

**PETUNJUK PRAKTIKUM
BIOKIMIA I**

**Editor :
Dewi Yuliani, M.Si**



**LABORATORIUM BIOKIMIA
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2018**

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, segala puji bagi Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan diktat "Petunjuk Praktikum Biokimia I". Diktat ini disusun untuk mempermudah proses penyelenggaraan kegiatan Praktikum Biokimia. Tujuan umum dari praktikum ini adalah untuk membekali mahasiswa agar memiliki kemampuan bekerja di laboratorium. Kemampuan ini berguna untuk persiapan pelaksanaan penelitian tugas akhir. Adapun tujuan khusus adalah pengaplikasian teori biokimia yang sudah diperoleh mahasiswa selama perkuliahan.

Praktikum Biokimia I merupakan salah satu matakuliah wajib tempuh dengan bobot 1 SKS. Oleh karena itu, pelaksanaannya perlu dilakukan beberapa persiapan. Persiapan tersebut meliputi pembekalan (*breafing*) asisten dan praktikan.

Penulis memahami bahwa diktat "Petunjuk Praktikum Biokimia I" masih perlu dilakukan perbaikan dan penyesuaian setiap tahunnya seiring dengan perkembangan ilmu pengetahuan. Penulis selalu mengharapkan kritik dan saran dari berbagai pihak. Mahasiswa yang telah menempuh praktikum ini diharapkan dapat meningkatkan kemampuan dan pemahamannya terutama di bidang Biokimia.

Penulis mengucapkan selamat bekerja dan mencoba. Semoga diktat ini dapat memberikan manfaat bagi kita semua. Amin.

Malang, September 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Kata Pengantar.....	2
Daftar Isi.....	3
Percobaan 1 Penentuan Kadar Karbohidrat	4
Percobaan 2 Analisis Protein	7
Percobaan 3 Analisis Lemak.....	11
Percobaan 4 Penentuan Kadar Vitamin C.....	15
Percobaan 5 Pengenalan Mikroorganisme	18
Percobaan 6 Kinetika Enzim.....	23
Percobaan 7 Isolasi DNA Bakteri.....	28
Lampiran I	31
Lampiran II	33
Lampiran III	34

PERCOBAAN I

PENENTUAN KADAR KARBOHIDRAT

A. Tujuan Percobaan

Percobaan ini bertujuan untuk menentukan kadar karbohidrat (glukosa) dengan metode sulfat fenol.

B. Dasar Teori

Karbohidrat merupakan senyawa organik yang paling melimpah di alam. Senyawa ini dapat ditemukan baik pada tubuh manusia, hewan maupun tumbuhan. Karbohidrat pada umumnya dibagi menjadi tiga golongan yaitu monosakarida, disakarida dan polisakarida. Monosakarida merupakan karbohidrat yang paling sederhana, contohnya adalah glukosa, fruktosa dan galaktosa. Disakarida merupakan senyawa yang tersusun atas dua molekul monosakarida, sedangkan polisakarida adalah senyawa yang tersusun atas banyak molekul monosakarida (glukosa). Aldehida (-CHO) dan keton (=CO) merupakan gugus fungsi yang terdapat pada karbohidrat. Senyawa ini juga mengandung banyak gugus hidroksil (-OH).

Penentuan kadar karbohidrat dapat dilakukan menggunakan metode sulfat fenol. Metode ini mengukur karbohidrat total yang dideteksi berdasarkan perubahan warna. Prinsip metode sulfat fenol adalah proses pendehidrasian glukosa menjadi hidroksimetil furfural. Keberadaan senyawa ini ditandai dengan pembentukan warna hijau pada produk setelah penambahan fenol. Kadar karbohidrat diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 480-490 nm. Metode sulfat fenol merupakan metode yang relatif mudah digunakan dengan ketelitian yang memadai.

C. Alat dan Bahan

Alat

- Seperangkat alat gelas
- Mortar
- Spektronik/spektrofotometer UV-Vis
- Timbangan
- Kuvet
- Spatula

Bahan

- Buah Pisang
- Fenol 0,05 g/mL
- Asam sulfat 98%
- Glukosa
- Na oksalat
- Pb asetat jenuh dan netral
- Akuades
- Kertas saring

D. Cara Kerja

1) Pembuatan Kurva Standar

Glukosa dibuat larutan dengan berbagai konsentrasi yaitu 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 dan 0,1 mg/mL. Satu mililiter larutan glukosa dimasukkan dalam kuvet, ditambahkan 1 mL fenol 0,05 mg/mL dan 5 mL asam sulfat 98%. Diamkan campuran tersebut selama 10 menit. Tentukan absorbansi sampel pada panjang gelombang 485 nm. Data absorbansi yang diperoleh dibuat persamaan regresi linier menggunakan program Excel.

2) Preparasi Sampel

Pisang sebanyak 1 g buah pisang dibuat dalam bentuk pasta dengan menambahkan 45 mL akuades. Pasta dipindahkan dalam labu ukur 100 mL. Setelah itu, ditambahkan beberapa tetes Pb asetat jenuh sambil diaduk dan biarkan terjadi pengendapan. Lakukan penyaringan menggunakan kertas saring. Kemudian, filtrat ditambah beberapa tetes Na oksalat untuk mengetahui adanya kelebihan Pb. Filtrat bebas dari Pb apabila ditambahkan dengan Na oksalat tidak membentuk endapan putih. Apabila terbentuk endapan putih lakukan penyaringan kembali.

3) Penentuan kadar glukosa sampel

Larutan sampel sebanyak 1 mL dimasukkan dalam labu ukur 50 mL dan ditandabatkan. Selanjutnya, diambil 1 mL sampel encer (hasil pengenceran) dan masukkan dalam kuvet. Sampel encer ditambahkan 1 mL fenol 0,05 mg/mL dan 5 mL asam sulfat 98%, kemudian diamkan selama 10 menit. Tentukan absorbansi sampel encer pada panjang gelombang 485 nm.

4) Analisis Data

Tentukan konsentrasi glukosa menggunakan kurva standar. Hitung kadar % glukosa menggunakan rumus berikut.

$$\% \text{ Glukosa} = \text{faktor pengenceran} \times \text{konsentrasi glukosa} \times 100\%$$

E. Diskusi

1. Jelaskan prinsip pengukuran kadar karbohidrat berdasarkan metode sulfat fenol.
2. Apa fungsi masing-masing bahan dalam percobaan ini.
3. Apa fungsi kurva standar dalam percobaan ini.

F. Daftar Pustaka

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., dan Smith, F. (1959): Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances, *Anal. Chem.*, 28(3), 350-356.

Nielsen, S.S. (2010): *Phenol-Sulfuric Acid Method for Total Carbohydrate, Phenol Sulphuric Acid Carbohydrate Assay*. Diakses tanggal 20 Februari 2016 dari <http://cmdr.ubc.ca/bobh/methods/PHENOLSULPHURICACIDCARBOHYDRATEASSAY.html>

Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S.I., dan Lee, Y.C. (2005): Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format, *Anal. Biochem.*, 339, 69-72..

PERCOBAAN II

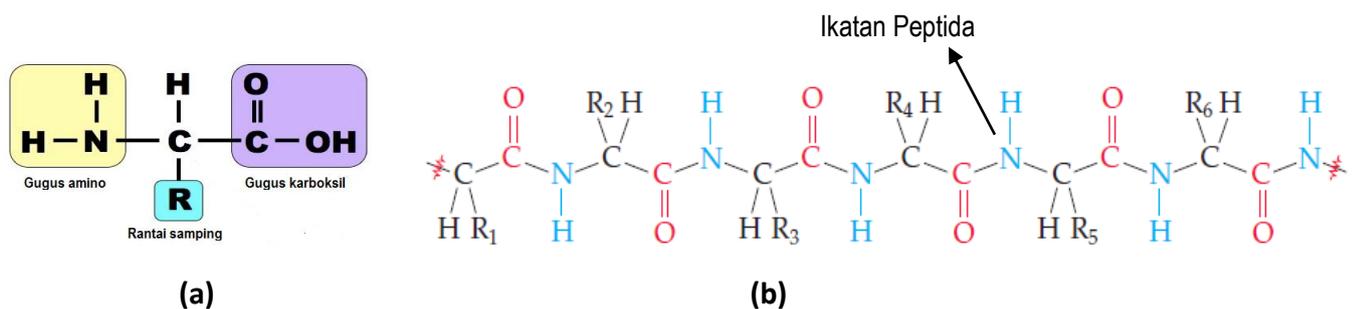
ANALISIS PROTEIN

A. Tujuan Percobaan

Percobaan ini bertujuan untuk menganalisis protein secara kualitatif dan kuantitatif.

