

K
I
M
I
A

PETUNJUK PRAKTIKUM BIOLOGI DASAR

Oleh :
Nunung Harijati, PhD
Prof. Dr. Ir. Estri Laras Arumingtyas
Sofy Permana, M.Sc., D.Sc
Rodliyati Azrianingsih, PhD
Dr. Suharjono, M.Si
Ir. Retno Mastuti, M.Agr.Sc., D.Agr.Sc

**LABORATORIUM
BIOLOGI DASAR
JURUSAN BIOLOGI
FAKULTAS MIPA
UNIVERSITAS
BRAWIJAYA
MALANG**

**SEMESTER GENAP
2017/2018**

DAFTAR ISI

DAFTAR ISI	#
JADWAL PRAKTIKUM	2
TATA TERTIB PRAKTIKUM	3
CARA MENYUSUN DAFTAR PUSTAKA	5
FORMAT LAPORAN PRAKTIKUM	6
1. Penggunaan Mikroskop dan Kalibrasi Mikrometer	7
2. Studi Sel Prokariot dan Eukariot	15
3. Isolasi DNA	22
4. Mitosis pada Sel Tumbuhan	24
5. Struktur Jaringan pada Sel Hewan (Mamalia)	25
6. Jaringan Penyusun Organ Tumbuhan	27
7. Variasi Pigmen Daun Pada Beberapa Spesies Tumbuhan	29
8. Biosistematika dan Evolusi	32

**JADWAL PRAKTIKUM BIOLOGI DASAR
UNTUK KELAS KIMIA - MIPA
SEMESTER GENAP 2017/2018**

Mgg Ke	Tanggal	Topik ke	Materi Praktikum	Metode Evaluasi ^{*)}
1.	Jum'at, 9 Februari			
2.	Jum'at, 16 Februari			
3.	Jum'at, 23 Februari	-	Briefing Praktikum	
4.	Jum'at, 2 Maret	1	Materi 1. Penggunaan Mikroskop dan Kalibrasi Mikrometer	1, 2, 3, 4
5.	Jum'at, 9 Maret	2	Materi 2. Studi Sel Prokariot dan Eukariot	1, 2, 3, 4
6.	Jum'at, 16 Maret	3	Materi 3. Isolasi DNA	1, 2, 3, 4
7.	Jum'at, 23 Maret	4	Materi 4. Mitosis pada Sel Tumbuhan	1, 2, 3, 4
	Sabtu, 24 Maret	^{*)} <i>In Hole</i> Materi 1 s/d 4		
8.	Jum'at, 30 Maret	UTS mata kuliah (tidak ada praktikum)		
9.	Jum'at, 6 April			
10.	Jum'at, 13 April	5	Materi 5. Struktur Jaringan pada Sel Hewan (Mamalia)	1, 2, 3, 4
11.	Jum'at, 20 April	6	Materi 6. Jaringan penyusun organ tumbuhan	1, 2, 3, 4
12.	Jum'at, 27 April	7	Materi 7. Variasi Pigmen Daun Pada Beberapa Spesies Tumbuhan	1, 2, 3, 4
13.	Jum'at, 4 Mei	8	Materi 8. Biosistematika dan Evolusi	1, 2, 3, 4
14.	Jum'at, 11 Mei	^{*)} <i>In Hole</i> Materi 5 s/d 8		
15.	Jum'at, 18 Mei	UJIAN AKHIR PRAKTIKUM (UAP)		
16.	Jum'at, 25 Mei	UAP Susulan (bila ada)		

^{*)}**Metode Evaluasi:**

1 = tiket masuk

2 = Pre/Post-test

3 = Laporan praktikum

4 = UAP

Keterangan: Total jumlah topik yang bisa in hole adalah **maksimal 2 (dua) topik**

Malang, 12 Februari 2018

Kalab Biodas

Ttd

Dr. Sri Widyarti, M.Si

TATA TERTIB PRAKTIKUM

A. Sebelum Praktikum

1. Mahasiswa harus datang 10 menit **SEBELUM** acara praktikum dimulai.
2. **Batas toleransi keterlambatan** adalah 10 menit sesudah acara praktikum dimulai atau sebelum pengarahan oleh asisten berakhir.
3. Setiap kali praktikum, mahasiswa **harus** membawa **jas praktikum, softcopy buku pedoman praktikum, tiket masuk, form laporan praktikum** dan **peralatan menulis**. Jika diperlukan diperkenankan membawa kalkulator dan pensil warna.
4. Petunjuk tiket masuk dan form laporan praktikum hasil pengamatan akan disampaikan kemudian.
5. Sebelum melaksanakan praktikum, setiap kelompok harus membuat bon peminjaman alat-alat kepada laboran serta **mencocokkan jumlah, macam dan kondisi alat** dengan bon peminjaman.

B. Selama dan Sesudah Praktikum

1. Setiap pelaksanaan praktikum dimulai dengan **pretest** dari materi yang akan dilakukan hari itu dan **posttest** dari materi minggu sebelumnya.
2. **Hasil pengamatan** dituliskan langsung pada form laporan praktikum (yang sudah disiapkan praktikan). Hasil pengamatan pada form laporan praktikum harus mendapatkan **persetujuan (acc)** dari asisten yang bertugas.
3. Setelah praktikum selesai, setiap kelompok **harus membersihkan** semua alat yang dipakai dan mengembalikan kepada laboran sesuai dengan jumlah, macam dan kondisi alat pada bon peminjaman alat.
4. Seluruh mahasiswa diharapkan ikut menjaga kebersihan laboratorium.
5. Setiap kelompok atau mahasiswa wajib mengganti alat yang rusak atau hilang selama dipinjam **sebelum ujian akhir praktikum (UAP)**.

C. Laporan Praktikum

1. Laporan praktikum dituliskan dalam form laporan praktikum.
2. Laporan praktikum dikumpulkan setiap hari Senin minggu berikutnya.
3. Laporan dengan nilai kurang dari atau sama dengan 60 atau tidak memenuhi persyaratan diberlakukan revisi dengan nilai maksimal 70.
4. Mahasiswa yang **tidak mengumpulkan** laporan praktikum sampai **TIGA KALI** (kumulatif), maka praktikum dianggap **GUGUR**.

D. Tidak Dapat Mengikuti Praktikum

1. Mahasiswa yang tidak dapat mengikuti praktikum **HARUS ADA SURAT IJIN** yang bisa dipertanggungjawabkan. Penyampaian surat ijin diberi waktu **maksimal sampai topik selanjutnya (1 minggu)**, bila tidak ada, maka dianggap **tidak ada keterangan** dan **TIDAK BOLEH mengikuti in hole**.
2. Mahasiswa yang dengan terpaksa tidak dapat mengikuti praktikum yang sudah dijadwalkan pada kelasnya disertai alasan yang jelas **HARUS** melapor maksimal saat topik terakhir praktikum kepada **koordinator asisten** untuk mengikuti **in hole** dengan menanggung semua biaya keperluan bahan praktikumnya sendiri sesuai dengan materi yang akan dikerjakan.
3. **In hole** akan dilaksanakan sesuai jadwal yang ditentukan dan dilaksanakan bersama-sama dengan kelas biologi dasar yang lain (dilaksanakan dalam 1 hari).
4. Mahasiswa yang tidak dapat mengikuti praktikum sampai **TIGA KALI (tanpa keterangan surat ijin)**, maka praktikum dianggap **GUGUR**.

E. Mahasiswa Dinyatakan GUGUR dalam praktikum

1. Mahasiswa **tidak mengumpulkan laporan maksimal tiga kali** (meskipun mengikuti praktikum).
2. Mahasiswa **tidak mengikuti praktikum maksimal tiga kali** tanpa alasan atau tanpa surat keterangan atau karena terlambat.
3. Mahasiswa yang dinyatakan GUGUR, **tidak diperbolehkan** mengikuti inhole maupun Ujian Akhir Praktikum.
4. Mahasiswa yang dinyatakan GUGUR otomatis mendapat **nilai E**.

F. Ujian Akhir Praktikum (UAP)

1. Mahasiswa yang berhalangan mengikuti ujian akhir praktikum (UAP) karena sakit (menunjukkan surat dokter) atau keperluan lain yang mendadak, maka diberi kesempatan untuk ujian susulan (secara bersama-sama dengan mahasiswa lain) 7 hari setelah pelaksanaan ujian akhir praktikum selesai. Sesudah 7 hari, laboratorium tidak melayani ujian praktikum susulan.
2. Mahasiswa yang mengikuti ujian susulan **HARUS** mendaftar paling lambat 1 hari sebelum ujian tulis dimulai dengan membawa surat keterangan dokter atau surat keterangan lain yang dapat dipertanggungjawabkan. Tanpa mendaftar lebih dahulu maka ujian akhir praktikum tidak dapat dilayani.

G. Larangan dan Sanksi

1. Membawa buku laporan praktikum mahasiswa angkatan sebelumnya dalam bentuk apapun ke dalam ruang laboratorium. Sanksi atas pelanggaran ini adalah mahasiswa tersebut akan **dikeluarkan dari ruang laboratorium saat itu juga**.
2. Makan, minum, merokok, memakai sandal dan berkaus oblong selama pelaksanaan praktikum. Sanksi atas pelanggaran ini adalah mahasiswa tersebut akan dikeluarkan saat itu juga.
3. **Menggunakan alat komunikasi** pada kondisi yang **tidak tepat**. Alat komunikasi harap *disilent* atau dinonaktifkan. Sanksi atas pelanggaran ini adalah mahasiswa tersebut akan **dikeluarkan dari ruang laboratorium saat itu juga**.
4. **Menyontek atau mengerpek** pada **saat pre/post-test, Ujian Akhir Praktikum (UAP) maupun menyusun laporan**. Sanksi atas pelanggaran ini adalah **nilai UAP dianggap 0 (NOL)**, sedangkan **nilai laporannya** akan dibagi **sejumlah mahasiswa yang saling mencontek**.
5. Mencoret-coret meja laboratorium. Sanksi atas pelanggaran ini adalah membersihkan ruangan laboratorium pada akhir pekan.
6. Sanksi berlaku untuk setiap pelanggaran, **TIDAK ADA toleransi dan pengecualian**.

H. Hal-hal lain yang belum tercantum dalam tata tertib ini akan diatur kemudian

Malang, 12 Februari 2018
Kepala Laboratorium Biologi Dasar
Jurusan Biologi Fakultas MIPA

Dr. Sri Widyarti, M.Si
NIP. 19670525 199103 2 001

CARA MENYUSUN DAFTAR PUSTAKA

- a. Suatu pernyataan yang merupakan suatu pengetahuan umum tidak perlu dicantumkan referensinya (seperti berat molekul, nama spesies, komposisi larutan)
- b. Hati-hati menggunakan informasi yang berasal dari website yang tidak resmi. Website personal tidak valid dipakai sebagai referensi.
- c. Referensi yang tertulis dalam daftar pustaka harus tercantum dalam naskah (contoh: Richard & Pâques, 2000; Pâques dkk., 1998)
- d. Penulisan daftar pustaka mengikuti ketentuan berikut ini.

Journal: Author. Tahun. Judul. Nama Journal volume(issue), halaman. **Contoh:** Morehouse, S.I., Tung, R.S., Rodriguez, J.-C., Whiting, J.R. & Jones, V.R. 1993. Statistical evidence for early extinction of reptiles due to the K/T event. *Journal of Paleontology* 17(4), 198-209.

Book: Author. Tahun. Judul. Edition number. Edition series, editor. Issue. Number of volumes. Publisher, city. **Contoh:** Billoski, T.V. 1992. Introduction to Paleontology. 2nd ed. Trans. A. Translator. Series on Paleontology, edited by B.T. Jones, 6. 12 vols. Institutional Press, New York.

Book with referred Chapter: Author. Tahun. Judul. In: book editors (Eds), book title, edition pages. Volume. Number of volumes. Publisher, City. **Contoh:** Grosjean, F.O. & Schneider, G.A. 1990. Greenhouse hypothesis: Effect on dinosaur extinction. Trans. M.A. Caterino. In: N.R. Smith and E.D. Perrault (Eds), Extinction, 3rd ed., pp. 175-189. Vol. 2. 5 vols. Barnes and Ellis, New York.

Website: Author. Tanggal. Judul halaman atau artikel (web site). **Contoh:** Gutkind, J. S. (2000). Regulation of mitogen-activated protein kinase signaling networks by G protein-coupled receptors (<http://www.stke.org>).

FORMAT LAPORAN PRAKTIKUM

COVER LAPORAN PRAKTIKUM berisi

JUDUL PRAKTIKUM

TANGGAL PRAKTIKUM

NAMA DAN NIM PRAKTIKAN

KELOMPOK

PERNYATAAN (ditulis dengan ballpoint dengan menyalin isi berikut)

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama :

NIM :

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa isi dari laporan yang ditulis berikut ini merupakan murni dari hasil pemikiran saya dan tidak ada unsur *plagiat*.

