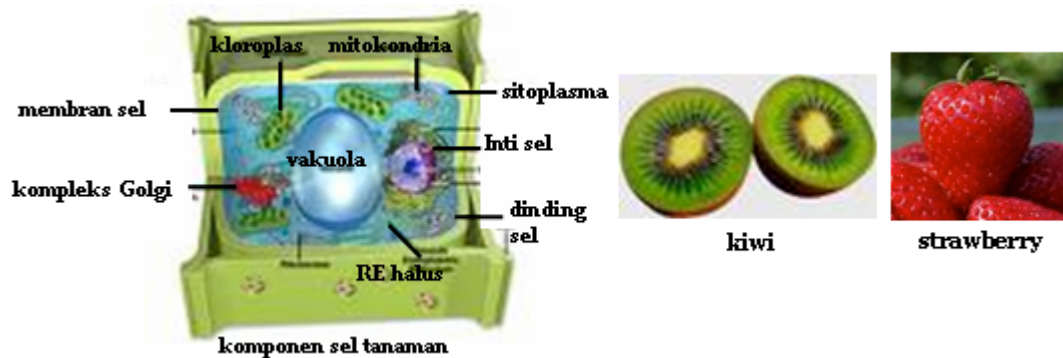
Gambar 1.2 Ikatan hidrogen pada pasangan basa.

Adenin berpasangan dengan timin (A-T), dan guanin berpasangan dengan sitosin (G-C).

Adanya gugus fosfat pada monomer nukleotida, penyusun molekul DNA, menyebabkan larutan DNA bermuatan negatif di dalam air. Larutan DNA akan bermigrasi berdasarkan ukurannya pada medium pendukung gel agarosa dalam bufer dan medan listrik tertentu (elektroforesis). DNA hasil elektroforesis divisualisasikan dengan merendam gel agarosa tersebut dalam larutan etidium bromida atau zat pewarna lainnya. DNA yang mengikat zat pewarna akan mengalami fluoresensi jika diberi sinar UV (ultraviolet). Untuk menentukan ukuran DNA hasil elektroforesis, digunakan DNA standar yang telah diketahui ukurannya.

Tujuan percobaan ini adalah mengisolasi DNA kromosom dari buah dan memahami konformasi struktur DNA dengan metode elektroforesis. DNA sel buah umumnya terdapat di dalam inti (**Gambar 1.3**). Oleh karena letaknya di dalam organel maka tahapan pertama isolasi DNA adalah memecahkan dinding sel dan membran sel secara mekanik. Detergen digunakan

untuk mendegradasi membran sel dan senyawa-senyawa lain di sekitar inti secara kimia. Komponen-komponen sel selanjutnya dipisahkan melalui penyaringan dan sentrifugasi. DNA diekstraksi dari larutan menggunakan pelarut organik, seperti etanol dan isopropanol.



Gambar 1.3 Sel tanaman dan komponen-komponennya

PERCOBAAN

Alat:

Alat elektroforesis
Power supply
Lampu UV
Gelas kimia
Batang pengaduk
Tabung *microcentrifuge*
Sarung tangan dan kacamata pelindung

Bahan:

Buah
Detergen
NaCl
Isopropanol
TAE bufer (0,04 M Tris-asetat, 0,002 M EDTA pH 7,8)
0,8% gel agarosa dalam TAE
Gel-loading buffer (0,04M Tris-asetat mengandung 50% gliserol dan 0,25% bromphenol blue, pH 8.0)
Marker DNA
EtBr (*ethidium bromida*)

Health	1
Fire	1
Reactivity	0
Personal Protection	E

Perhatian : *Ethidium bromida* adalah senyawa mutagenik dan karsinogenik. Gunakan sarung tangan dan jas lab selama bekerja. Gunakan kaca mata pelindung atau letakkan gel agarosa di bawah shield khusus ketika melihat DNA di bawah lampu UV karena sinar UV dapat merusak mata dan kulit. Jangan menyentuh alat elektroforesis yang dialiri arus listrik.

PROSEDUR

A. Isolasi DNA dari buah

1. Potong buah strawberry atau kiwi dan haluskan dengan garpu dalam gelas kimia.
2. Tambahkan 3 g NaCl dan 10 mL detergen
3. Tambahkan air hingga volume 100 mL
4. Aduk campuran dengan garpu dan saring
5. Diamkan cairan hasil penyaringan selama beberapa menit dan pindahkan sebanyak 6 mL cairan ke dalam tabung reaksi
6. Tambahkan 9 mL larutan isopropanol dingin dan biarkan selama beberapa menit sampai terbentuk lapisan DNA berupa 'gelatin putih'
7. Lilitkan DNA pada batang pengaduk dan larutkan dalam air di dalam tabung *microcentrifuge*.

B. Elektrophoresis Gel Agarosa

1. Tambahkan *gel loading buffer (tracking dye)* ke dalam larutan DNA.
2. Tambahkan bufer elektroforesis ke dalam *tank*.
3. Masukkan 10 μ L setiap campuran di atas (campuran B1) ke dalam masing-masing sumur gel agarosa dan pasang penutupnya.
4. Hubungkan kabel ke *power supply* dan lakukan elektroforesis pada 50–70 Volts.
5. Matikan power supply ketika *tracking dye* sampai pada ujung bawah gel.
6. Angkat gel dan masukkan ke dalam larutan etidium bromida
7. Periksa DNA di bawah lampu UV

Pertanyaan

1. Gambarkan pola migrasi DNA hasil isolasi dan DNA standar. Jelaskan hasil yang diperoleh
2. Jelaskan mengapa etidium bromida dapat digunakan untuk memvisualisasi fragmen DNA

TUGAS PENDAHULUAN

1. Mengapa DNA disebut sebagai *blue print* makhluk hidup?
2. Gambarkan struktur monomer pembentuk DNA dan gambarkan ikatan fosfodiester yang menghubungkan monomer DNA
3. Jelaskan prinsip gel elektroforesis agarosa

DAFTAR PUSTAKA

1. Wood, E. J. Workshop Pendidikan Life Sciences, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, ITB, 26-28 Agustus, 2003.
2. Berg, J. M., Tymoczko, J. L., and Stryer, L. Biochemistry, 6th ed, W. H. Freeman and Company, New York, 2006.