B. Dasar Teori

Protein merupakan makromolekul yang memegang peranan penting pada hampir semua proses biologi. Fungsi protein dalam tubuh antara lain membantu perkembangan sel dan menjaga pertahanan tubuh. Protein tersusun atas polimer asam amino, dimana asam amino merupakan senyawa yang terdiri dari gugus amina (-NH₂), gugus karboksil (-COOH) dan rantai samping (R). Rantai samping ini yang membedakan antara asam amino satu dengan asam amino yang lainnya.



Gambar 1. (a) Struktur dasar asam amino, dan (b) Struktur primer protein

Dua atau lebih asam amino dapat membentuk polipeptida melalui pembentukan ikatan peptida. Ikatan ini dibentuk antara gugus amina pada asam amino satu dengan gugus karboksilat pada asam amino yang lain. Ikatan peptida pada rantai polipeptida ditunjukkan pada Gambar 2.

Adanya protein dalam suatu sampel dapat diketahui secara kualitatif dengan menggunakan uji biuret dan ninhidrin sebagai berikut.

a) Uji Biuret

Uji ini menggunakan reagen biuret yang mengandung NaOH dan CuSO₄ encer. Reagen biuret akan bereaksi dengan ikatan peptida protein pada sampel. Adanya protein sampel ditunjukkan perubahan sampel menjadi warna ungu. Pembentukan warna disebabkan karena adanya kompleks ion Cu⁺ dengan ikatan peptida protein.

b) Uji Ninhidrin

Prinsip dari uji ini adalah interaksi antara ninhidrin dengan asam amino bebas. Asam amino bebas memiliki gugus $-NH_2$ yang tidak digunakan untuk membentuk ikatan peptida dengan asam amino lain. Adanya asam amino bebas pada uji ninhidrin ditunjukkan dengan pembentukan warna biru sampel.

Pengukuran protein secara kuantitatif dapat juga dilakukan dengan menggunakan metode biuret. Prinsipnya sama dengan pengujian secara kualitatif yaitu memanfaatkan interaksi Cu^{2+} dengan ikatan peptida sehingga dihasilkan warna ungu. Warna yang terbentuk akan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 540 nm. Penentuan kadar protein memerlukan suatu standar (kurva standar) yang memberikan range tertentu.

C. Alat dan Bahan

Alat

- Seperangkat alat gelas
- Termometer
- Oven
- Hotplate/penangas
- Spektrofotometer Uv-Vis
- Kuvet

Bahan

- Susu 100 mL
- Kecambah
- Asam asetat glasial
- Akuades
- Etanol
- BSA (Bovine serum albumin)
- Reagen biuret
- Petroleum eter
- NaOH 40%
- $CuSO_4$ 0,5%
- Reagen ninhidrin 0,1%
- Kertas saring
- Indikator universal

D. Cara Kerja

1) Ekstraksi Kasein pada Susu

Susu sebanyak 100 mL dimasukkan dalam gelas beker dan dipanaskan hingga suhunya $40^\circ C$. Kemudian, susu hangat ditambahkan 1 mL asam asetat glasial tetes demi tetes (hingga pH 4,6) sambil diaduk. Campuran dibiarkan mendingin pada suhu kamar. Saring endapan yang terbentuk menggunakan kertas saring. Endapan dicuci dengan 20 mL etanol 95% dan didekantasi. Endapan dicuci kembali dengan 50 mL campuran etanol-petroleum eter (1:1)

dan didekantasi. Endapan hasil dekantasi ditambah 50 mL eter dan dekantasi kembali. Endapan dipindahkan ke gelas arloji dan dikeringkan dalam oven. Endapan yang terbentuk merupakan kasein.

2) Uji Kualitatif Protein

(a) Uji Biuret

Kasein sebanyak 1 gram dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 5 mL etanol kemudian diaduk menggunakan vortex. Setelah itu, ditambah 1 mL NaOH 40% dan diaduk kembali. Campuran tersebut ditambah 2 tetes CuSO_4 0,5% dan kocok. Amati perubahan yang terjadi.

(b) Uji Ninhidrin

Kasein sebanyak 1 gram dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah 5 mL etanol kemudian diaduk menggunakan vortex. Selanjutnya, tambahkan 5 tetes ninhidrin 0,1% dan panaskan hingga mendidih. Amati perubahan yang terjadi.

3) Uji Kuantitatif Protein dengan Metode Biuret

(a) Pembuatan Kurva Standar

Larutan protein standar BSA dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berbeda dengan volume 0 (blanko); 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1 mL. Masing-masing tabung reaksi ditambahkan akuades hingga volume total 4 mL. Kemudian, ditambahkan 6 mL reagen biuret dan homogenkan. Diamkan selama 30 menit hingga membentuk warna ungu sempurna. Ukur dan catat absorbansi pada 550 nm. Buat kurva standar antara konsentrasi protein dan absorbansi.

(b) Penetapan Kadar Protein Kecambah

Satu gram kecambah diekstrak dengan 20 mL akuades. Filtrat yang diperoleh dimasukkan dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan. Filtrat encer diambil 1 mL dan ditambah 4 mL akuades. Setelah itu, tambahkan 6 mL reagen biuret dan homogenkan. Diamkan selama 30 menit hingga membentuk warna ungu sempurna. Ukur dan catat absorbansi sampel pada 550 nm. Tentukan konsentrasi protein dengan menggunakan kurva standar.

E. Diskusi

1. Berdasarkan hasil percobaan, sebutkan sifat-sifat kasein yang bisa anda amati.
2. Jelaskan prinsip analisis protein menggunakan metode biuret dan ninhidrin.
3. Apa fungsi BSA dalam percobaan ini? Dapatkah BSA diganti dengan protein jenis lain. Jelaskan jawaban anda.

F. Daftar Pustaka

Keppy, N.K. & Allen, M.W. (2016): *The Biuret Method for the Determination of Total Protein Using an Evolution Array 8-Position Cell Changer*, http://www.acm2.com/prilोजना/UV-VIS_Applications/Buuret%20analysis.pdf, diakses tanggal 5 Agustus 2016.

Astuti, R.N. (2009): *Konsep Dasar Kimia*, UIN Press, Malang.

Himedia Laboratories. (2015): *Hiper Protein Estimation Teaching Kit (Qualitative)*, <http://himedialabs.com/td/htbc004.pdf>, diakses tanggal 23 November 2015.

Lehninger, A.L. (1990): *Dasar-Dasar Biokimia*, Jilid 1. Terjemahan Maggy Thenawidjaja. Erlangga, Jakarta.

McMurry, J.E., Fay, R.C., dan Fantini, J. (2012): *Chemistry*, 6th Ed., Prentice Hall, New York.

Chang, R. dan Overby, J. (2011): *General Chemistry, The Essential Concepts*, 6th Ed., McGraw Hill, New York.