Malang, tgl-bulan-tahun

Yang menyatakan,

(tanda tangan)

ISI LAPORAN PRAKTIKUM BERISI

DASAR TEORI

METODE

HASIL DAN PEMBAHASAN (*bila ada*)

KESIMPULAN

DAFTAR PUSTAKA

(Minimal 3 referensi berbahasa Inggris terdiri dari 2 referensi dalam bentuk text book, 1 referensi dalam bentuk jurnal. Bukti pustaka berupa jurnal disertakan dalam lampiran yang memuat halaman judul dan statement yang diacu)

LAMPIRAN

MATERI 1

PENGGUNAAN MIKROSKOP DAN KALIBRASI MIKROMETER

Keterangan Dasar

Mikroskop yang digunakan mahasiswa tahun pertama adalah mikroskop monokuler LGA tipe 3402 dan mikroskop binokuler CX-21. Baca dengan hati-hati instruksinya sebelum menggunakan.

Mikroskop Monokuler LGA Tipe 3402

(a). Bagian-bagian dari mikroskop

Cocokkan keterangan pada Gambar 1 dengan mikroskop yang ada di hadapan saudara. Secara esensial mikroskop terdiri dari sejumlah komponen mekanik optik yang saling berhubungan dengan tepat melalui suatu wahana yang disebut lengan. Tiga komponen yang dibawa oleh lengan tersebut adalah :

1. Meja objek
2. Submeja yang membawa ;
 - a. Kondensor
 - b. Iris diafragma
 - c. Illuminator

Kondensor adalah suatu sistem lensa yang berfungsi untuk memfokuskan cahaya ke spesimen. Dengan menggunakan pengatur kondensor, efek fokus bisa diatur. Di dasar kondensor terdapat iris diafragma dan filter. Iris diafragma digunakan untuk mengatur jumlah cahaya yang melalui kondensor. Dengan memainkan iris diafragma, kedalaman fokus kondensor ditentukan.

3. Tabung okuler merupakan tempat lensa okuler (*eyepiece*). diinsersikan Lensa okuler merupakan sistem lensa yang bisa dipindahkan. Perbesaran yang dimiliki lensa okuler adalah 10X. Di dasar dari tabung terkoneksi dengan revolver, di mana pada revolver tersebut terpasang lensa obyektif. Lensa obyektif mempunyai 3 tingkat perbesaran, yaitu perbesaran lemah (PL) X10 dan X40, serta perbesaran kuat (PK) X100. Di dekat dasar lengan terdapat pengatur kasar dan pengatur halus.

PENGGUNAAN MIKROSKOP MONOKULER LGA Tipe 3402

1. Mikroskop dipindahkan dengan cara memegang lengan mikroskop dengan tangan kanan, sedang kaki mikroskop dengan tangan kiri.
2. Letakkan mikroskop di meja dengan hati-hati dengan arah lengan mikroskop searah praktikan (untuk model LGA 3402) atau berlawanan arah (untuk model olympus CHC).
3. Hubungkan kabel listrik pada mikroskop dengan sumber arus.

Mikroskop Binokuler CX-21

PENGGUNAAN MIKROSKOP BINOKULER CX-21

1. Mikroskop dipindahkan dengan cara memegang kedua bagian lubang yang terdapat pada lengan mikroskop dengan kedua tangan (Gambar 3)
2. Hubungkan kabel listrik pada mikroskop dengan sumber arus
3. Nyalakan mikroskop dengan menekan tombol "*switch ON*" pada bagian kaki mikroskop dan atur intensitas cahaya

PROSEDUR PENGAMATAN OBYEK MIKROSKOPIS

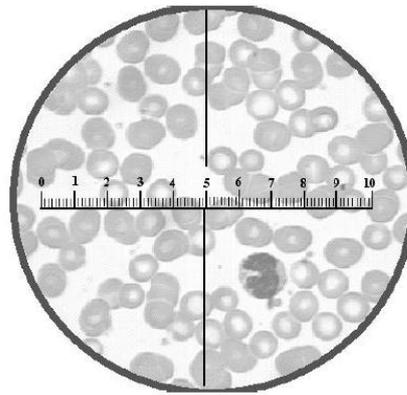
1. Letakkan *slide glass* (yang sudah berisi spesimen) di atas meja objek dan jepit supaya tidak bergerak.
2. Putar revolver dengan lensa obyektif perbesaran lemah X10 tepat di atas objek dengan jarak 2-5 mm (atau jarak aman untuk tidak membentur meja objek).
3. Tekan *knob* pada sisi kiri bawah pojok untuk menghidupkan lampu.
4. Amati spesimen melalui lensa okuler, jika kurang jelas atur meja objek dengan pengatur kasar hingga tampak. Pilih objek yang paling bagus dengan menggeser *slide glass* menggunakan pengatur mekanik meja (tergantung model mikroskop).
5. Jika menginginkan perbesaran yang lebih tinggi (X40), putar revolver hingga posisi lensa obyektif X40 tepat di atas objek. Ingat !!! Jangan merubah posisi meja, hanya memutar revolver saja. Untuk memperjelas target pengamatan gunakan pengatur halus. Pada perbesaran kuat (X100), putar revolver X100, menjelang dekat objek tahan dan teteskan minyak emersi di atas *cover slip*, lanjutkan menempatkan lensa obyektif X100 hingga tepat. Untuk menajamkan target, gunakan pengatur halus. Ingat hanya pengatur halus! Oleh karena antara lensa obyektif dan *cover slip* dengan mata telanjang tampak tanpa jarak, hatilah saat menggunakan pengatur halus.
6. Kalau target masih belum fokus, atur kondensor dan iris diafragma, lalu lanjutkan dengan pengatur halus.

PERAWATAN DAN PENYIMPANAN MIKROSKOP

1. Untuk membersihkan lensa dan komponen kaca lainnya dapat digunakan *blower* yang fungsinya untuk menghilangkan kotoran atau debu dari lensa. Kemudian diikuti dengan mengusap lensa tersebut dengan *paper lens* yang sebelumnya sudah dilembabkan dengan tetesan larutan campuran **eter-etanol** (7:3). Catatan: arah usapan lensa dari dalam keluar secara melingkar.
2. Jika lensa terdapat noda bekas jari atau noda minyak, dapat dibersihkan menggunakan etanol absolut (perlu diperhatikan untuk menggunakan etanol absolut karena mudah terbakar, sehingga perlu dijauhkan dari bagian-bagian yang berpotensi sebagai sumber listrik, seperti *knop switch on/off* dan berkerja pada ruangan yang memiliki ventilasi terbuka)
3. Jangan berusaha menggunakan cairan organik untuk membersihkan komponen mikroskop selain kaca. Untuk membersihkan komponen tersebut gunakan bahan bebas serat, kain yang agak lembab dengan detergen netral yang telah diencerkan.
4. Jangan sekali-kali menggunakan xylol untuk membersihkan lensa karena dapat merusak *coating system* dari lensa .
5. Jika ingin memindahkan mikroskop, hindari menggeser mikroskop karena dapat merusak *seal system* yang ada di kaki mikroskop. Sebaiknya dengan mengangkat seperti yang tertera pada Gambar 3.
6. Agar bayangan jelas dan tajam maka *system optic* dari mikroskop harus terhindar dari jamur, debu, dan minyak imersi.

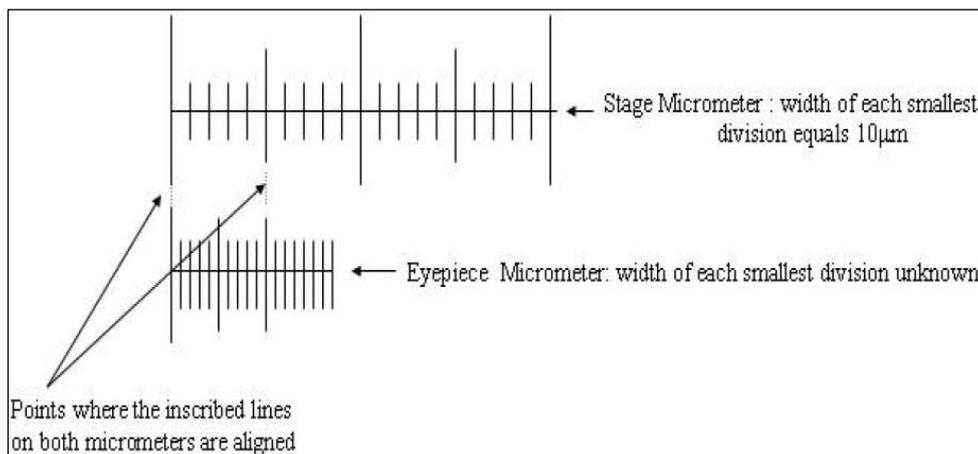
Mikrometer

Obyek/target biologi yang diamati di bawah mikroskop mempunyai ukuran/dimensi mikron. Untuk pengukuran (panjang, lebar, diameter) suatu obyek maka pada lensa okuler diinsersikan mikrometer okuler. Mikrometer okuler berbentuk bulat pipih, di tengahnya terdapat skala 'menyerupai' penggaris berangka 0, 10, 20,, 100 (Gambar 1).



Gambar 1. Tampilan mikrometer okuler melalui lensa obyektif

Nilai satuan mikrometer okuler perlu dikalibrasi dengan mikrometer obyektif. Mikrometer obyektif berbentuk *slide glass*, di tengahnya terdapat skala tanpa angka sebanyak 100 unit, seperti penggaris. Skala tersebut ditutup dengan *cover slip* berbentuk bulat. Skala **100 unit = 1 mm** maka *tiap unit* setara dengan **0.01 mm atau 10 μm** (Gambar 2). Pada perbesaran yang berbeda maka jarak tiap unit dari mikrometer obyektif akan tampak berbeda.



Gambar 2. Tampilan *alignment* mikrometer okuler (*eyepiece micrometer*) terhadap mikrometer obyektif (*stage micrometer*) di bawah mikroskop.

Jarak tiap unit pada mikrometer okuler dilakukan dengan cara sederhana (tetapi akurat) yaitu dengan cara menghimpitkan (*alignment*) 10 unit garis pada mikrometer okuler tepat dengan garis pada mikrometer obyektif (Gambar 2), misalnya

Pada perbesaran X10 \rightarrow 10 unit mik. okuler = 15 unit obyektif
Maka 1 unit mik. okuler = $\frac{15 \times 10 \mu\text{m}}{10} = 15 \mu\text{m}$

Pada perbesaran X 40 \rightarrow 10 unit mik. okuler = 3 unit obyektif
Maka 1 unit mik. okuler = $\frac{3 \times 10 \mu\text{m}}{10} = 3 \mu\text{m}$

Pada perbesaran X100 \rightarrow 10 unit mik. okuler = 1,5 unit obyektif
Maka 1 unit mik. okuler = $\frac{1,5 \times 10 \mu\text{m}}{10} = 1,5 \mu\text{m}$

Misalnya sel hydrilla pada perbesaran 10X menunjukkan skala okuler 5 unit maka panjang sel hydrilla sebenarnya adalah $5 \times 15 \mu\text{m} = 75 \mu\text{m}$

Untuk mempermudah menentukan nilai dari satuan unit pada mikrometer okuler, bisa menggunakan rumus berikut.

$$\text{Skala mikrometer okuler} = \frac{\text{Jumlah skala mikrometer obyektif}}{\text{Jumlah skala mikrometer okuler}} \times 10 \mu\text{m}$$

TUJUAN

1. Untuk menerapkan penggunaan dan pemeliharaan mikroskop dengan baik dan benar
2. Mengaplikasikan penggunaan mikrometer dengan menggunakan obyek mikroskopis

BAHAN

Trikom dari family Cucurbitaceae atau solanaceae atau Preparat trikoma cucurbitaceae atau solanaceae. Pada praktikum ini, trikoma diambil dari epidermis batang terung pipit atau takokak (*Solanum torvum*) yang berbentuk bulat mini berwarna hijau.

ALAT

Kertas tissue, air, mikroskop monokuler, gelas obyek (*slide glass*), gelas penutup (*cover slip*), gunting, pipet tetes, mikrometer okuler dan obyektif.

PROSEDUR

Membuat Preparat Trikom

1. Sayat dangkal epidermis family Cucurbitaceae atau solanaceae lalu kelupas hingga trikoma ikut terangkat. Potong trikoma tersebut kemudian letakan di atas gelas obyek serta dibasahi dengan setetes air.
2. Gelas penutup diletakan di atas bahan pengamatan dengan cara sebagai berikut :
 - Ujung sisi gelas penutup yang sejajar dengan permukaan gelas objek ditempelkan pada air dengan kemiringan 45° sehingga air merata di sepanjang sisi gelas penutup.
 - Gelas penutup ditambah kemiringannya perlahan sampai menutup penuh seluruh bahan.
3. Kelebihan air di luar gelas penutup dihisap dengan kertas tissue.
4. Letakkan *slide glass* di meja obyek dengan posisi tegak teramati oleh mata telanjang, jepitlah *slide glass* tersebut dengan penjepit slide.
5. Posisikan perbesaran lemah (X4 atau X10) segaris dengan obyek
6. Atur jarak obyek dan lensa obyektif $\pm 0,5$ cm
7. Amati obyek melalui lensa okuler, jika belum jelas atur jarak obyek dan lensa obyektif sedemikian rupa dengan menggunakan pengatur kasar hingga diperoleh bayangan yang jelas.
8. Amati bentuk trikoma tersebut
9. Geser slide dengan penggerak mekanik ke kanan atau ke kiri, amati apa yang terjadi pada bayangan tersebut.