PERCOBAAN III

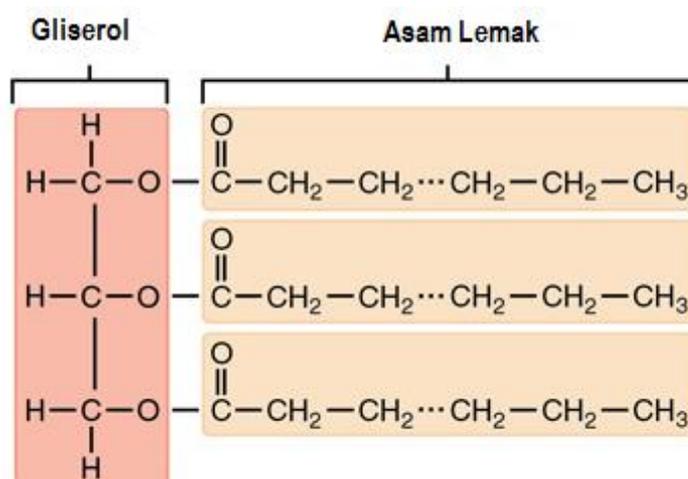
ANALISIS LEMAK

A. Tujuan Percobaan

Percobaan ini bertujuan untuk menentukan kadar asam lemak bebas dan angka peroksida pada minyak.

B. Dasar Teori

Minyak goreng merupakan salah satu bahan makanan yang banyak digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Minyak goreng dapat diekstraksi dari tumbuhan seperti kelapa sawit dan hewan atau dapat diperoleh dari hasil sintesis. Minyak goreng tergolong senyawa lipid trigliserida yang strukturnya terdiri dari asam lemak dan gliserol.



Gambar 1. Struktur Trigliserida

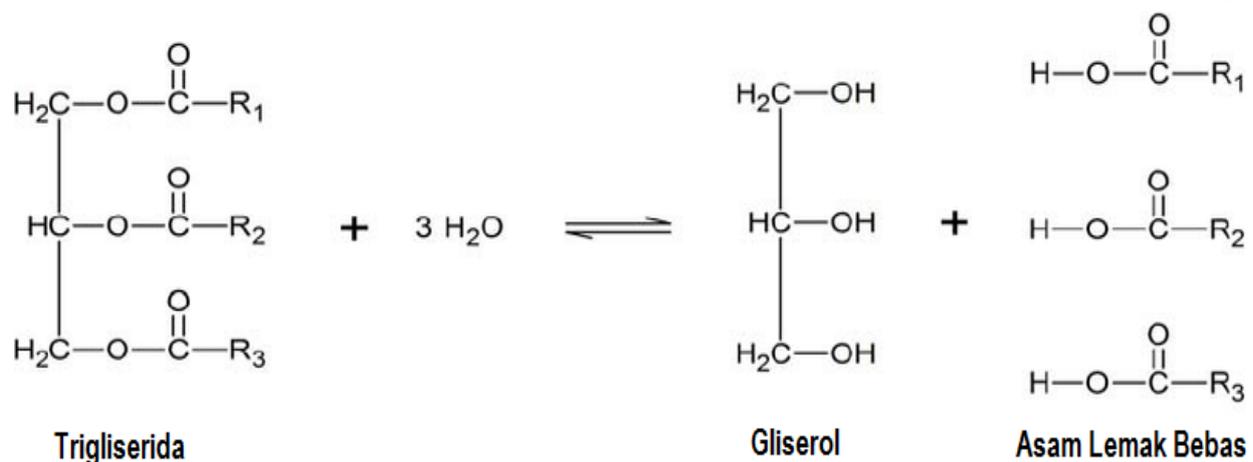
(<http://study.com/cimages/multimages/16/triglycerides2.jpg>)

Minyak goreng adalah produk olahan yang mudah mengalami kerusakan (ketengikan) yang ditandai dengan perubahan rasa dan bau. Kerusakan ini dapat disebabkan oleh panas, interaksi dengan air (hidrolisis) dan oksigen (oksidasi) serta aktivitas enzim. Penggunaan minyak goreng yang sudah rusak atau tidak sesuai standar dapat membahayakan kesehatan. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengujian mutu minyak goreng. Parameter yang dapat digunakan untuk menentukan mutu/kualitas minyak goreng antara lain kadar asam lemak bebas dan angka peroksida.

(1) Asam lemak bebas

Asam lemak bebas adalah hasil dari proses hidrolisis senyawa trigliserida dengan produk samping berupa gliserol. Parameter ini menunjukkan banyaknya asam lemak bebas dalam minyak. Kadar asam lemak bebas ditentukan melalui proses titrasi menggunakan NaOH. Semakin tinggi kadar asam lemak bebas, maka semakin rendah kualitas minyak goreng.

Proses pembentukan asam lemak bebas ditunjukkan reaksi berikut (https://www.researchgate.net/profile/Robert_Babcock/publication/253638502/figure/fig6/AS:298109436481543@1448086236938/Figure-8-Hydrolysis-of-triglycerides.png).



Gambar 2. Proses hidrolisis trigliserida

(2) Angka peroksida

Angka peroksida adalah parameter yang menunjukkan keberadaan senyawa peroksida dalam minyak. Keberadaan peroksida ini disebabkan karena proses oksidasi asam lemak tidak jenuh oleh oksigen. Semakin tinggi angka peroksida dalam minyak maka semakin rendah kualitas minyak tersebut. Penentuan angka peroksida dalam minyak dapat dilakukan dengan titrasi iodometri. Titrasi ini menggunakan natrium tiosulfat sebagai senyawa penitrasi.

C. Alat dan Bahan

Alat

- Erlenmeyer 250 mL
- Pipet ukur 25 mL
- Bunsen
- Kaki tiga + kasa
- Buret + penyangga
- Pipet ukur 2 mL
- Pipet tetes
- Hotplate/penangas

Bahan

- Minyak goreng bekas
- Minyak goreng baru
- Akuades
- Indikator pp
- Etanol 95%
- Na₂S₂O₃ 0,1 M
- NaOH 0,1 M
- Asam asetat
- Kloroform
- Larutan KI jenuh
- Larutan pati 1%

D. Cara Kerja

1) Penentuan Kadar Asam Lemak Bebas

Minyak goreng baru diambil sebanyak 14 gram dan dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL. Minyak tersebut ditambah 25 mL etanol 95% dan dipanaskan pada suhu 40 °C. Kemudian, tambahkan 3 tetes indikator pp dan dititrasi dengan NaOH 0,1 M sampai muncul warna merah jambu. Ulangi langkah diatas pada sampel minyak goreng bekas. Percobaan tersebut dilakukan triplo (tiga kali). Hitung kadar asam lemak bebas dalam sampel menggunakan persamaan (1).

2) Penentuan Kadar Angka Peroksida

Minyak goreng baru sebanyak 5 gr dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL dan ditambah 30 mL campuran asam asetat-kloroform (3:2). Kocok sampel dan tambahkan 0,5 mL larutan KI jenuh. Diamkan selama 1 menit, tambahkan 30 mL akuades dan 0,5 mL pati 1%. Selanjutnya, titrasi dengan Na₂S₂O₃ 0,1 N hingga warna biru menghilang. Percobaan tersebut dilakukan triplo (tiga kali). Hitung angka peroksida dalam sampel menggunakan persamaan (2).

3) Analisis Data

Perhitungan asam lemak bebas dan angka peroksida menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Asam Lemak Bebas (\%)} = \frac{\text{mL NaOH} \times \text{M NaOH} \times \text{BM}}{\text{berat sampel (g)} \times 1000} \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{Angka peroksida} = \frac{\text{mL Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times \text{N Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \times 1000}{\text{berat sampel (g)}} \quad (2)$$

Keterangan:

mL NaOH = volume titran NaOH

BM asam lemak = 256 g/mol (asumsi minyak mengandung asam lemak palmitat)

mL Na₂S₂O₃ = volume titran Na₂S₂O₃

M NaOH = molaritas NaOH

N Na₂S₂O₃ = normalitas Na₂S₂O₃

E. Diskusi

1. Bagaimana asam lemak bebas dan senyawa peroksida dapat terbentuk dalam minyak.
2. Jelaskan prinsip pengujian asam lemak bebas dan angka peroksida dalam percobaan ini.
3. Perhitungan asam lemak bebas dan peroksida secara manual.

F. Daftar Pustaka

Lehninger, A.L. (1990): *Dasar-Dasar Biokimia*, Jilid 1. Terjemahan Maggy Thenawidjaja, Erlangga, Jakarta.

Poedjiadi, A. (1994): *Dasar-Dasar Biokimia*, UI Press, Jakarta.

Sudarmadji, S. & Haryono, B.S. (1996): *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*, Liberty, Yogyakarta.

PERCOBAAN IV

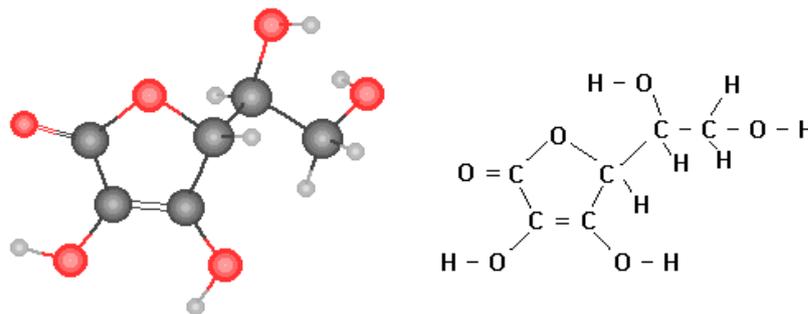
PENENTUAN KADAR VITAMIN C

A. Tujuan Percobaan

Percobaan ini bertujuan untuk menentukan kadar vitamin C dalam sampel.

B. Dasar Teori

Vitamin adalah senyawa organik kompleks esensial yang penting bagi manusia. Vitamin hanya diperlukan dalam jumlah sedikit oleh tubuh, miligram atau mikrogram per hari. Senyawa ini tidak dapat menghasilkan energi akan tetapi dapat berfungsi sebagai katalisator enzim dalam berbagai metabolisme tubuh. Kelebihan atau kekurangan vitamin dapat menyebabkan gangguan kesehatan. Vitamin dibedakan menjadi dua jenis yaitu vitamin yang tidak larut dalam air (A, D, E, K) dan vitamin yang larut dalam air.



Gambar 1. Struktur asam askorbat (www.andrew.cmu.edu)

Salah satu vitamin yang larut dalam air adalah vitamin C atau sering disebut sebagai asam askorbat. Senyawa mikronutrien ini berfungsi sebagai antioksidan, pembentuk kolagen dalam jaringan penghubung dan mencegah sariawan. Vitamin C terdapat hampir pada semua jenis buah yang berasa asam dan sayuran. Penentuan kadar vitamin C secara kuantitatif dapat dilakukan dengan titrasi oksidasi reduksi menggunakan reagen iodin.

C. Alat dan Bahan

Alat

- Gelas beker 250 mL
- Erlenmeyer 250 mL
- Timbangan analitik
- Pipet tetes
- Labu ukur 100 mL
- Pipet volume 1 mL

- Mortar
- Pipet ukur 50 mL
- Biuret 50 mL + penyangga
- Pisau/cutter

Bahan

- Buah
- Akuades
- Sayuran
- Larutan pati 1%
- Vitamin C tablet
- Iodin 0,1 M

D. CARA KERJA

1) Persiapan sampel

Sebanyak 5 gram buah/sayuran dipotong kecil-kecil. Sampel dihaluskan dengan mortar dan ditambah 25 mL akuades hingga berbentuk pasta. Pasta encer disaring dan diambil ekstraknya. Ekstrak dipindah ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan. Satu buah vitamin C tablet dilakukan penimbangan, selanjutnya digerus menggunakan mortar. Hasil gerusan dipindahkan dalam gelas beker dan dilarutkan dalam 50 mL akuades. Larutan vitamin C dipindahkan ke dalam labu ukur 100 mL dan ditandabatkan. Larutan sampel yang diperoleh ada tiga jenis yaitu ekstrak buah, ekstrak sayuran dan ekstrak vitamin C tablet.

2) Penentuan Kadar Vitamin C

Penentuan kadar vitamin C sampel dilakukan dengan titrasi menggunakan reagen iodin. Larutan sampel sebanyak 50 mL dimasukkan dalam erlenmeyer 250 mL dan ditambah 50 mL akuades. Selanjutnya, ditambah dengan 1 mL larutan pati 1%. Sampel encer dititrasi dengan iodin 0,1 M dalam buret. Ulangi langkah diatas sebanyak dua kali.

3) Analisis Data

Analisis data dalam percobaan ini berupa penentuan kadar vitamin C dalam bentuk persen dan massa. Perhitungan kadar vitamin C (%) dilakukan menggunakan persamaan berikut.

$$\text{Vitamin C (\%)} = \frac{V_{\text{iodin}} \times N_{\text{iodin}} \times 176 \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{\text{berat sampel (g)}} \times 100\%$$

Selain menggunakan persamaan tersebut, hitung kadar vitamin C secara manual sehingga diperoleh kadar dalam bentuk massa, baik gram maupun milligram. Bandingkan kadar vitamin C pada masing-masing sampel dan simpulkan.

E. Diskusi

1. Bagaimana prinsip pengujian kadar vitamin C. Jelaskan.
2. Sebutkan fungsi-fungsi bahan yang digunakan dalam percobaan ini.
3. Salah satu manfaat vitamin C adalah dapat digunakan sebagai antioksidan. Jelaskan mengapa demikian.

F. Daftar Pustaka

A. L. Lehninger. (1990): *Dasar – Dasar Biokimia*, Erlangga, Jakarta.

Austin Peay State University Department of Chemistry. (2016): *Analysis of Vitamin C*, diakses 1 Maret 2016 dari https://www.apsu.edu/sites/apsu.edu/files/chemistry/SP11_1021_ANALYSIS_OF_VITAMIN_C.pdf.

College of Science, University of Canterbury. (2016): *Determination of Vitamin C concentration by titration*, diakses 1 Maret 2016 dari http://www.outreach.canterbury.ac.nz/chemistry/documents/vitaminc_iodine.pdf.

R. N. Astuti. (2009): *Konsep Dasar Kimia*, UIN Press, Malang.

PERCOBAAN V

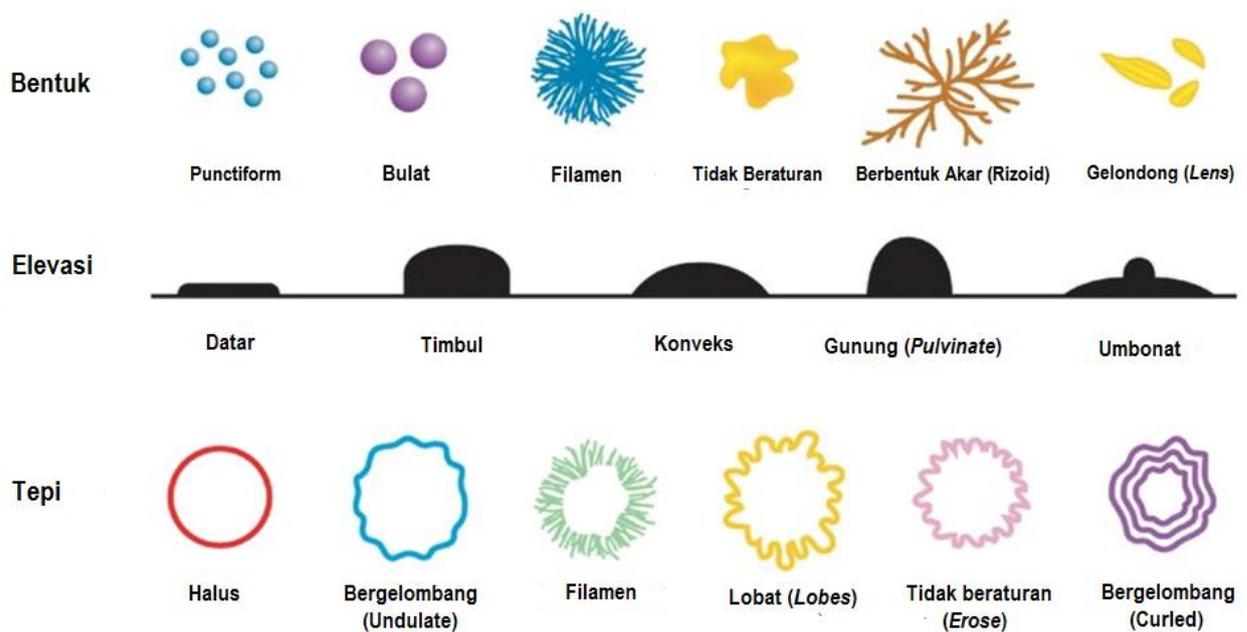
PENGENALAN MIKROORGANISME

A. Tujuan Percobaan

Percobaan ini bertujuan untuk mengenal morfologi mikroorganisme (bakteri dan jamur).