Kalibrasi mikrometer okuler

1. Mikrometer okuler diposisikan pada lensa okuler dengan cara sebagai berikut. Perangkat lensa okuler dilepas dari tabung. Lensa bagian atas dilepas dengan hati-hati dan mikrometer diinsersikan ke perangkat okuler tersebut secara perlahan. Perangkat okuler dikembalikan ke tabung okuler setelah insersi dan penutupan lensa okuler.

Ingat mikrometer okuler sangat mahal ± Rp 400.000,00 (\$US 40, dengan kurs Rp. 10.000,00/dolar).

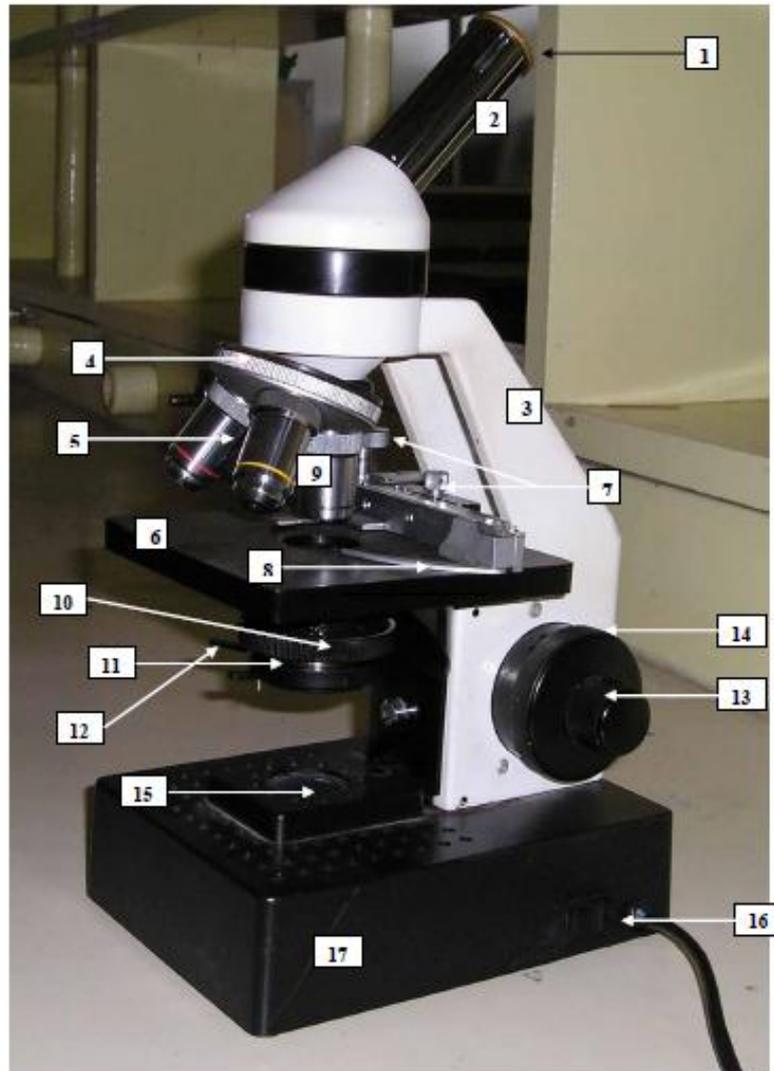
2. Tempatkan mikrometer obyektif pada meja benda (*stage*) dan fokuskan menggunakan lensa obyektif 10x sehingga tampak image skala mikrometer obyektif.
3. Fokuskan lensa obyektif sedemikian rupa sehingga image kedua mikrometer tersebut tampak jelas bersama-sama.
4. Putar bagian atas lensa okuler (tanpa merubah fokus) sehingga skalanya searah atau sejajar dengan mikrometer obyektif.
5. Sejajarkan (*align*) kedua sisi kiri dari mikrometer sehingga skala pada kedua mikrometer berhimpitan.
6. Kemudian amati dan cari skala di sebelah kanannya yang paling berhimpitan dari kedua mikrometer tersebut.
7. Hitung rentang diantara dua skala yang berhimpitan, kemudian hitung nilai kalibrasi mikrometer okuler, dan catat hasilnya pada tabel pengamatan berikut.

	Low Power	Medium Power	High Power
Jumlah skala pada mikrometer okuler			
Jumlah skala pada mikrometer obyektif			
Nilai kalibrasi (μm)			

8. Amati slide preparat mikroskopis yang disediakan atau dibuat sendiri. Gambarkan preparat trikom secara skematis. Ukur panjang, lebar atau diameter dari obyek Saudara inginkan menggunakan mikrometer okuler. Tuliskan hasil pengukuran dan perhitungan Saudara pada tabel pengamatan berikut.

Nama preparat :

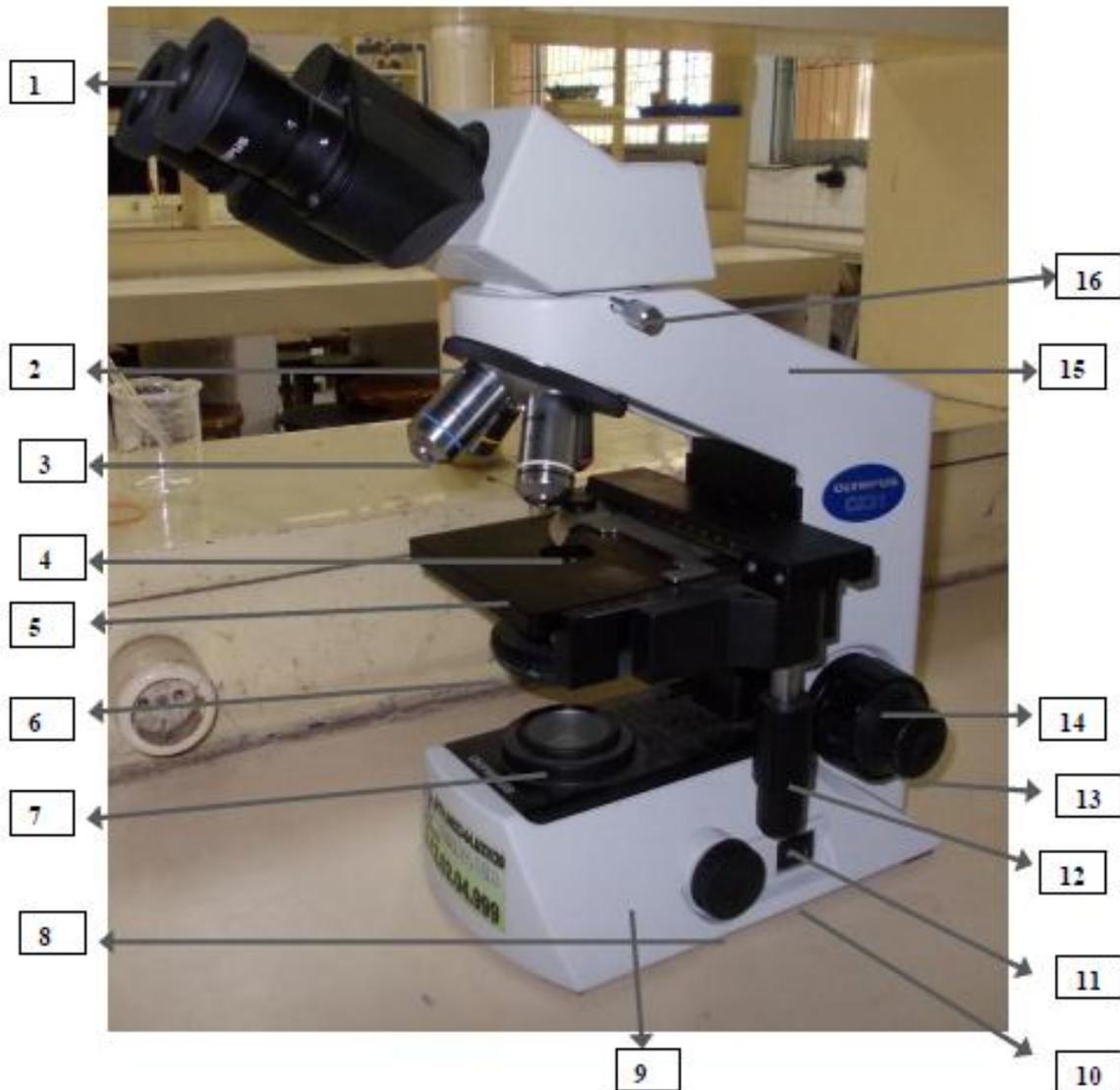
Dimensi	Jumlah Skala Mikrometer Okuler	Ukuran Obyek (μm)
Panjang		
Lebar		
Diameter		



Gambar 2. Bagian-bagian Mikroskop Monokuler LGA Tipe 3402.

Bagian-bagian Mikroskop Monokuler LGA Tipe 3402 :

- | | |
|----------------------------------|---------------------------------|
| 1. Lensa okuler | 10. Pengatur kondensor |
| 2. Tabung okuler | 11. Diafragma |
| 3. Lengan | 12. Pengatur diafragma |
| 4. Revolver | 13. Pengatur halus |
| 5. Lensa obyektif | 14. Pengatur kasar |
| 6. Meja obyek | 15. <i>Diffusing plate</i> |
| 7. Penggerak mekanik slide glass | 16. <i>Knob 'switch on/off'</i> |
| 8. Penjepit slide glass | 17. Kaki atau dasar |
| 9. Kondensor | |



Gambar 3. Bagian-bagian Mikroskop Binokuler CX-21

Bagian-bagian Mikroskop Binokuler CX-21

- | | |
|-------------------------------|------------------------------------|
| 1. Lensa okuler | 9. Kaki atau dasar mikroskop |
| 2. Revolver | 10. Knob switch <i>on/off</i> |
| 3. Lensa obyektif | 11. Penggeser obyek glass (x-axis) |
| 4. Penjepit slide glass | 12. Penggeser obyek glass (y-axis) |
| 5. meja spesimen | 13. Pengatur halus |
| 6. Pengatur diafragma | 14. Pengatur kasar |
| 7. <i>Filter holder</i> | 15. Lengan mikroskop |
| 8. Pengatur intensitas cahaya | 16. Knob tabung pengamatan |



(a)



(b)

Gambar 4. Cara memegang Mikroskop: (a) Mikroskop Monokuler LGA Tipe 3402 dan (b) Mikroskop Binokuler CX-21

Pertanyaan

1. Untuk mendapat bayangan bergerak ke kanan , apa yang sdr lakukan?
2. Berapa ukuran mikrometer obyektif?
3. Sebutkan warna cincin obyektif untuk perbesaran X40, X100, X400, X1000 dari Olymphus atau Nikon.
4. Berapa lebar (dalam μm) trikoma bagian dasar?
5. Buat gambar diagram jalannya sinar yang paling sederhana dari mikroskop!
6. Bagaimana cara membersihkan lensa mikroskop yang kotor?

MATERI 2

STUDI SEL PROKARIOT DAN EUKARIOT

Keterangan Dasar

Salah satu penanda yang luar biasa pada abad ke 19 adalah ditemukannya semua penyusun unit dasar kehidupan yaitu sel. Semua sel di semua organisma menunjukkan suatu struktur dasar yang mirip dan proses metabolismenya berlangsung dalam proses yang sama. Contohnya replikasi DNA, sintesis protein dan metabolisme gula.

Dengan ditemukannya mikroskop elektron, teramati dengan meyakinkan adanya dua tipe sel yang betul-betul berbeda. Dua tipe sel tersebut adalah sel **eukariot** yang secara harfiah sel yang mempunyai inti sejati, dan sel **prokariot** yaitu sel yang tidak tampak rill menunjukkan struktur inti. Sel prokariot meliputi bakteri dan cyanobacteria. Selain bakteri dan cyanobacteria adalah eukariot. Berikut pada Tabel 1 adalah perbedaan antara organisma prokariot dan eukariot.

Tabel 1. Perbedaan Organisme Prokariot dan Eukariot

No	Faktor Pembeda	Prokariot	Eukariot
1.	Organisme	Bakteria dan sianobakteria	Protista, fungi, tanaman dan hewan
2.	Ukuran sel	Dalam dimensi linier Umumnya 1 – 10 μm	Dalam dimensi linier Umumnya : 10 -100 μm
3.	Metabolisme	Anaerobik atau aerobik	Aerobik
4.	Organel	Beberapa, kadang –kadang tidak ada. Tidak jelas menunjukkan morfologi inti, hanya sebuah daerah inti yang disebut <i>nukleoid</i> , jika ada membran dalam berasal dari pelelukan ke arah dalam dari membran plasma	Inti tampak jelas bermembran dengan nukleolus, mitokondria, kloroplast, retikulum endoplasma, vakuola, apparatus golgi dsb
5.	DNA	DNA sirkuler dalam sitoplasma (dalam bentuk satu atau lebih molekul besar)	DNA sangat panjang berisi banyak daerah nonkoding; terorganisasi dalam kromosom, terletak di dalam inti dan dibatasi oleh kantong inti, kromosom mengalami mitosis selama pembelahan.
6.	RNA dan protein	Sintesis RNA dan protein tidak terpisah secara khusus	Sintesis RNA dan protein terkompartementasi, sintesis dan pemrosesan RNA dalam nukleus; sintesis protein dalam sitoplasma
7.	Sitoplasma	Tidak ada sitoskeleton, aliran sitoplasmik, endositosis, atau eksositosis	Sitoskeleton tersusun atas filament protein; ada aliran sitoplasmik, endositosis, dan eksositosis

No	Faktor Pembeda	Prokariot	Eukariot
8.	Pembelahan sel	Dengan pembelahan biner	Dengan mitosis atau meiosis
9.	Organisasi selluler	Sebagian besar uniselluler	Sebagian besar multiselluler, dengan differensiasi sel

Untuk praktikum sel prokariot, aktivitas yang dilakukan adalah pengecatan bakteri, sedangkan untuk eukariot pengamatan sel epitel pipi dan beberapa sel penyusun jaringan tumbuhan.