B. Dasar Teori

Mikroorganisme adalah sebuah organisme yang berukuran sangat kecil sehingga tidak dapat dilihat dengan kasat mata (*naked eye*). Mikroorganisme dapat ditemukan diberbagai tempat seperti tanah, air, udara bahkan pada tubuh makhluk hidup. Organisme yang tergolong mikroorganisme antara lain bakteri dan jamur (*yeast*). Pengenalan dan identifikasi mikroorganisme dapat dilakukan dengan mudah apabila mikroorganisme tersebut ditumbuhkan dalam suatu media pertumbuhan. Media tersebut harus mengandung berbagai macam nutrisi, seperti karbon dan nitrogen. Media pertumbuhan yang sering digunakan yaitu media NA (*Nutrient Agar*) untuk bakteri dan PDA (*Potato Dextrose Agar*) untuk jamur.



Gambar 1. Deskripsi koloni bakteri berdasarkan bentuk, elevasi dan tepi (slideplayer.com)

Identifikasi mikroorganisme, khususnya bakteri dan jamur, dapat dilakukan berdasarkan variasi tampilan atau morfologi (bentuk dan struktur). Ketika sel bakteri atau jamur ditumbuhkan pada suatu media pertumbuhan, maka mikroorganisme tersebut akan mengalami pembelahan

secara eksponensial beribu-ribu kali lipat. Sel tersebut akan membentuk suatu massa yang dapat terlihat yang disebut koloni. Setiap spesies bakteri dan jamur akan menunjukkan karakteristik koloni tertentu (Gambar 1).

Karakteristik koloni bakteri dan jamur sangat bervariasi dan beberapa koloni memiliki keunikan tersendiri sehingga cukup sulit untuk dilakukan identifikasi. Meskipun demikian, ada unsur-unsur dasar yang dapat digunakan untuk membantu proses identifikasi antara lain:

- Bentuk – apa bentuk dasar dari koloni.?
- Elevasi – apa bentuk penampang koloni?
- Margin/tepi - apa bentuk tepi koloni?
- Permukaan – bagaimana permukaan koloni muncul? Misal: halus, berkilau, kasar, kusam, keriput, dan sebagainya.
- Warna – apa warna koloni? Misal: putih, merah, ungu, dan sebagainya.

C. Alat dan Bahan

Alat

- Cawan petri steril
- Hotplate/penangas
- *Laminar Flow*
- Bunsen
- Jarum ose
- Erlenmeyer 250 mL

Bahan

- Isolat bakteri
- Isolat jamur
- Media NA
- Media PDA
- Akuades
- Etanol 70%

D. Cara Kerja

1) Pembuatan Media

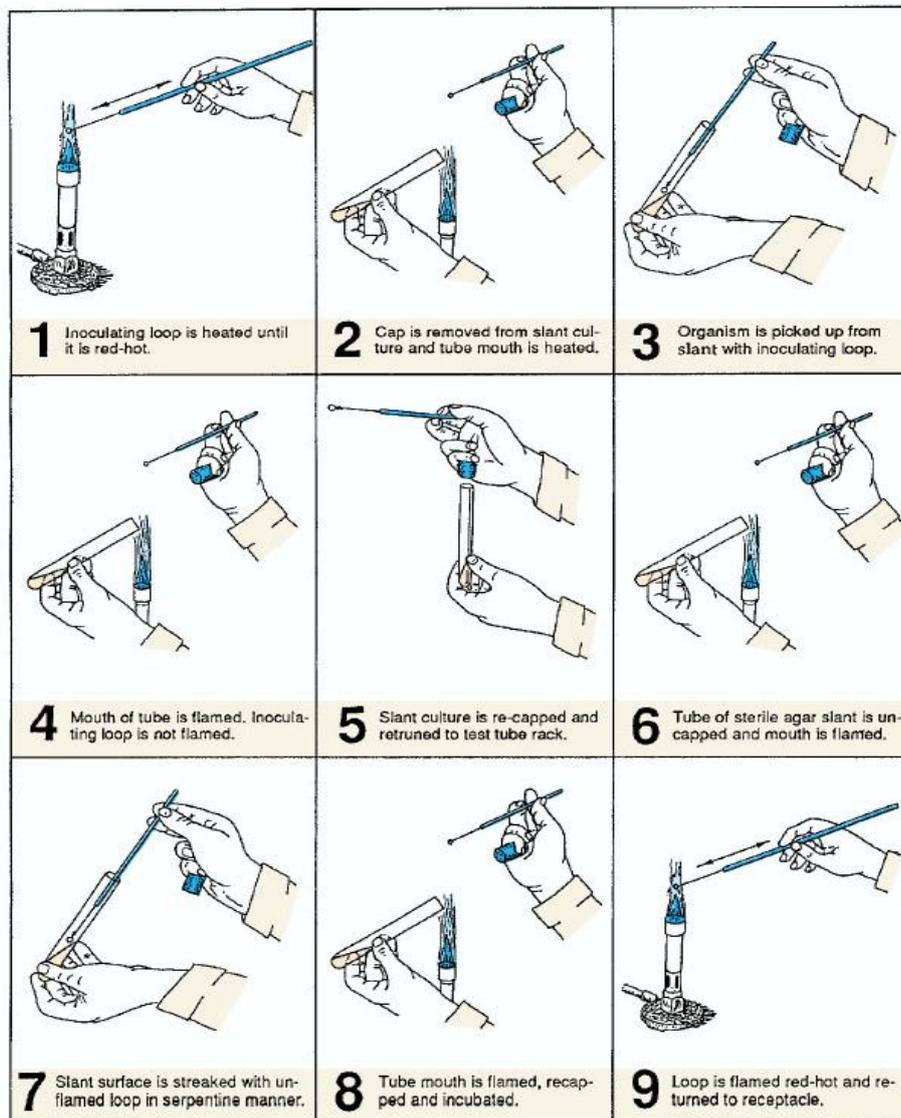
Pembuatan media NA: Serbuk NA sebanyak 6,5 gram ditambah 50 mL akuades dan dipanaskan hingga serbuk NA terlarut. Biarkan suhu larutan NA menjadi tidak terlalu panas (suam-suam kuku) kemudian tuangkan larutan ke dalam 3 buah cawan petri steril. (Anda juga dapat menuangkan 50 mL larutan NA ke dalam tabung reaksi yang masing-masing berisi 5 mL larutan).

Pembuatan media PDA: Serbuk PDA sebanyak 1,45 gram ditambah 50 mL akuades dan dipanaskan hingga serbuk terlarut. Biarkan suhu larutan menjadi tidak terlalu panas (suam-suam kuku) kemudian tuangkan larutan ke dalam 3 buah cawan petri steril.

Catatan: tahapan ini dikerjakan secara aseptik di dekat bunsen dalam *Laminar Flow*.

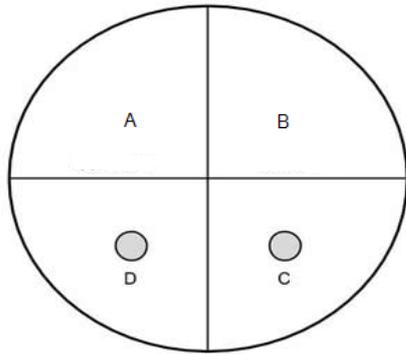
2) Inokulasi mikroorganisme secara aseptik

Proses inokulasi koloni bakteri dan jamur dilakukan menggunakan teknik aseptik. Prosedur inokulasi ditunjukkan pada Gambar 2 (http://www.arabslab.com/vb/uploaded/8_21195597457.jpg).



Gambar 2. Prosedur Inokulasi ke dalam media

Tanpa membuka cawan, bagilah cawan petri menjadi 4 bagian dan tandai menggunakan spidol, sebagaimana yang ditunjukkan pada Gambar 1.



Gambar 3. Cawan petri

Keterangan

- A = isolat bakteri 1
- B = isolat bakteri 2
- C = sentuh dengan jari
- D = sentuh dengan jari setelah cuci tangan

3) Pengamatan

Pengamatan secara makroskopis pada koloni bakteri dan jamur dapat dilakukan berdasarkan penampilan atau morfologinya. Pengamatan morfologi pada bakteri meliputi karakteristik bentuk, warna, permukaan, elevasi dan tepi. Adapun pengamatan morfologi pada jamur meliputi warna dan bentuk miseliumnya. Tuliskan nama bakteri atau jamur yang sudah teridentifikasi.

Tabel 1. Pengamatan morfologi koloni bakteri dan jamur (*yeast*)

Sampel	Pengamatan Koloni				
	Bentuk	Elevasi	Tepi	Permukaan	Warna
A					
B					
C					
D					
Jamur					

***Berdasarkan hasil pengamatan, simpulkan hasil percobaanmu.**

E. Diskusi

1. Sebutkan komposisi yang ada dalam medium NA dan PDA.
2. Apa fungsi dari masing-masing komposisi pada soal (1)
3. Prediksikan jenis bakteri yang muncul pada sampel C dan D berdasarkan berdasarkan studi literatur. Jelaskan jawaban anda.

F. Daftar Pustaka

Volk, W.A., & Wheeler, M.F. (1988): *Mikrobiologi Dasar* Jilid 1 Edisi ke 5, Erlangga, Jakarta.

Leung, B. & Liu, S. (2016): *Interpreting Plates*, http://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/project_ideas/MicroBio_Interpreting_Plates.shtml, diakses 4 Agustus 2016.

Biologycorner. Bacteria Lab, https://www.biologycorner.com/worksheets/bacteria_lab.html, diakses 3 Agustus 2016.

Clark College. (2016): *Lab Module 1: Ubiquity of Microorganism*, web.clark.edu/tkibota/240/Lab/M1_Ubiquity.pdf, diakses 2 Agustus 2016.

Bacteria Parasites Remedies. (n.d.).*HealTone*. Retrieved May 6, 2012, from <http://www.healtone.com/categories/-Parasites%252bBacteria/>Reece, J.B., Urry L.A., Cain, M.L., Wasserman, S.A., Minorsky, P.V., & Jackson, R. B. (2011) *Campbell Biology*. Boston: Benjamin Cummings.

Anonim. (2016): *Lab 3: Bacteria Colony Morphology & Mouthwash Experiment*, www.csus.edu/indiv/b/ballardr/bio%20002/lab%203.doc, diakses 2 Agustus 2016.

PERCOBAAN VI

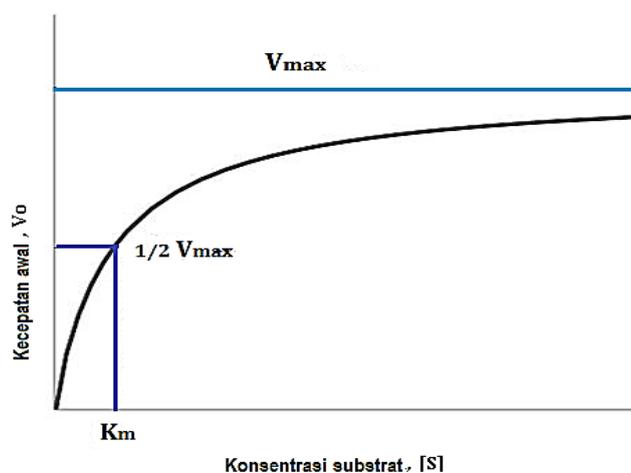
KINETIKA ENZIM

A. Tujuan Percobaan

Percobaan ini bertujuan untuk menentukan aktivitas enzim yang didasarkan parameter kinetika.

B. Dasar Teori

Enzim merupakan makromolekul protein yang berperan sebagai biokatalis. Enzim akan meningkatkan kecepatan reaksi kimia. Biokatalis ini dapat ditemukan pada setiap makhluk hidup. Amilase adalah salah satu enzim yang banyak diteliti oleh para ilmuwan. Enzim amilase bekerja mendegradasi polisakarida dan mengubahnya menjadi oligosakarida rantai pendek. Kerja enzim dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu konsentrasi substrat dan enzim, suhu, pH, dan inhibitor.



Gambar 1. Hubungan konsentrasi substrat dan enzim

Salah satu faktor yang mempengaruhi kecepatan katalisis enzim adalah konsentrasi. Grafik hubungan konsentrasi substrat terhadap kecepatan awal ditunjukkan pada Gambar 1. Berdasarkan grafik dapat diamati bahwa kecepatan enzim meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi substrat. Pada titik tertentu, kecepatan enzim akan cenderung konstan dengan peningkatan konsentrasi substrat. Keadaan ini menunjukkan bahwa enzim telah jenuh berikatan dengan substrat dimana enzim ini telah berada pada kecepatan maksimumnya yang disebut V_{max} . Parameter lain yang digunakan dalam penentuan kinetika lainnya adalah K_m

(konstanta Michaelis-Menten). K_m didefinisikan sebagai konsentrasi substrat tertentu pada saat enzim mencapai setengah kecepatan maksimumnya.

C. Alat dan Bahan

Alat

- Tabung reaksi
- Rak tabung reaksi
- Pipet ukur 10 mL
- Pipet volume 1 mL
- Neraca analitik
- Spektrofotometer UV-Vis
- Pipet tetes
- Bola hisap

Bahan

- Kultur bakteri
- Media NB (*Nutrient Broth*)
- Pati
- Reagen iodine
- Akuades

D. Cara Kerja

1) Ekstraksi enzim

Bakteri diambil sebanyak 1 ose dan masukkan ke dalam 25 mL media NB. Kultur bakteri diinkubasi pada *shaker incubator* selama 18 jam pada suhu 37°C. Kultur disentrifugasi pada kecepatan 5000 rpm selama 10 menit. Filtrat yang diperoleh merupakan ekstrak enzim kasar.

2) Pembuatan Kurva Standar

Langkah pertama dalam pembuatan kurva standar adalah membuat larutan pati dengan konsentrasi yang berbeda. Variasi konsentrasi yang digunakan adalah 0; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 dan 1,0 mg/mL. Larutan pati dimasukkan dalam enam tabung reaksi yang berbeda, masing-masing berisi 8 mL. Tambahkan akuades dan 1 mL reagen iodine pada larutan pati seperti yang ditunjukkan pada Tabel 1. Tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 10 menit. Absorbansi sampel diukur pada panjang gelombang 590 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 1. Data Absorbansi Kurva Standar

No. Tabung	8 mL pati dalam x mg/mL	Akuades (mL)	Reagen Iodin (mL)	Absorbansi 590 nm
1	0,0	9	1	
2	0,1	1	1	
3	0,3	1	1	
4	0,5	1	1	
5	0,7	1	1	
6	1,0	1	1	

Data absorbansi yang diperoleh diplotkan pada grafik menggunakan program Excel. Grafik ini menunjukkan hubungan antara absorbansi (sumbu Y) dengan konsentrasi (sumbu X). Tentukan persamaan garis berdasarkan data tersebut.