SEL-SEL PROKARIOT

Berdasarkan sifat terhadap cat Gram, bakteri dapat dikelompokkan menjadi dua macam, yaitu bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Terdapat dua teori yang dapat menjelaskan dasar perbedaan ini yaitu:

1. **Teori Salton.** Teori ini berdasarkan kadar lipid yang tinggi (20 %) di dalam membran sel bakteri Gram negatif. Zat lipid tersebut akan larut selama pencucian dengan alcohol. Pori-pori dalam membran membesar, sehingga zat warna yang sudah diserap mudah dilepaskan dan bakteri menjadi tidak berwarna. Bakteri Gram positif mengalami denaturasi protein pada membran selnya akibat pencucian dengan alcohol. Protein menjadi keras dan beku. Pori-pori mengecil sehingga kompleks kristal yodium yang berwarna ungu dipertahankan dan bakteri tetap berwarna ungu.
2. **Teori Permeabilitas Dinding Sel.** Teori ini berdasarkan tebal tipisnya lapisan peptidoglikan dalam membran sel. Bakteri Gram positif mempunyai susunan membran yang kompak. Dengan lapisan peptidoglikan yang terdiri dari 30 lapisan. Permeabilitas membran sel rendah dan kompleks kristal yodium tidak dapat keluar. Bakteri Gram negatif mempunyai lapisan peptidoglikan yang tipis, hanya 1-2 lapisan dan susunan membran selnya tidak kompak. Permeabilitas membran sel lebih besar, sehingga masih memungkinkan terlepasnya kompleks kristal yodium.

Prinsip dasar pewarnaan Gram ini adalah:

1. Mewarnai bakteri dengan pewarnaan dasar yaitu kristal violet
2. Menguatkan pelekatan zat pewarna dengan garam iodine
3. Melunturkan warna dasar dengan alcohol
4. Pewarnaan kembali dengan pewarna pembanding (*counter stain*) yaitu safranin

Bakteri yang terwarnai oleh kristal violet dan tidak luntur dengan pemberian alcohol, akan berwarna ungu dan disebut bakteri Gram positif. Bakteri yang telah terwarnai oleh kristal violet, tetapi luntur pada saat diberi alcohol, akan berwarna merah oleh pewarna pembanding (safranin) dan disebut bakteri Gram negatif. Warna ungu pada bakteri Gram positif terjadi akibat pembentukan senyawa kompleks kristal violet-yodium yang tidak larut dengan alcohol.

Persiapan sediaan apusan (Pembuatan Preparat)

Pada umumnya, sebelum bakteri diwarnai perlu dilakukan fiksasi atau dibuat sediaan atau preparat (*smear*) terlebih dahulu. Fungsi fiksasi antara lain untuk membunuh bakteri secara cepat dengan relatif tidak menyebabkan perubahan bentuk dan struktur bakteri di atas kaca obyek dan meningkatkan afinitas (tingkat pengikatan) pewarna. Fiksasi yang sering dilakukan dalam pewarnaan bakteri adalah dengan pemanasan. Pengertian preparat adalah

sampel specimen yang diletakkan atau dioleskan pada permukaan gelas obyek (*object glass*) atau *slides*, dengan atau tanpa pewarnaan yang selanjutnya dapat diamati di bawah mikroskop.

Teknik pembuatan apusan tergantung asal bahan biakan. Teknik pembuatan apusan sedikit berbeda untuk setiap jenis bahan.

1. **Sumber biakan koloni mikroba langsung dari sampel.** Bahan disentrifuge dulu, kemudian endapannya dibuat preparat. Bahan yang berupa endapan (pelet) hasil sentrifuge tersebut diambil dengan oose steril atau kapas lidi steril kemudian digoreskan pada gelas objek setipis mungkin. Gelas objek dan gelas penutup sebelumnya dibersihkan dengan alkohol 70 % sampai gelas objek bebas dari lemak. Gelas objek dipanaskan di atas nyala api spiritus sambil diayunkan secukupnya (jarak preparat sampai nyala api kira-kira 20 cm), sampai preparat tersebut kering. Setelah kering jika diperlukan, ditetesi formalin dan selanjutnya di tunggu selama 58 menit dan dikeringkan sekali lagi. Setelah betul-betul kering, preparat jadi.
2. **Bahan dari biakan cair.** Ambil gelas objek yang bersih dan steril, bebaskan dari lemak dengan membersihkan dengan alkohol, selanjutnya dipanaskan di atas nyala api spiritus. Ambil biakan cair (yang sebelumnya dihomogenkan) dengan menggunakan oose steril, ratakan pada gelas objek tersebut sehingga membentuk diameter 1-2 cm. Preparat yang sudah dibuat kemudian dikeringanginkan dan atau ditetesi formalin dengan cara seperti pembuatan preparat langsung.
3. **Bahan dari media pertumbuhan padat.** Ambil gelas objek yang bersih dan steril, bebaskan dari lemak dengan menggunakan alkohol 70 % untuk membersihkannya. Teteskan satu oose kaldu atau larutan garfis atau air steril pada gelas objek tersebut. Dengan oose steril ambil satu koni biakan dan ratakan pada gelas objek sehingga membentuk diameter 1-2 cm, campur dengan kaldu tadi sampai homogenkemudian tipiskan. Selanjutnya dikerjakan sebagaimana membuat preparat a atau b.

Prinsip yang selalu diingat adalah:

- a) Selalu mensterilkan oose, pada saat akan dipakai dan setelah dipakai
- b) Letakkan oose pada tempatnya dan jangan diletakkan di sembarang tempat (misal di atas meja)
- c) Jangan memegang mata (ujung) oose dengan tangan
- d) Usahakan tidak banyak bicara pada saat kerja

TUJUAN

1. Mempelajari proses pewarnaan struktur sel bakteri
2. Mempelajari bentuk-bentuk dan struktur sel bakteri
3. Memahami pentingnya setiap langkah dalam prosedur pewarnaan dan memahami reaksi kimiawi di dalam prosedur tersebut

BAHAN

Biakan murni bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas putida* dan *Bacillus subtilis* dalam media Nutrien Agar dan Nutrien Cair umur 24 jam, larutan pewarna Gram A, B, C dan D.

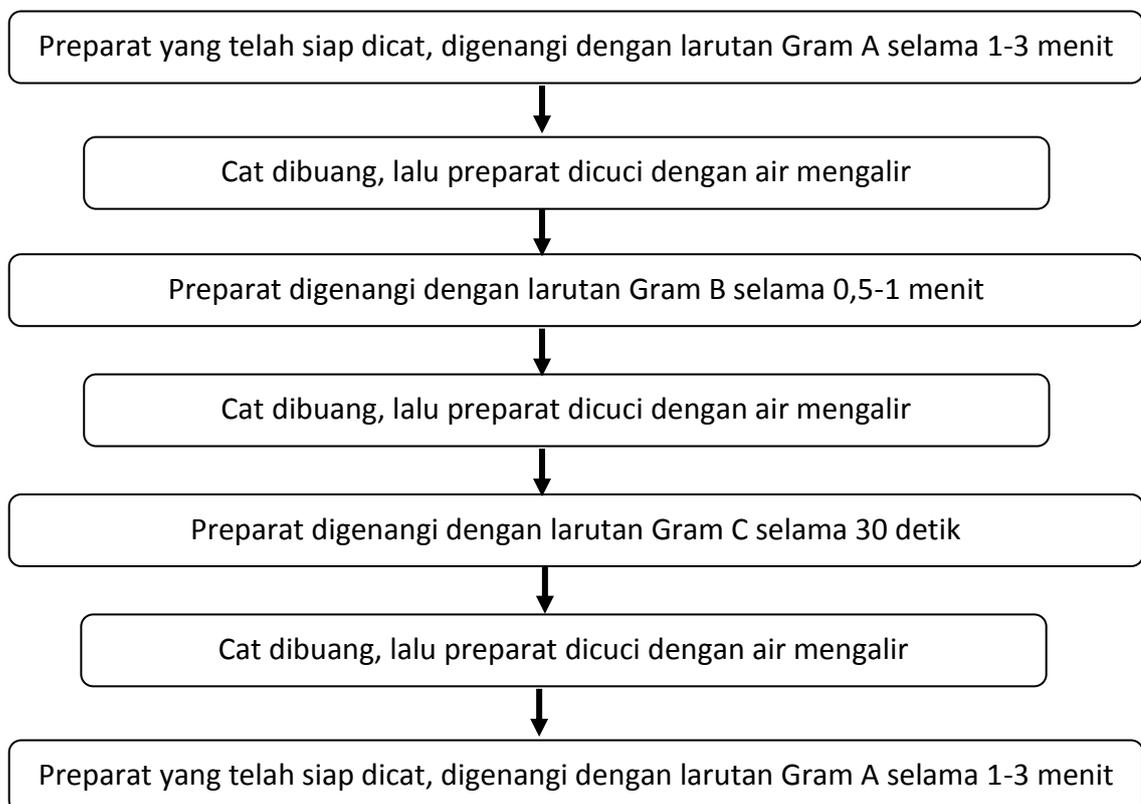
ALAT

Oose atau kapas lidi steril dan kertas tissue, gelas objek, gelas penutup, lampu bunsen atau lampu spiritus dan alkohol 70 %, mikroskop, kertas tissue, rak pengecatan, kran atau sumber air yang mengalir

CARA KERJA

Sebelum melakukan pengecatan Gram, siapkan alat dan bahan yang diperlukan. Pastikan semua alat dan bahan yang diperlukan serta tempat yang digunakan untuk mencuci terletak pada tempat yang terjangkau. Jangan sampai terlalu jauh sehingga menyulitkan dan menghabiskan banyak waktu. Reaksi Gram dapat dikonfirmasi dalam uji kelarutan kalium hidroksida (KOH). Ambil satu oose penuh kultur bakteri yang sedang tumbuh aktif dan campurkan dengan setetes larutan KOH 3 % di atas gelas obyek yang bersih dan aduk hingga diperoleh suspensi yang rata. Angkat oose beberapa sentimeter dari gelas obyek. Jika benang lendir bakteri terangkat oleh oose (kira-kira 5-20 mm panjangnya) maka bakteri tersebut adalah Gram negatif. Jika dihasilkan suspensi berair dan tidak tampak adanya benang berlendir setelah oose digerakkan berulang-ulang, maka kultur bakteri tersebut adalah Gram positif. Perusakan dinding sel bakteri Gram negatif yang diikuti pembebasan DNA, yang sangat kental dalam air, menghasilkan benang lendir. Dinding sel bakteri Gram positif lebih tahan terhadap KOH dan tetap melekat, sehingga tidak ada DNA yang dibebaskan. Uji ini perlu dilakukan bila pewarnaan Gram meragukan.

Skema cara pewarnaan Gram :



Tugas :

1. Tiap kelompok melakukan **checking** dengan cara :
 - a. Meratakan biakan bakteri di atas obyek glass dengan oose lalu meneteskan biakan tersebut dengan 3% KOH sebanyak 1-2 tetes.
 - b. Campur dengan oose lalu angkat campuran tersebut beberapa cm di atas obyek glass, jika diangkat tampak seperti lendir yang menyerpih (seperti benang) maka bakteri tsb adalah Gram negative, sedangkan kalau tidak terangkat maka bakteri tersebut adalah Gram positif.
2. Mengamati bentuk dan warna bakteri di bawah mikroskop
3. Mengambil foto bakteri menggunakan HP.

Pertanyaan

1. Mengapa bakteri Gram positif berwarna ungu? Jelaskan!
2. Mengapa pada saat cheking ketika diangkat menghasilkan benang lendir di justifikasi sebagai Gram negative? Jelaskan!
3. Apakah hasil pewarnaan Gram sdr terkonfirmasi saat melakukan checking dengan KOH 3%?

SEL-SEL EUKARIOT

Selain bakteri dan cyanobacteria, semua organisme adalah sel eukariot atau terdiri dari sel eukariot. Sel eukariot dijumpai pada sel hewan dan tumbuhan baik pada yang uniseluler maupun multiseluler. Semua sel eukariot mempunyai 'features' dasar yang sama, namun dalam jaringan yang berbeda mempunyai bentuk dan fungsi yang berbeda. Tipe sel dari jaringan yang berbeda dikenali berdasarkan jumlahnya dan susunan organel yang 'basic' dari berapa banyak organel unik yang dimiliki. Perlu dicatat, ada satu pengecualian penting yaitu sel eukariot hewan berbeda dengan sel eukariot tumbuhan.

Semua tanaman tingkat tinggi mempunyai vakuola dengan satu hingga beberapa membran tunggal. Vakuola kecil (yang sering disebut dengan vesikula) juga didapatkan pada sel-sel hewan tingkat tinggi (tetapi hewan tidak punya vakuola sentral yang besar). Lebih jauh, sejumlah sel pada tanaman tingkat tinggi mengembangkan struktur yang mengandung khlorofil (khloroplast untuk fotosintesis). Struktur ini tidak dimiliki oleh sel hewan. Sel tumbuhan mempunyai dinding sel, sel hewan tidak, dinding sel tersebut sangat bervariasi dalam mensekresikan suatu zat. Pada sel hewan, kemampuan mensekresikan materi ekstraseluler berkisar sangat rendah sampai dalam jumlah besar seperti kartilago, kolagen dan tulang.

Dengan mengabaikan adanya struktur tambahan yang mungkin dimiliki oleh sel tanaman, komponen sel tanaman dan hewan adalah sama. Semua sel dibungkus atau dibatasi oleh satu unit membran tunggal (plasma membrane) dan berisi sejumlah organel yang bermembran ganda. Organel yang dimaksud adalah mitokondria, retikulum endoplasma, badan golgi, inti yang berisi nucleoli, lisosom dan peroksisom. Khloroplast dan vakuola juga diklasifikasikan sebagai organel. Tambahan pula, sel berisi struktur-struktur lain yang tidak diklasifikasikan sebagai organel, terdistribusi di seluruh sitoplasma. Beberapa struktur ini cukup besar teragregasi sebagai molekul yang dapat teramati dengan mikroskop electron. Struktur ini meliputi ribosom, protein fibriler, mikrotubul dan mikrofilamen. Sel-sel juga seringkali berisi produk tersimpan dan produk untuk disekresi. Produk ini mungkin tidak dibungkus atau dibungkus membran di dalam sel.

Beberapa komponen sel seperti mitokondria, khloroplast, nuclei, nucleoli, vakuola, agregat materi tersimpan dan produk yang akan disekresikan tampak cukup besar untuk dilihat dengan menggunakan mikroskop cahaya. Komponen lain seperti ribosom tidak dapat dilihat secara individual tetapi dapat dilihat jika berada dalam kelompok besar. Membran dan struktur organel dapat hanya dilihat dengan mikroskop electron.

TUJUAN

Memahami perbedaan sel hewan dan sel tumbuhan melalui pengamatan mikroskopis

SEL HEWAN

BAHAN

Sel epitel pipi, toluidine blue 1%

ALAT

Tangkai kayu es krim, *slide glass* dan *cover slip*, mikroskop cahaya, pipet drop.

CARA KERJA

1. Kerok dengan lembut lapisan epithelium pipi anda menggunakan tangkai es krim
2. *Mounting* kerokan tersebut di atas *slide glass* dan tetesi 1 tetes toluidine blue 1 %
3. Tutup dengan *cover slip* dan amati di bawah mikroskop dengan perbesaran lemah hingga sedang. Gambar dan amati beberapa sel epitel pipi

SEL TANAMAN

BAHAN

Umbi wortel (*Daucus carota* L)

ALAT

Gelas objek, gelas penutup, silet, mikroskop. Cork borer, portable mikrotom.

CARA KERJA

1. Buat silender umbi wortel dengan cork borer kemudian sayat tipis dengan mikrotom meja .
Letakan potongan tipis wortel diletakkan di atas gelas objek, ditetesi air sedikit dan diamati dengan mikroskop pada perbesaran lemah (100x) selanjutnya perbesaran kuat (400x).
2. **Gambar dan amati beberapa sel parenkim dari sel wortel**

Pertanyaan

Apakah Saudara menemukan nukleus dari masing-masing preparat? Pada bagian mana sel nukleus tersebut posisinya ?

MATERI 3

ISOLASI DNA

KETERANGAN DASAR

Biologi molekuler adalah salah satu bidang ilmu yang akhir-akhir ini berkembang sangat pesat. Metode dasar yang harus dikuasai dalam kajian biologi molekuler adalah isolasi DNA karena isolasi DNA merupakan salah satu tehnik paling esensial dan *basic* dalam mempelajari DNA. Ekstraksi DNA dari sel dan purifikasinya merupakan hal primer dalam bidang bioteknologi dan forensik. Dalam Bidang bioteknologi, ekstraksi dan purifikasi DNA diperlukan untuk analisis dan manipulasi DNA seperti deteksi kecacatan genetik (*genetic defect*), *fingerprinting*, dan rekayasa genetik untuk produksi insulin, antibiotik, atau hormon. Berbagai metode isolasi DNA sudah ditemukan dan dilaporkan. Pada praktikum ini dipilih metode yang paling sederhana dengan hasil maksimal. Perlu dicatat bahwa apapun metode yang dipilih untuk melakukan ekstraksi harus dijaga agar DNA tidak rusak sehingga didapatkan DNA dalam bentuk rantai panjang.

Proses pengeluaran DNA dari nukleus dinamakan ekstraksi atau lisis biasanya dilakukan dengan homogenasi dan penambahan buffer ekstraksi atau buffer lisis untuk mencegah DNA rusak. Untuk membantu terjadinya lisis biasanya dilakukan inkubasi pada suhu 60°C. Dalam proses ini biasa digunakan senyawa-senyawa *phenol*, *chlorofom* dan *isoamyl alcohol* untuk memaksimalkan proses lisis. Prosedur tersebut bisa disederhanakan dengan menggunakan bahan dan alat yang mudah diperoleh di laboratorium ataupun mudah diadakan. Dalam praktikum ini dilakukan isolasi DNA dengan metoda yang sederhana.

Tabel 1. Tahapan Dasar dalam Proses Ekstraksi DNA

Tahapan	Bahan		Tujuan
Homogenasi	Garam	NaCl	Mengikat polisakarida
	D (Detergent)	Detergent cair (sunlight, mama lemon dsb) yang umumnya didominasi oleh SDS (<i>sodium dodecyl sulphate</i>)	Memecah membran sel dan membran inti
Deproteinasi	N (eNzyme)	Pengempuk daging (<i>meat tenderizer</i>) atau jus nanas atau cairan pembersih lensa	Memisahkan DNA dari protein inti (histon)
Presipitasi	A (Alkohol)	Etanol atau <i>isopropyl alcohol</i>	Menggumpalkan atau presipitasi DNA

TUJUAN

Memperoleh kemampuan mengekstrak DNA dari bawang bombay dalam jumlah yang cukup untuk dilihat dan digulung

BAHAN

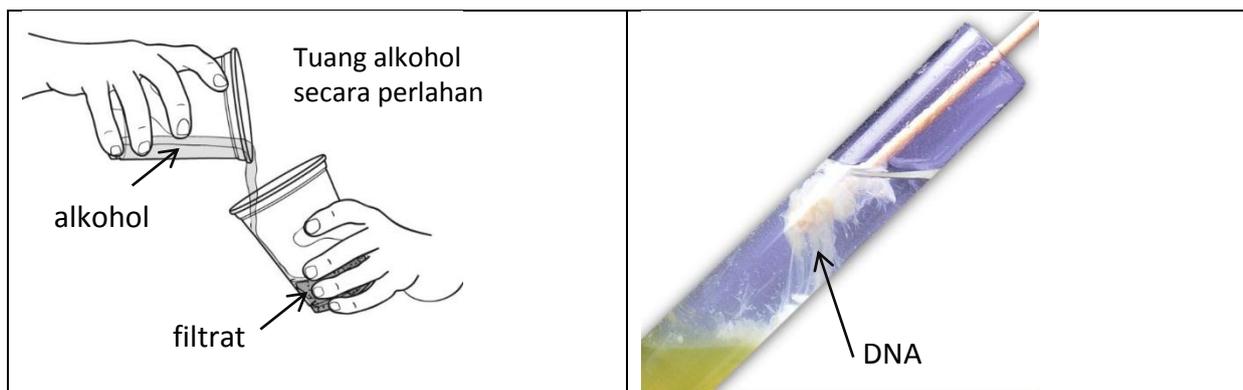
Garam dapur (misal cap kapal api), Sabun cuci cair (misal sunlight), pengempuk daging (dibeli di supermarket), bawang bombay atau bawang merah (atau materi lunak lainnya misalkan brokoli, strawberi).

ALAT

Saringan teh atau kain sifon, talenan, pisau, gelas ukur, labu takar 100 ml, *glass rod* atau diganti tusuk sate dari bambu, blender, kotak berisi serpihan es, beaker glass 100 ml (2), 250 ml (2) atau tabung reaksi.

CARA KERJA

1. Bawang bombay atau bawang merah ditimbang sebanyak 20 gram dan dirajang (untuk sekitar \pm 100 ml air garam)
2. Satu sendok teh garam dilarutkan ke dalam 200 ml air hangat (60°C), kemudian dibagi dua untuk dua kelompok.
3. Larutan garam dituang ke dalam rajangan bawang **secukupnya** (bawang terendam), kemudian diblender dengan kecepatan tinggi selama 10-15 detik. Hasil rajangan bawang bombay yang diblender ini dinamakan homogenat.
4. Homogenat disaring menggunakan saringan teh halus atau kain sifon/puring. Hasil penyaringan dinamakan filtrat dituang sebanyak 50 ml ke dalam beaker glass lain (beaker glass harus bersih).
5. Sebanyak 2 sendok teh detergent cair dituang ke dalam filtrat dan diaduk perlahan lalu diamkan 5-10 menit di dalam refrigerator.
6. Filtrat dikeluarkan dari refrigerator, kemudian ditambahkan pengempuk daging (seujung sendok teh), aduk dengan lembut (jangan terlalu kuat).
7. Tuang filtrat ke dalam tabung reaksi sampai mencapai ketinggian kurang lebih 1 cm dari dasar tabung.
8. Alkohol absolut (**dingin**) dituang ke dalam tabung reaksi secara perlahan melalui dinding tabung yang dimiringkan (Gambar 5) sampai mencapai ketinggian kurang lebih 2 cm. Dengan cara tersebut maka diperoleh perbandingan filtrat : alkohol = 1:2.
9. Gulung kumpulan atau gumpalan DNA yang mengambang di fase atas (alkohol) dengan *glass rod* atau tusuk sate.
10. Angkat gulungan DNA tersebut dan ambil fotonya dengan kamera atau HP



Gambar 5. Cara menuang alkohol ke filtrat dan cara menggulung gumpalan DNA

Pertanyaan

1. Mengapa digunakan bawang bombay ?
2. Sebutkan tujuan (a) pemberian garam (NaCl); (b) pemberian detergent; (c) pemberian pengempuk daging.
3. Mengapa penggunaan NaCl sebaiknya hangat?
4. Apa tujuan diblender?
5. Mengapa setelah diberi detergent cair harus diaduk perlahan (*gently*)?
6. Mengapa setelah diberi pengempuk daging tidak boleh diaduk kuat-kuat?

MATERI 4

MITOSIS PADA SEL TUMBUHAN

KETERANGAN DASAR

Pembelahan sel pada tumbuhan dapat diamati secara mikroskopis dengan menggunakan ujung akar bawang merah yang sedang aktif tumbuh pada bagian meristem ini akan mudah ditemukan berbagai tahap/fase mitosis. Metode yang dipakai untuk membuat preparat berada dalam salah satu tahapan pembelahan sel atau mitosis. Metode yang dipakai untuk membuat preparat mitosis sel dari akar bawang merah pada praktikum ini yaitu metode *squash*.

TUJUAN

Mengamati perubahan letak dan bentuk kromosom dalam setiap tahapan mitosis pada sel tumbuhan.

BAHAN

Akar bawang merah, alkohol : HCl 1:1, Larutan asam asetat glasial, aceto orcein

ALAT

Silet, pinset, cawan petri, gelas obyek, gelas penutup, mikroskop monokuler

PROSEDUR

1. Akar bawang merah dipotong pada bagian ujungnya kurang lebih 1 cm.
2. Potongan akar direndam dalam larutan asam asetat glasial selama 3 menit
3. Potongan akar direndam dalam larutan alkohol : hcl selama 2 menit 60°C.
4. Setelah 10 menit potongan akar diambil dan direndam ke dalam aceto orcein selama 20 menit.
5. Bagian ujung akar yang paling pekat menyerap warna dipotong, sisanya dibuang.
6. Bagian yang paling pekat menyerap warna tersebut diletakkan di atas obyek glass, kemudian ditutup menggunakan cover glass dan dipencet (*squash*) dengan menggunakan ibu jari atau benda tumpul seperti ujung tumpul pensil sampai menyebar.
7. Preparat siap diamati dibawah mikroskop.
8. Cari bidang pandang yang menunjukkan sel-sel pada tahap interface, profase, metafase, anafase dan telofase.
9. Potret preparat yang anda buat dengan kamera hp atau lainnya.