3) Uji aktivitas enzim terhadap variasi konsentrasi substrat

Larutan pati dibuat dalam berbagai konsentrasi yaitu 0; 0,1; 0,3; 0,5; 0,7 dan 1,0 mg/mL. Pati dimasukkan dalam enam tabung yang berbeda, masing-masing berisi 8 mL. Kemudian, larutan pati ditambahkan air dan 1 mL ekstrak kasar enzim sebagaimana yang ditunjukkan pada Tabel 2. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37 C selama 10 menit. Kemudian, ditambahkan reagen iodine sebanyak 1 mL. Setelah itu, tabung reaksi direndam dalam air dingin. Ukur absorbansi sampel pada panjang gelombang 590 nm menggunakan spektrofotometer Uv-Vis.

Tabel 2. Data Absorbansi Sampel

No. Tabung	8 mL pati dalam x mg/mL	Air (mL)	Ekstrak kasar enzim (mL)	Reagen Iodin (mL)	Absorbansi 590 nm
1	0,0	8	1	1	
2	0,1	0	1	1	
3	0,3	0	1	1	
4	0,5	0	1	1	
5	0,7	0	1	1	
6	1,0	0	1	1	

4) Analisis Data

Tabel 3. Perhitungan nilai kecepatan enzim

No. Tabung	[S] awal (mg/mL)	[S] akhir (mg/L)	[S] (mg/mL)	V (mg/mL.min)
1	0,0			
2	0,1			
3	0,3			
4	0,5			
5	0,7			
6	1,0			

Dimana, [S] awal = konsentrasi pati awal, [S] akhir = konsentrasi pati akhir setelah direaksikan dengan enzim, [S] = selisih konsentrasi pati akhir dengan pati awal dan V = kecepatan kerja enzim.

Perhitungan [S] akhir dilakukan dengan memasukkan data absorbansi yang diperoleh pada Tabel 2 ke dalam persamaan garis, $y = ax + b$, pada poin 1. Penentuan nilai [S] menggunakan persamaan berikut.

$$[S] = [S] \text{ awal} - [S] \text{ akhir}$$

Adapun perhitungan nilai V yaitu menggunakan persamaan: $V = [S] / 10$ menit.

Plot data [S] dan [V] pada grafik yang menghubungkan antara konsentrasi pati, [S], pada sumbu X dan kecepatan, V, pada sumbu Y. Buat juga grafik menggunakan plot yang berbeda seperti plot Lineweaver-Burk, plot Edie-Hofstee atau plot Hanes-Wolf. Pilih satu dari ketiga plot tersebut. Berdasarkan grafik tersebut, tentukan nilai Km dan Vmax.

E. Diskusi

1. Apa pengertian kinetika enzim.
2. Kerja enzim dipengaruhi parameter Vmax dan Km. Jelaskan mengenai eparameter tersebut.
3. Pengujian secara enzimatik dilakukan di dua kondisi yang berbeda sebagaimana yang ditunjukkan pada tabel berikut.

[S]/ 10 ⁻⁵ M	Vo	
	Kondisi A	Kondisi B
1,5	0,21	0,08
2,0	0,25	0,10
3,0	0,28	0,12
4,0	0,33	0,13

8,0	0.44	0,16
16,0	0,40	0,18

- a. Plot data menggunakan Lineweaver-Burk, Eddie Hofstee, dan Hanes-Wolf.
- b. Hitung nilai Vmax dan Kmax kedua kondisi.
- c. Simpulkan mengapa kondisi kedua data tersebut berbeda.

F. Daftar Pustaka

Anonim. (2016): *Analyzing enzyme kinetic data with a graphing calculator*. Diakses tanggal 17 Februari 2016 dari <http://dwb.unl.edu/calculators/pdf/Enzyme-Calc.pdf>.

Lehninger, A.L. (1990): *Dasar-Dasar Biokimia Jilid 1*. Diterjemahkan oleh Maggy Thenawidjaja. Erlangga, Jakarta.

Vlab.amrita.edu. (2011): *Effect of Substrate Concentration on Enzyme Kinetics*. Diakses tanggal 17 Februari 2016 dari vlab.amrita.edu/?sub=3&brch=64&sim=1090&cnt=1.

PERCOBAAN VII

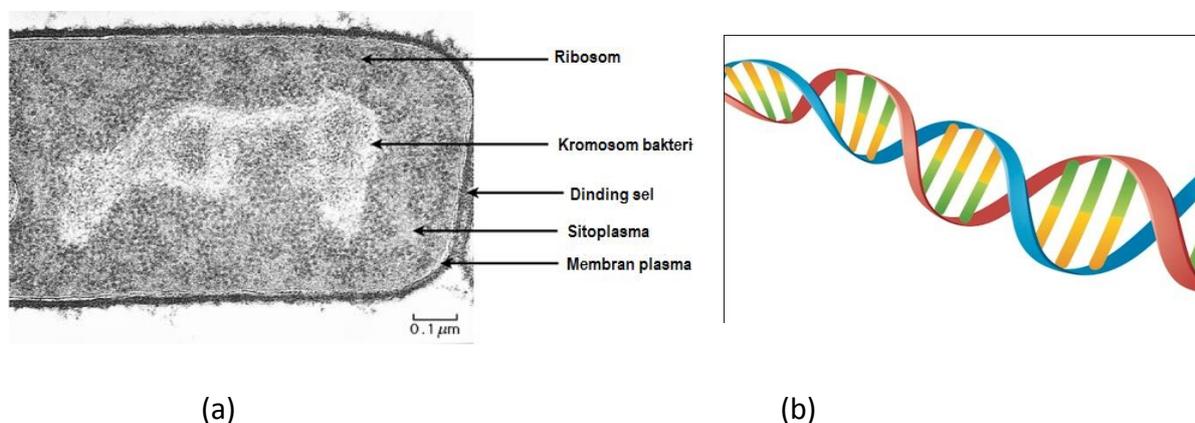
ISOLASI DNA BAKTERI

A. Tujuan Percobaan

Percobaan ini bertujuan untuk mengisolasi DNA dengan metode CTAB dan menentukan konsentrasinya.

B. Dasar Teori

Setiap sel dalam organisme memiliki materi genetik yang diwariskan secara turun temurun yang tersimpan dalam sitoplasma sel pada organisme prokariotik. Materi genetik tersusun atas molekul DNA (*deoxyribonucleic acid*) yang membawa informasi genetik. DNA berbentuk *double helix* (untai ganda) yang tersusun atas polimer nukleotida. Satu nukleotida terdiri dari satu molekul gula, satu molekul fosfat dan satu molekul basa nitrogen. Molekul basa dibagi menjadi dua jenis yaitu purin (Adenin/A dan Guanin/G) dan pirimidin (Sitosin/C dan Timin/T). Genom bakteri berbentuk sirkular. Salah satu bakteri yang banyak diteliti adalah *E. coli* dengan ukuran genom sekitar 4 juta pasang basa (pb) (Gambar 1).



Gambar 1. (a) Kromosom pada bakteri *E. coli*

(<http://ibguides.com/biology/notes/2.2-prokaryotic-cells>)

(b) Struktur untai ganda DNA

(http://cdn.theatlantic.com/static/mt/assets/science/shutterstock_34693498%20copy.jpg)

Proses isolasi DNA bertujuan untuk memisahkan DNA dari berbagai komponen dalam sel. Proses ini terdiri dari beberapa tahapan yaitu (a) pemecahan/lisis sel, (b) pemisahan DNA dari protein dan RNA, (c) pemurnian DNA dan (d) penentuan konsentrasi dan kemurnian DNA. Rentang kemurnian DNA yaitu 1.8-2.0 (Surzycki, 2000).

C. Alat dan Bahan

Alat

- Seperangkat alat gelas
- Tabung falcon
- Mikropipet dan tip
- Oven
- Botol semprot
- Sentrifuge
- Mikrotube
- Spektrofotometer Nanodrop

Bahan

- Kultur bakteri
- Nutrient Broth (NB)
- Bufer TE pH 8
- NaCl 5 M
- SDS 10%
- Isopropanol dingin
- Akuades
- CTAB/NaCl (10% CTAB in 0.7 M NaCl)
- Etanol 70% dingin
- Kloroform
- Isoamil alcohol
- Fenol

D. CARA KERJA

1) Pembuatan Kultur Bakteri

Isolat bakteri diambil dengan menggunakan jarum ose secara aseptik. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 5 mL media cair NB. Kultur diinkubasi selama semalam (\pm 20 jam) pada suhu ruang. Kultur bakteri sudah siap digunakan.

2) Isolasi DNA dengan metode CTAB

Kultur bakteri sebanyak 5 mL dimasukan dalam mikrotube dan disentrifugasi selama 2 menit dengan kecepatan 5000 rpm hingga membentuk pelet. Pelet yang dihasilkan ditambah 567 μ L bufer TE pH 8, 33 μ L SDS 10%. Campuran tersebut diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 jam. Setelah itu, ditambah 100 μ L NaCl 5 M dan 80 μ L CTAB/NaCl, kemudian diinkubasi selama 10 menit pada suhu 65°C. Setelah diinkubasi, ditambahkan kloroform: isoamil alkohol (24:1) dengan perbandingan 1:1 dengan sampel. Campuran disentrifugasi selama 5 menit dengan kecepatan 5000 rpm.

Supernatan yang dihasilkan diambil dan dipindahkan ke mikrotube yang baru. Setelah itu, ditambah phenol:chloroform:Isoamyl alcohol (P:C:I = 25:24:1) dan disentrifugasi kembali selama 5 menit dengan kecepatan 5000 rpm. Supernatan diambil dan dipindahkan mikrotube baru serta ditambahkan isopropanol dingin sebanyak 0,6 kali volume sampel. Kocok hingga terbentuk endapan putih. Selanjutnya, pindahkan pelet ke mikrotube yang berisi 50 µL etanol 70% dingin dan disentrifugasi kembali selama 5 menit. Pelet yang dihasilkan dikeringanginkan dan diresuspensi dengan 50 µL bufer TE pH 8 sambil divortex. Larutan (sampel DNA) yang diperoleh siap dianalisis.

3) Analisis Kuantitatif

DNA hasil isolasi dianalisis menggunakan spektrofotometer Nanodrop pada panjang 260 nm dan 280 nm untuk menentukan konsentrasi dan kemurniannya.

E. Diskusi

1. Gambarkan struktur DNA dalam bentuk untai nukleotida, AGCT.
2. Jelaskan prinsip isolasi DNA dengan metode CTAB.
3. Sebutkan dan jelaskan uji kuantitatif dan kualitatif yang dapat digunakan untuk menganalisis sampel DNA.

F. Daftar Pustaka

Fatchiya, E.L., Widyarti, S. & Rahayu, S.(2011): *Biologi Molekuler: Prinsip Dasar Analisis*, Erlangga, Jakarta.

Fitriya, R.T., Ibrahim, M. & Lisdiana, L. (2105): *Keefektifan Metode Isolasi DNA Kit dan CTAB/NaCl yang Dimodifikasi pada Staphylococcus aureus dan Shigella dysenteriae*, web ejournal.unesa.ac.id/article/14238/33/article.pdf, diakses tanggal 7 Agustus 2016.

Wilson, K. (2001): Preparation of Genomic DNA from Bacteria, [Curr Protoc Mol Biol](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11811427/), [10.1002/0471142727.mb0204s56](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11811427/).

Surzycki, S. (2000): *Basic Technique in Molecular Biology*. Springer. New York

LAMPIRAN I. FORMAT LAPORAN

Sampul (berwarna merah muda)

Bab I Pendahuluan

1.1 Latar Belakang

Berisi gagasan atau argumentasi pentingnya percobaan ini dilakukan.

1.2 Tujuan (sesuai dengan buku petunjuk praktikum)

Bab II Tinjauan Pustaka

2.1 Dasar Teori

Berisi dasar teori yang dapat mendukung pembahasan. Setiap dasar teori yang digunakan harus mencantumkan sumber referensi berupa *end note* (nama penulis, tahun).

2.2 Tinjauan Bahan

Berisi penjelasan bahan yang digunakan baik sifat fisik maupun sifat kimianya.

Bab III Metode Percobaan

3.1 Alat

3.2 Bahan

3.3 Cara Kerja

Setiap sub bab (alat, bahan dan cara kerja) ditulis dalam bentuk paragraf dengan menyertakan konsentrasi dan merk alat-bahan yang digunakan.

Bab IV Hasil dan Pembahasan

4.1 Data Pengamatan

Berisi data-data hasil percobaan yang disajikan secara ringkas, seperti dalam bentuk tabel atau gambar.

4.2 Analisis Hasil

Berisi bahasan hasil percobaan yang dihubungkan dengan dasar teori. Setiap hasil percobaan harus dijelaskan secara ilmiah berdasarkan literatur. Pada bab ini, analisis prosedur ditulis sesingkat mungkin.

BAB V Kesimpulan

Pada bagian ini berisi hasil akhir percobaan yang ditulis secara ringkas yang menjawab tujuan percobaan.

Daftar Pustaka

Dalam pembuatan laporan praktikum, daftar pustaka yang digunakan minimal 5 referensi dan 2 diantaranya harus bersumber dari artikel jurnal. Tidak diperkenankan menggunakan daftar pustaka yang bersumber yang tidak terpercaya seperti dari blogspot, wordpress, dan wikipedia.

Lampiran

Pada bagian ini berisi diagram alir percobaan, data mentah, perhitungan, lembar RA (*Risk Assessment*) dan jawaban diskusi.

LAMPIRAN II. CONTOH COVER

ISOLASI DNA BAKTERI
(.....Judul Percobaan)

Disusun oleh:

Nama :
NIM :
Kelompok :
Tanggal :
Asisten :
Dosen :



LABORATORIUM BIOKIMIA
JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM MALANG
2017

LAMPIRAN III. LIMBAH HASIL PERCOBAAN

Percobaan	Jenis Limbah		Kategori
I	1.	Campuran glukosa, fenol dan asam sulfat	Organik
	2.	Campuran filtrat pisang, Pb asetat, Na oksalat, fenol dan asam sulfat	Logam
II	1.	Campuran susu dan asam asetat glasial	Organik
	2.	Campuran kasein, etanol dan petroleum eter	Organik
	3.	Campuran kasein, etanol, NaOH dan CuSO ₄	Logam
	4.	Campuran kasein, etanol dan ninhidrin	Logam
	5.	Campuran BSA dan reagen biuret	Logam
	6.	Campuran ekstrak kecambah dan reagen biuret	Logam
III	1.	Campuran minyak goreng, etanol, indikator pp dan NaOH	Organik
	2.	Campuran minyak goreng, asam asetat, kloroform, KI jenuh, pati dan Na ₂ S ₂ O ₃	Organik halogen
IV	Campuran ekstrak sampel, reagen iodin dan larutan pati		Organik halogen
V	Isolat bakteri		
VI	1.	Campuran pati dan reagen iodin	Organik halogen
	2.	Campuran kultur bakteri, pati dan reagen iodin	Organik halogen
VII	1.	Campuran kultur bakteri, bufer TE, SDS, NH ₄ COOH, NaCl, kloroform, isoamil alkohol dan CTAB/NaCl	Organik
	2.	Campuran supernatan DNA, fenol, kloroform, isoamil alkohol, isopropil dan bufer TE	Organik