Pertanyaan

1. Jika pembuatan preparat mitosis tidak bisa menggunakan bahan segar ('fresh'), maka bahan harus disimpan di larutan fiksatif. Sebutkan larutan fiksatif yang paling sederhana yang terdiri hanya satu macam '*ingredient*'!
2. Apa fungsi larutan campuran alkohol : HCl?
3. Selain acetocarmin, adakah zat warna lain yang bisa digunakan untuk mewarnai kromosom? Jelaskan!
4. Jika anda gagal mendapatkan tahap-tahap pembelahan mitosis, jelaskan penyebabnya?

MATERI 5

STRUKTUR JARINGAN PADA HEWAN (MAMALIA)

KETERANGAN DASAR

Pada hewan dan manusia, sel / jaringan dapat dikelompokkan dalam empat kategori utama, yaitu: jaringan epitelium, jaringan ikat, jaringan otot, dan jaringan saraf.

1. Jaringan epitel

Merupakan lapisan sel-sel yang sangat rapat susunannya, serta membatasi rongga-rongga di dalam tubuh atau menutupi permukaan tubuh. Jaringan epitel dibedakan menurut bentuk sel yang membangunnya (pipih/squamous, kubus/cuboid, silindris/collumner) dan jumlah lapisan yang menyusunnya (selapis/simplex/simple) dan berlapis banyak (complex/stratified).

2. Jaringan ikat/ penyokong

Jaringan ikat berasal dari lapisan embrional mesoderm. Jaringan ikat yang terdapat pada embrio disebut jaringan ikat embrional atau jaringan mesenkim. Jaringan ikat memiliki fungsi diantaranya yaitu:

- Pembungkus (membran meninges yang membungkus sistem saraf pusat).
- Penyokong (tendo)
- Penyimpanan (jaringan lemak/adiposa)
- Pertahanan (jaringan darah)

3. Jaringan Otot

Otot merupakan jaringan yang mampu berkontraksi sehingga disebut juga alat gerak aktif. Unit dasar dari seluruh adalah *miofibril* yaitu struktur filamen yang berukuran sangat kecil, tersusun dari protein kompleks, yaitu *filamen aktin* dan *myosin*. Pada saat otot kontraksi, filamen-filamen tersebut saling bertautan yang mendapatkan energi dari mitokondria yang terdapat disekitar *miofibril*. Berdasarkan struktur dan fungsinya otot dibagi menjadi 3 macam: otot rangka /lurik (*skeletal / stratified / voluntary muscle*), otot polos (*smooth / involuntary muscle*) dan otot jantung (*cardiac / heart muscle*).

4. Jaringan Saraf

Saraf merupakan salah satu dari sistem komunikasi internal dalam tubuh selain hormon. Ciri khas dari jaringan ini:

- Terdiri atas sel-sel saraf atau neuron yang strukturnya terspesialisasi untuk menyampaikan dan menerima rangsang
- Sistem pembawa pesan yang lebih cepat (dibandingkan dengan hormon)
- Materi yang digunakan untuk menyampaikan pesan adalah rangsang elektrik

Badan sel saraf yang berkelompok (beragregasi) di luar sistem saraf pusat disebut ganglion.

TUJUAN

Mengetahui macam – macam jaringan utama penyusun tubuh manusia dan hewan beserta histologinya,

BAHAN

Mengamati preparat jadi dari masing-masing jaringan utama sebagai berikut:

JARINGAN EPITEL	: Duodenum, Kulit, Ginjal, Tyroid
JARINGAN IKAT	: Tulang rawan, Tulang keras, Adiposa
JARINGAN SYARAF	: Medula spinalis
JARINGAN OTOT	: Skeletal, Otot jantung

CARA KERJA

Lakukanlah pengamatan sel/jaringan utama (jaringan epitel, otot, ikat dan saraf) pada masing-masing preparat mikroskopis sistem organ dari mulai perbesaran objektif lemah (X10) sampai perbesaran kuat (X40 dan atau X1000).

Pertanyaan

1. Jelaskan 4 tipe jaringan penyusun tubuh manusia serta berikan contoh fotonya ?
2. Lengkapi ringkasan 5 contoh system organ berikut

Sistem	Struktur Major	Fungsi
Skeletal	Tulang	
Muscular	Otot (polos, jantung, rangka)	
Cardiovasculer	
Respiratory	
Digestive	

MATERI 6

JARINGAN PENYUSUN ORGAN TUMBUHAN

KETERANGAN DASAR

Jaringan dibentuk oleh sel-sel yang mempunyai bentuk dan ukuran yang sama. **Jaringan permanen** dapat dikelompokkan berdasarkan fungsinya yaitu jaringan pelindung, jaringan dasar, jaringan penguat dan jaringan pengangkut (pembuluh). Jaringan tumbuhan juga dapat dikelompokkan menjadi **jaringan sederhana** meliputi jaringan pelindung, jaringan dasar dan jaringan penguat, sedangkan **jaringan kompleks** meliputi jaringan pengangkut.

Jaringan epidermis merupakan lapisan sel yang berada **paling luar** pada organ tumbuhan yaitu akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji. Jaringan ini **melindungi bagian dalam** tumbuhan dari segala pengaruh luar yang merugikan pertumbuhannya. Epidermis biasanya terdiri dari **satu lapis sel** yang tersusun rapat tanpa adanya ruang antar sel. Namun pada beberapa jenis tumbuhan, sel-sel protoderm membelah berkali-kali secara periklinal sehingga terjadi epidermis berlapis banyak. Sel-sel epidermis mempunyai bentuk yang bervariasi. Misalnya berbentuk tubular dapat dijumpai pada helaian daun dikotil. Sel epidermis dengan bentuk memanjang dapat dijumpai pada helaian daun monokotil. Sel-sel epidermis mempunyai **protoplas hidup dan dapat menyimpan berbagai hasil metabolisme**. Sel-sel epidermis sebagian telah berkembang menjadi alat-alat tambahan lain yang sering disebut **derivat epidermis**, contohnya stoma, trikoma, sel kipas, sistolit, sel silika dan sel gabus. Pada batang tumbuhan yang telah tua sering ditemukan *bark/periderm* (gabus) yang dibentuk oleh kambium gabus (felogen) dan berfungsi sebagai pelindung.

Jaringan dasar (parenkim) merupakan jaringan penyusun sebagian besar organ tumbuhan. Jaringan dasar ini merupakan tempat utama berlangsungnya **aktivitas tumbuhan** yang penting, misalnya fotosintesis, respirasi, dan sebagainya. Parenkim pada tubuh primer tumbuhan berkembang dari meristem dasar dan berhubungan dengan bagian-bagian pembuluh yang berasal dari prokambium atau kambium. Bentuk sel parenkim bermacam-macam, misalnya isodiametris, memanjang, silindris atau bentuk-bentuk lain sesuai dengan fungsinya. Dinding sel parenkim umumnya tipis atau sedikit menebal, terdiri dari hemiselulose ada pula yang mengandung lignin. Di dalam sel parenkim terdapat protoplas yang hidup dengan vakuola yang besar, dan banyak mengandung **makanan cadangan**. Pada batang dan akar parenkim dijumpai di antara epidermis dan pembuluh angkut sebagai korteks. Parenkim dapat pula dijumpai sebagai empulur batang. Pada daun, parenkim merupakan mesofil daun yang kadang berdiferensiasi menjadi jaringan palisade dan jaringan spons. Parenkim dijumpai pula sebagai penyimpan cadangan makanan pada buah dan biji.

Jaringan penguat/penunjang/mekanik merupakan jaringan yang memberikan kekuatan bagi tumbuhan agar dapat melakukan perimbangan-perimbangan bagi pertumbuhannya. Berdasarkan bentuk dan sifatnya, jaringan penguat dibedakan menjadi jaringan kolenkim dan sklerenkim. Pada tumbuhan muda yang belum mempunyai jaringan penguat, kemampuannya untuk berdiri tegak disebabkan adanya tekanan osmotik dari sel-sel parenkimnya.

a. Kolenkim

Kolenkim biasanya terdapat di bagian perifer tepat di bawah epidermis atau terkadang terpisah dari epidermis oleh satu atau beberapa lapisan sel-sel parenkim. Sel kolenkim merupakan sel hidup yang berbentuk memanjang dengan ujung berbentuk siku, serong atau meruncing. Dinding sel kolenkim lebih tebal dari pada parenkim dan penebalannya tidak merata, tersusun oleh selulose, hemiselulose, dan pektin. Berdasarkan penebalan dinding selnya, kolenkim dibedakan menjadi tiga macam yaitu kolenkim angular/sudut (penebalan pada

sudut), kolenkim lamellar/lempeng (penebalan pada dinding tangensial), dan kolenkim lakunar/tubular (penebalan pada dinding sel yang berbatasan dengan ruang antar sel).

b. Sklerenkim

Sklerenkim terdapat pada organ tumbuhan yang tidak lagi mengalami pertumbuhan dan perkembangan. Sel sklerenkim mempunyai dinding yang keras dan biasanya berkayu (lignin) dengan kadar air yang rendah. Pada sel-sel yang telah dewasa biasanya tidak terdapat protoplas (sel mati). Dinding sel sklerenkim mengalami penebalan yang merata dan tebal. Bentuk dan ukuran sel sklerenkim bermacam-macam, tetapi dapat dibedakan menjadi serabut sklerenkim dan sklereid.

Jaringan pengangkut pada tumbuhan tingkat tinggi terdiri dari xilem dan floem. Xilem meliputi trakea dan trakeid serta unsur lain yaitu serat dan parenkim xilem. Trakea dan trakeid berfungsi mengangkut mineral dan air dari akar sampai daun. Floem berfungsi mengangkut hasil fotosintesis dari daun ke bagian organ lain seperti batang, akar atau umbi. Floem terdiri dari pembuluh tapis, sel pengiring, serat dan parenkim floem.

TUJUAN

1. Mengamati jaringan penyusun organ tumbuhan dikotil terpilih.
2. Mengamati jaringan penyusun organ tumbuhan monokotil terpilih.

ALAT DAN BAHAN

1. Mikroskop
2. Silet tajam
3. Empulur singkong atau gabus singkong
4. Alat tulis
5. Organ tumbuhan dikotil terpilih. Pada praktikum ini digunakan preparat jadi dari tanaman tomat (*Solanum lycopersicum*).
6. Organ tumbuhan monokotil terpilih. Pada praktikum ini digunakan preparat jadi dari tanaman jagung (*Zea mays*).

CARA KERJA

1. Buatlah irisan melintang akar, batang dan daun tumbuhan dikotil dan monokotil terpilih. Di atas gelas obyek yang telah ditetesi air letakkan irisan tersebut, kemudian tutup dengan gelas penutup, dan amati dengan mikroskop pada perbesaran lemah dulu dan lanjutkan dengan perbesaran kuat. Perhatikan jaringan penyusun organ tumbuhan tersebut.
2. Tulislah hasil pengamatan pada lembar.
3. Gambar secara skematis pada lembar kerja.

PERTANYAAN

1. Apakah perbedaan berkas pengangkut pada tumbuhan dikotil dan monokotil?
2. Apakah perbedaan jaringan mesofil pada tumbuhan dikotil dan monokotil?

MATERI 7

VARIASI PIGMEN DAUN PADA BEBERAPA SPESIES TUMBUHAN

KETERANGAN DASAR

Daun yang beraneka warna di lingkungan sekitar kita mengandung pigmen yang berperan dalam fotosintesis dan proses seluler lainnya. Klorofil yang berwarna hijau adalah pigmen utama yang bertanggung jawab pada proses fotosintesis. Klorofil menyerap energi dari sinar matahari dan membantu mengubahnya menjadi energi kimia melalui reaksi fotosintesis. Pigmen lain yang juga terlibat dalam proses fotosintesis dan membantu melindungi struktur dalam daun adalah karotenoid. Karotenoid berkisar dari warna merah, oranye dan kuning. Selama pertumbuhan keberadaan klorofil lebih dominan daripada karotenoid. Ketika klorofil rusak atau terdegradasi maka sintesis pigmen karotenoid meningkat dan menyebabkan daun hijau berubah menjadi berwarna-warni. Pigmen tumbuhan termasuk senyawa metabolit sekunder yang selain dapat memberikan kesan menarik pada suatu produk juga telah banyak dimanfaatkan di bidang kesehatan (Santos-Buelga dkk., 2014; Kapadia dan Rao, 2013; Palve dan Nayak, 2012).

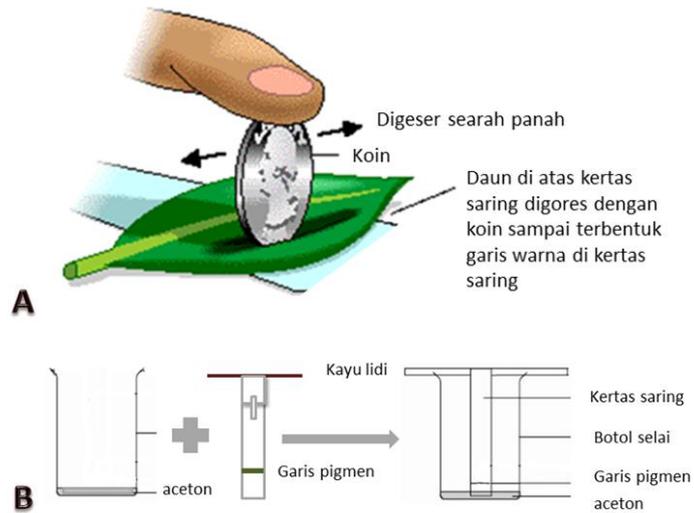
Pada praktikum ini, akan diamati keberadaan klorofil dan karotenoid pada daun beberapa jenis tumbuhan. Prinsip kromatografi kertas digunakan untuk memisahkan pigmen secara sederhana.

Tujuan

Membandingkan komposisi warna pigmen daun pada beberapa spesies tumbuhan di kampus UB dengan kromatografi sederhana.

Metode

Daun segar yang memiliki warna bervariasi (hijau, merah, mozaik) diambil dari beberapa jenis tumbuhan yang berbeda. Morfologi masing-masing daun dideskripsikan di tabel pengamatan. Selanjutnya dilakukan persiapan tahap pemisahan pigmen daun. Kertas saring diletakkan di atas meja. Sampel daun diletakkan di salah satu sisi pendek kertas saring kemudian digores dengan koin sampai terbentuk garis warna (sesuai warna daun) pada kertas saring. Proses ini diulang 2-3 kali pada bagian lain daun hingga garis warna di kertas saring semakin tebal (Gambar 6). Posisi warna yang membentuk garis berjarak ± 2 cm dari tepi. Pada sisi pendek yang lain kertas saring direkatkan pada batang lidi. Selanjutnya botol selai yang bersih diisi larutan acetone setinggi $\pm 0,5$ cm. Kertas saring dimasukkan ke dalam botol selai dengan posisi garis pigmen berada dekat dengan larutan acetone (Gambar 6B).



Gambar 6. Tahap-tahap pemisahan pigmen daun dengan metode kromatografi sederhana

Proses elusi dibiarkan berlangsung sampai beberapa komposisi warna muncul terpisah di kertas saring (Gambar 7). Komposisi warna yang muncul ditulis sesuai urutan dari bawah (sumber larutan eluen) ke atas. Data hasil pemisahan pigmen dapat didokumentasikan dengan kamera digital.



Gambar 7. Variasi pigmen pada daun beberapa spesies tumbuhan (<http://severn Ravens.co.uk>)

Tabel Pengamatan Komposisi warna pigmen beberapa sampel daun

	Spesies 1	Spesies 2	Spesies 3
Nama spesies tumbuhan			
Morfologi daun (bentuk, warna)			
Komposisi warna hasil pemisahan			
Pigmen apa saja yang menyusun komposisi warna tersebut			
Fungsi pigmen bagi tumbuhan			
Pemanfaatan pigmen bagi kesejahteraan manusia			

Daftar Pustaka

- Kapadia, G.J. dan G.S. Rao. 2013. Anticancer effect of red beet pigments. Dalam: B. Neelwarne (ed.). Red Beet Biotechnology: Food and Pharmaceutical Applications. DOI 10.1007/978-1-4614-3458-0_7. Springer Sci. Business Media. New York.
- Palve, Y.P. dan P.L. Nayak. 2012. Curcumin: A wonder anticancer drug. Int. J. Pharm. Biomed. Sci. 3(2):60-69.
- Santos-Buelga, C., N. Mateus, dan V. De Freitas. 2014. Anthocyanins. Plant Pigments and Beyond. J. Agric. Food Chem. 62(29): 6879–6884. DOI: 10.1021/jf501950s.

MATERI 8

BIOSISTEMATIKA DAN EVOLUSI

Dalam praktikum ini anda akan berlatih mengamati beberapa **karakter morfologi** tumbuhan yang dipakai **sebagai petanda perkembangan evolusi** kelompok tumbuhan. Berdasarkan pendapat Hutchinson (1973) dan Takhtajan (1997), kelompok tumbuhan berbunga (Spermatophytae) memiliki sifat:

1. Tumbuhan yang hidup menahun **lebih primitif** dibanding yang hidup tahunan atau setahunan.
2. Habitus pohon dipandang **lebih primitif** dibanding perdu dan herba
3. Daun tunggal **lebih primitif** dibanding daun majemuk
4. Rangkaian duduk daun spiral **lebih primitif** dibanding tumbuhan berbunga
5. Bunga yang memiliki bentuk konektivum adalah yang **lebih primitif** dibanding bunga tanpa konektivum
6. Bunga yang memiliki benang sari yang banyak **lebih primitif** dari yang sedikit
7. Rangkaian perhiasan bunga yang saling lepas (dialipetaleae) **lebih primitif** dibanding yang berlekatan (sympetalae).

Berdasarkan teori tersebut, bangunlah pohon filogeni tumbuhan yang disediakan dalam MATERI ini. Pohon filogeni adalah diagram percabangan yang menunjukkan evolusi antara berbagai spesies.

TUJUAN

Praktikum ini bertujuan untuk melatih ketrampilan praktikan dalam menyusun pohon filogeni tumbuhan

BAHAN

Pinus merkusii (pinus), *Cananga odorata* (kenanga di sekitar Fakultas Kedokteran), *Erythrina crista galli* (dadap merah di depan gedung MIPA), *Saraca indica* (asoka di depan Jurusan Biologi), *Cyperus rotundus* (rumput teki depan gedung vokasi baru)

CARA KERJA

1. Amati karakter-karakter morfologi yang dianggap memiliki nilai evolusi pada tumbuhan-tumbuhan yang disediakan. Beri kode pada tumbuhan (A, B, C, D dan E) juga pada karakter yang diamati (1, 2, 3, 4 dst).
2. Susun matriks karakter versus takson. Ekspresi dari masing-masing karakter (*character state*) dinilai dengan memberi skor berdasarkan tingkat keprimitifannya yaitu 0 = primitif, 1 = agak modern, 2 = modern, dst.
3. Hitung dan susunlah pohon filogeni berdasarkan rumus-rumus algoritma *Kluge & Farris* (1968) dan *Farris* (1978) dalam *Radford* (1986) (Lihat lampiran)

Pertanyaan /tugas

1. Buat urutan-urutan dari yang primitif hingga maju dari 5 contoh tanaman anda!
2. Apa yang anda ketahui tentang filogeni?
3. Apa yang anda ketahui tentang kladistik?

Lampiran

CARA KONSTRUKSI FILOGENETIK

1. Susun matriks karakter X takson. Ekspresi dari masing-masing karakter (*character state*) diskor berdasarkan tingkat keprimitifannya: 0=primitif, 1=agak modern, 2=modern dst.
Contoh:

Karakter Takson		1	2	3	4	5
A		1	2	2	1	0
B		1	2	1	0	0
C		0	1	0	1	0
D		0	0	0	0	1
ANC		0	0	0	0	0

2. Buat matriks jarak dengan menghitung selisih nilai/skor karakter pada takson dengan formula:

$$d(x,y) = \sum_{i=1}^n |V_{xi} - V_{yi}| \dots\dots\dots (1)$$

- d(x,y) = jarak antara takson x dan y
- n = jumlah total karakter
- V_{xi} = nilai ekspresi karakter takson x untuk karakter i
- V_{yi} = nilai ekspresi karakter takson y untuk karakter i

Contoh perhitungan:

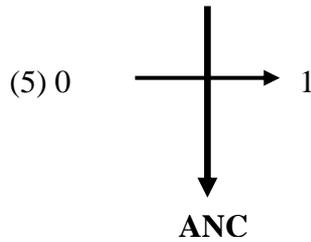
- d (A,B) = |1-1|+|2-2|+|2-1|+|1-0|+|0-0|=2
- d (A,C) = |1-0|+|2-1|+|2-0|+|1-1|+|0-0|=4
- d (A,D) = |1-0|+|2-0|+|2-0|+|1-0|+|1-0|=7
- d (A,ANC) = |1-0|+|2-0|+|2-0|+|1-0|+|0-0|=6
- d (B,C) = |1-0|+|2-1|+|2-0|+|1-1|+|0-0|=4
- d (B,D) = |1-0|+|2-0|+|1-0|+|0-0|+|1-0|=5
- d (B,ANC) = |1-0|+|2-0|+|1-0|+|0-0|+|0-0|=4
- d (C,D) = |0-0|+|1-0|+|0-0|+|1-0|+|1-0|=3
- d (C,ANC) = |0-0|+|1-0|+|0-0|+|1-0|+|0-0|=2
- d (D,ANC) = |0-0|+|0-0|+|0-0|+|0-0|+|1-0|=1

Matriks jarak:

	A	B	C	D	ANC
A	-	2	4	7	6
B		-	4	5	4
C			-	3	2
D				-	1
ANC					-

3. Dari perhitungan no. 2, nilai yang paling kecil dari ancestor adalah D, maka D digambarkan lebih dahulu sebagai takson yang paling primitif dengan satu karakter beda yaitu karakter no.5 yang bernilai 1.

D



4. Dari garis ANC → D akan dibuat percabangan. Titik percabangan pada garis tersebut dinamakan HTU (*Hypothetical Taxon Unit*) yaitu takson ancestor yang dihipotesiskan. HTU ini merupakan titik yang diasumsikan sebagai unit takson yang pertama kali mengalami mutasi sehingga mengalami perubahan dan membentuk takson baru. Untuk menentukan takson mana yang menempati garis percabangan pada HTU 1, dihitung dengan formula:
- 5.

$$d(x, \text{HTU 1}) = \frac{d(x, y) + d(x, \text{ANC}) - d(y, \text{ANC})}{2} \dots \dots \dots (2)$$

di mana:

- x = takson (OTU = *Operational Taxon Unit*) yang belum ditempatkan
- HTU 1 = takson yang dihipotesiskan
- y = OTU yang sudah ditempatkan
- ANC = ancestor

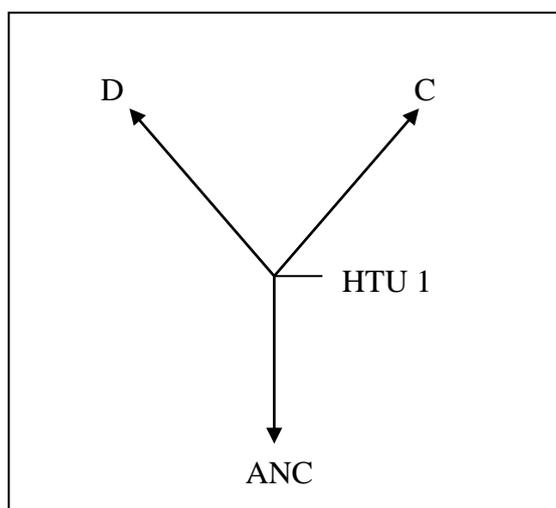
Contoh:

$$d(A, \text{HTU 1}) = \frac{d(x, y) + d(x, \text{ANC}) - d(y, \text{ANC})}{2} = \frac{7+6-1}{2} = 6$$

$$d(B, \text{HTU 1}) = \frac{d(x, y) + d(x, \text{ANC}) - d(y, \text{ANC})}{2} = \frac{5+4-1}{2} = 4$$

$$d(C, \text{HTU 1}) = \frac{d(x, y) + d(x, \text{ANC}) - d(y, \text{ANC})}{2} = \frac{3+2-1}{2} = 2$$

Berdasarkan perhitungan di atas ternyata jarak beda yang terkecil terhadap HTU 1 adalah C, maka pada percabangan dengan HTU 1, OTU yang ditempatkan adalah C dengan satu karakter beda yaitu no. 2 yang bernilai 1.



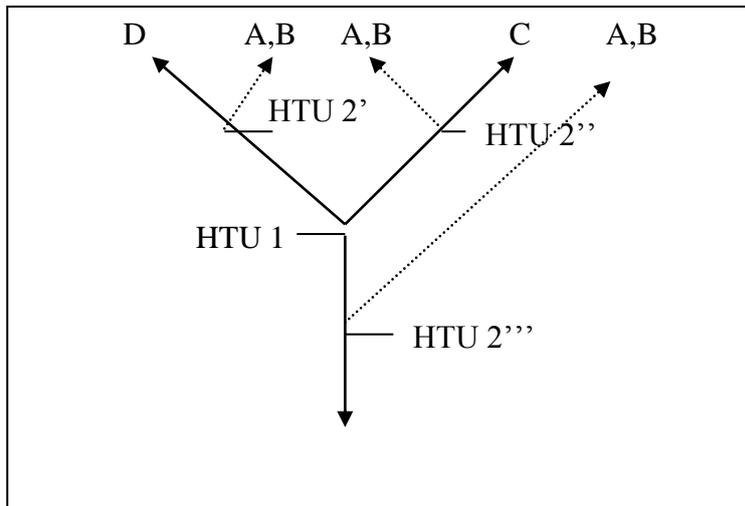
Garis ANC → HTU 1 tidak dilewati oleh karakter, sehingga HTU 1 memiliki karakter yang persis sama dengan ANC. Buat matriks karakter yang mengandung HTU 1.

Karakter \ Takson	1	2	3	4	5
A	1	2	2	1	0
B	1	2	1	0	0
C	0	1	0	1	0
D	0	0	0	0	1
ANC	0	0	0	0	0
HTU 1	0	0	0	0	0

6. Susun matriks jarak sebagai berikut : berdasarkan persamaan (2)

	A	B	C	D	ANC	HTU 1
A	-	2	4	7	6	6
B		-	4	5	4	4
C			-	3	2	2
D				-	1	1
ANC					-	0
HTU 1						-

7. Penempatan OTU lain yang belum ditempatkan menggunakan persamaan (2). Dalam hal ini OTU yang belum ditempatkan adalah A dan B. Titik percabangan dinotasikan sebagai HTU 2 dengan asumsi percabangan sebagai berikut:



Jarak hubungan antara OTU A dan B terhadap HTU 2 dihitung sebagai berikut:

$$d(A, HTU 2') = \frac{d(A, D) + d(A, HTU 1) - d(D, HTU 1)}{2} = \frac{7+6-1}{2} = 6$$

$$d(B, HTU 2') = \frac{d(B, D) + d(B, HTU 1) - d(D, HTU 1)}{2} = \frac{5+4-1}{2} = 4$$

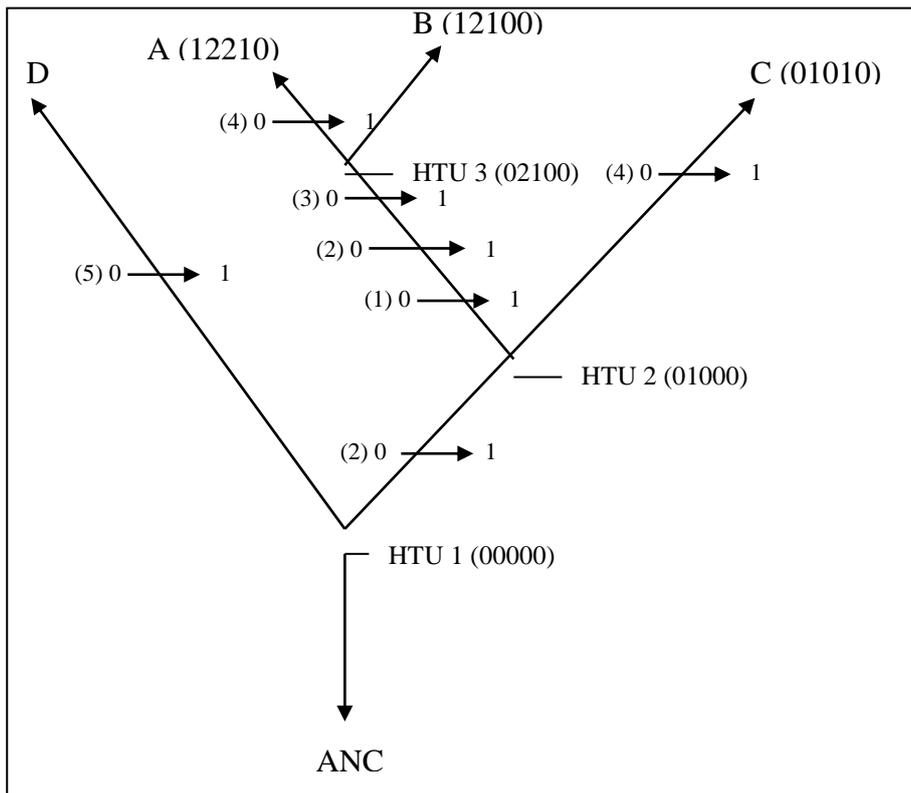
$$d(A, HTU 2'') = \frac{d(A, C) + d(A, HTU 1) - d(C, HTU 1)}{2} = \frac{4+6-2}{2} = 4$$

$$d(B, HTU 2'') = \frac{d(B, C) + d(A, HTU 1) - d(C, HTU 1)}{2} = \frac{4+4-2}{2} = 3$$

$$d(A, HTU 2''') = \frac{d(A, HTU 1) + d(A, ANC) - d(HTU 1, ANC)}{2} = \frac{4+4-2}{2} = 3$$

$$d(B, HTU 2''') = \frac{d(B, HTU 1) + d(B, ANC) - d(HTU 1, ANC)}{2} = \frac{4+4-0}{2} = 4$$

Dari perhitungan di atas ternyata B memiliki beda paling kecil terhadap HTU 2'', sehingga takson B ditempatkan pada posisi percabangan sebagai berikut:



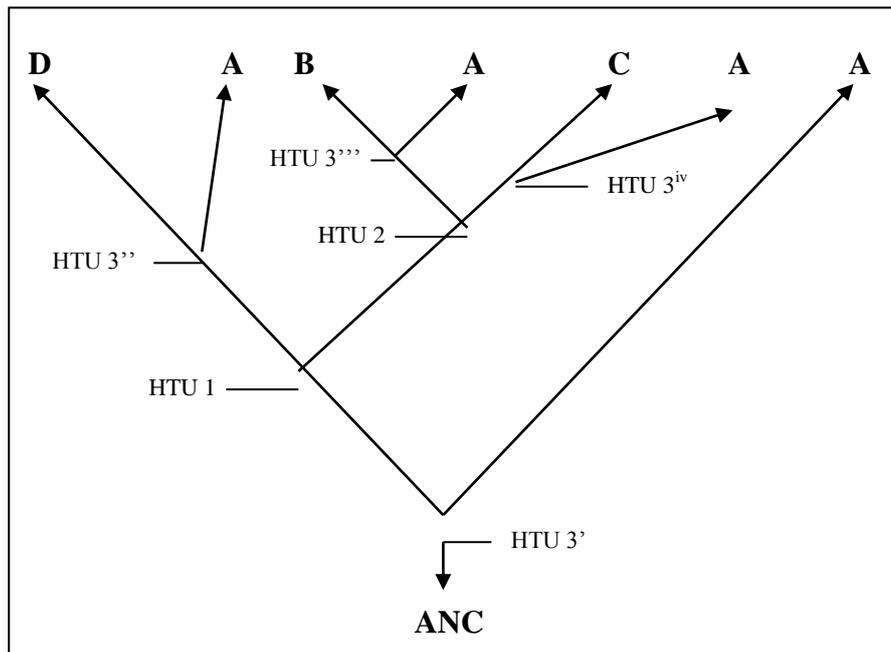
8. Perhatikan konstruksi di atas. Sepanjang garis percabangan HTU 2 dilewati oleh karakter no. 2 bernilai 1. Susun matriks karakternya.

Karakter \ Takson	1	2	3	4	5
A	1	2	2	1	0
B	1	2	1	0	0
C	0	1	0	1	0
D	0	0	0	0	1
ANC	0	0	0	0	0
HTU 1	0	0	0	0	0
HTU 2	0	1	0	0	0

9. Hitung jarak beda menggunakan persamaan (2) susun matriks jaraknya

	A	B	C	D	ANC	HTU 1	HTU 2
A	-	2	4	7	6	6	5
B		-	4	5	4	4	3
C			-	3	2	2	1
D				-	1	1	2
ANC					-	0	1
HTU 1						-	1
HTU 2							-

OTU yang belum ditempatkan adalah A. Dengan cara yang sama dihitung jarak beda antara A dengan HTU 3 yang diasumsikan sebagai berikut:



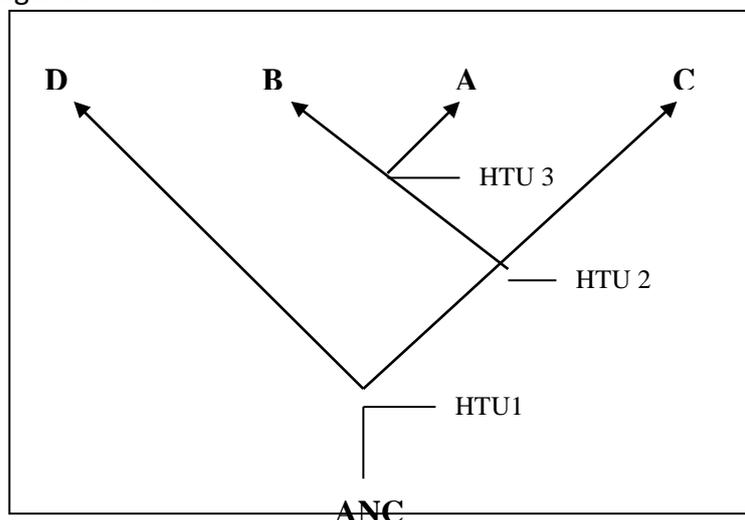
$$d(A, HTU 3') = \frac{d(A, HTU 1) + d(A, ANC) - d(HTU 1, ANC)}{2} = \frac{6+6-0}{2} = 6$$

$$d(A, HTU 3'') = \frac{d(A, D) + d(A, HTU 1) - d(D, HTU 1)}{2} = \frac{7+6-1}{2} = 6$$

$$d(A, HTU 3''') = \frac{d(A, b) + d(A, HTU 2) - d(B, HTU 2)}{2} = \frac{2+5-3}{2} = 2$$

$$d(A, HTU 3^{iv}) = \frac{d(A, C) + d(A, HTU 2) - d(C, HTU 2)}{2} = \frac{4+5-1}{2} = 4$$

A memiliki jarak beda terkecil terhadap HTU 3''', sehingga takson A menempati posisi sebagai berikut:



10. Perhitungan dengan persamaan (2) di atas untuk menentukan posisi masing-masing OTU pada garis percabangan kladogram. Untuk mendapatkan gambar dengan jarak percabangan yang tepat runut jalur HTU yang dilalui masing-masing OTU dengan melihat kladogram pada no. 12 di atas.

Contoh:

HTU 1..... D
 HTU 1..... HTU 2..... C
 HTU 2..... HTU 3.....B
 HTU 3.....A

11. Buat matriks karakter dan matriks jarak yang memuat semua HTU dan OTU.

Karakter Takson		1	2	3	4	5
A		1	2	2	1	0
B		1	2	1	0	0
C		0	1	0	1	0
D		0	0	0	0	1
ANC		0	0	0	0	0
HTU 1		0	0	0	0	0
HTU 2		0	1	0	0	0
HTU 3		1	2	1	0	0

Matriks jarak : dengan persamaan (2)

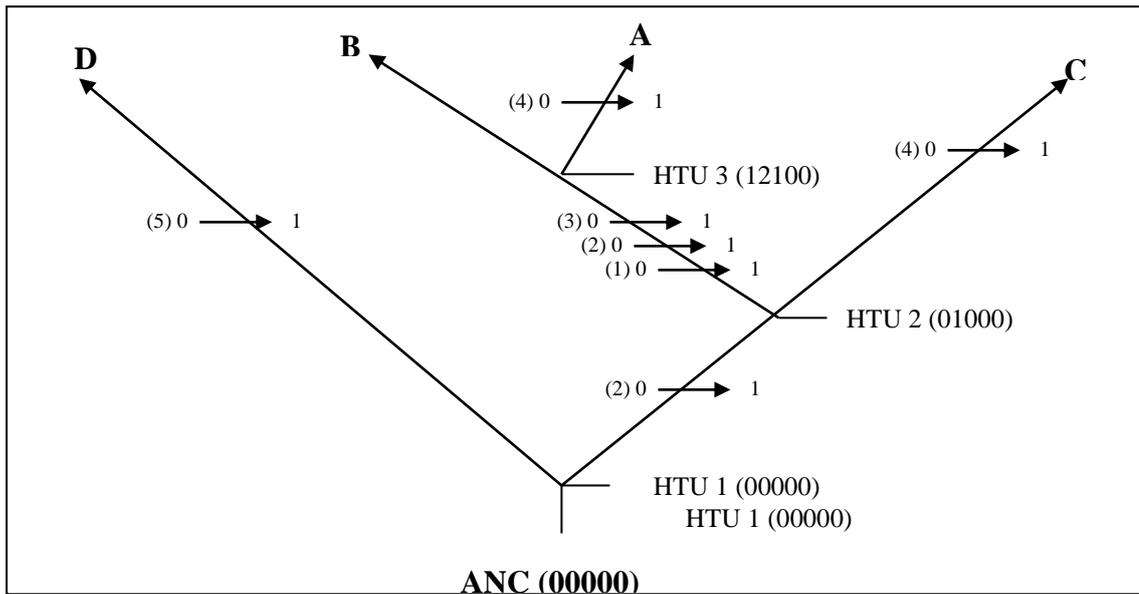
	A	B	C	D	ANC	HTU 1	HTU 2	HTU 3
A	-	2	4	7	6	6	5	2
B		-	4	5	4	4	3	0
C			-	3	2	2	1	4
D				-	1	1	2	5
ANC					-	0	1	4
HTU 1						-	1	4
HTU 2							-	3
HTU 3								-

12. Lihat pada matriks jarak no. 11. Tentukan jarak HTU yang terdekat dengan OTU. Jumlahkan jarak masing-masing HTU yang dilalui oleh suatu OTU.

Contoh:

HTU 1.....1.....D=1
 HTU 1....1.....HTU 2.....1.....C=2
 HTU 2...3.....HTU 3....0.....B=4
 HTU 3.....2.....A=6

13. Gambarkan kladogram dengan skala jarak dan lengkapi kladogram akhir tersebut dengan notasi perubahan karakter, sebagaimana contoh berikut ini:



14. Mengacu pada jurnal-jurnal terbaru dan buku Plant Systematics oleh Jones & Luchsinger (1987), tampilan kladogram bisa dalam bentuk lain:

