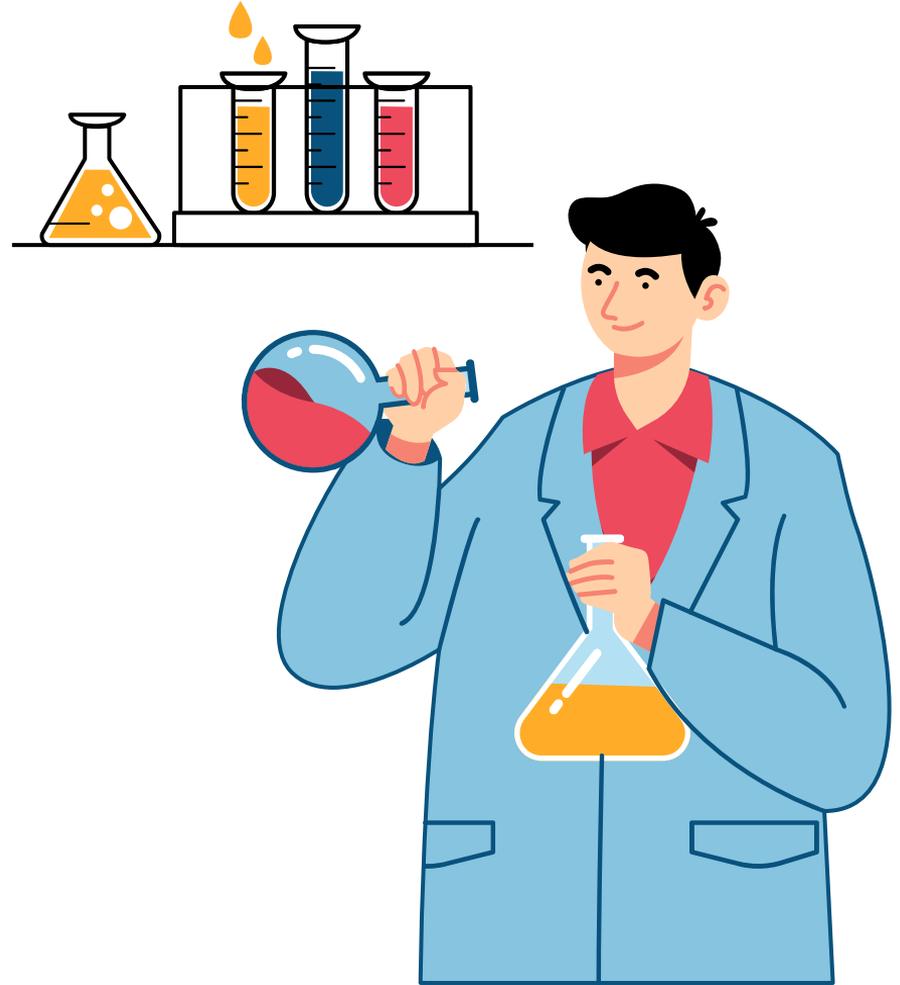
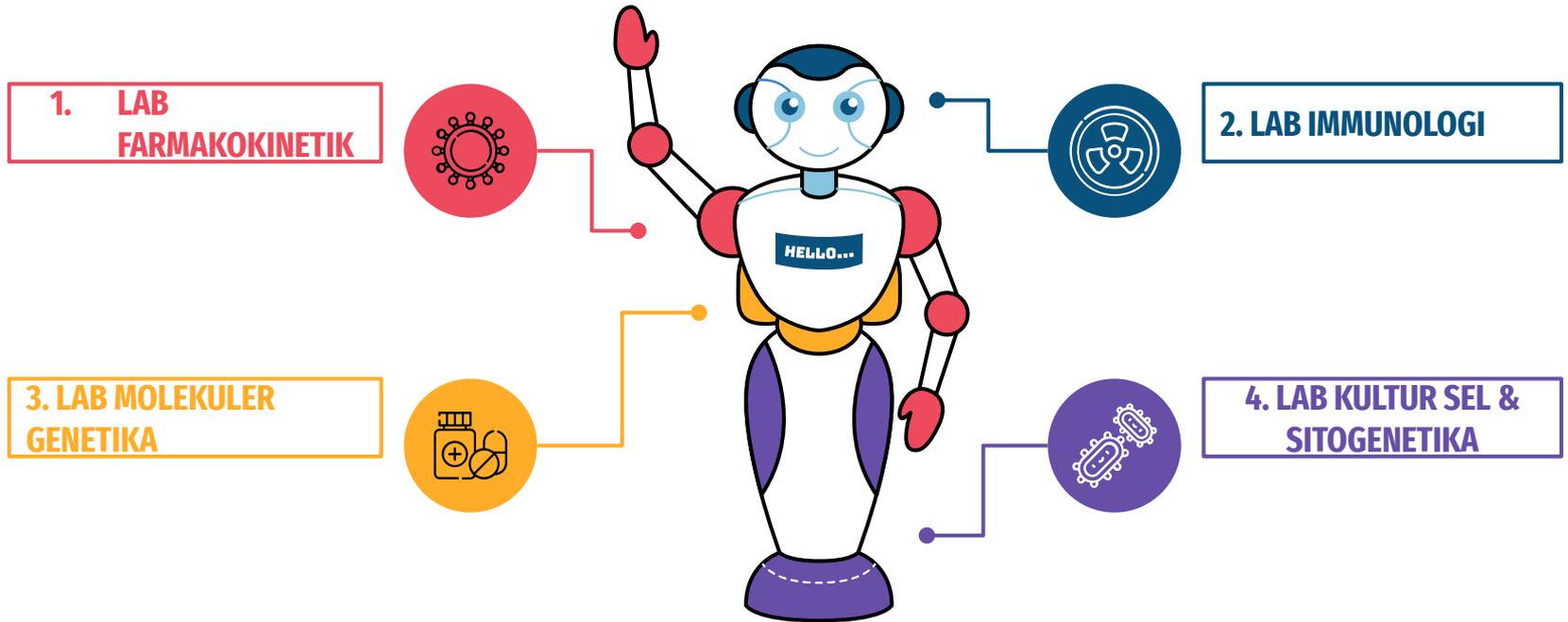


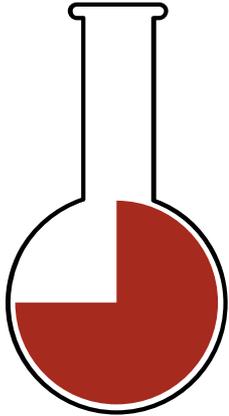
# Laboratory Biomedical advanced

Elective\_Breast Cancer



# TABLE OF CONTENTS





# LAB

# FARMAKOKINETIK

# Contoh Pengaplikasian

Dokter A mau ngasih obat Z ke seorang pasien, tetapi kenapa bisa tidak sembuh-sembuh? Salah satu penyebabnya bisa jadi karena kadar obatnya kurang (bisa jadi pasien tidak meminum obat yang diberikan/metabolisme tubuhnya berbeda)

# High Performance Liquid Chromatography

## Other Name

KCKT (Kromatografi Cair Kinerja Tinggi)

## What is That?

Metode analisis sampel dengan menggunakan alat kromatografi (pemisahan berdasarkan sifat kepolaran senyawanya)

## Function

Untuk memisahkan senyawa yang satu dengan senyawa yang lain



# High Performance Liquid Chromatography

## Phase/Principle

```
graph TD; A[Phase/Principle] --> B[Mobile Phase]; A --> C[Stationery Phase];
```

**Mobile Phase**

**Stationery Phase**

1. Dapat berupa zat padat/cair
2. Dapat terdiri dari partikel dengan pori berukuran mikron sehingga tekanan tinggi diperlukan agar fase gerak dan sampel dapat bergerak melewati pori tersebut  
→ That's why disebut HPLC/High Performance Liquid Chromatography

# High Performance Liquid Chromatography

## Phase/Principle

```
graph TD; A[Phase/Principle] --> B[Mobile Phase]; A --> C[Stationery Phase];
```

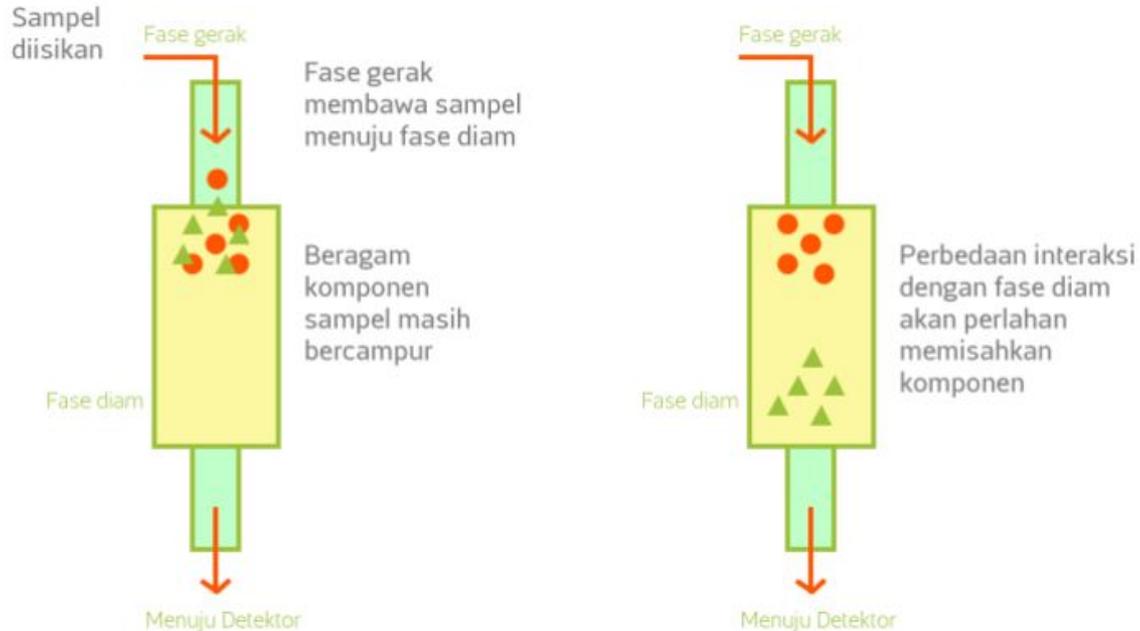
**Mobile Phase**

**Stationery Phase**

1. Dapat berupa zat cair/gas
2. Penggunaan pompa bertekanan tinggi yang mendorong fase gerak dan sampel melewati fase diam (ciri khas)

# High Performance Liquid Chromatography

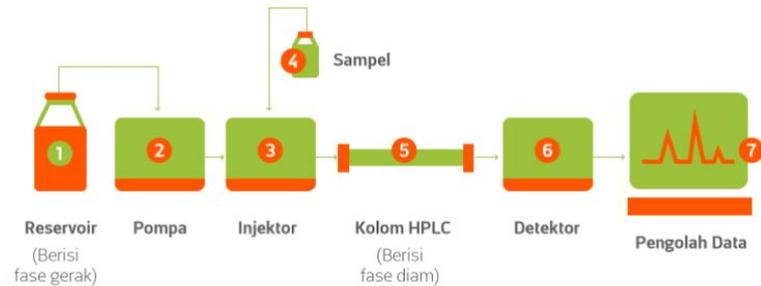
## Phase/Principle



# High Performance Liquid Chromatography

## Main Components

1. Reservoir
2. Pompa
3. Injektor
4. Sampel
5. Kolom HPLC
6. Detektor
7. Pengolah Data



## Steps

Larutan sampel diinjeksikan melalui injektor → terbawa oleh fase gerak → menggunakan pompa bertekanan tinggi → melewati fase diam pada kolom → hasilnya dibaca oleh detektor → ditampilkan pada pengolah data sebagai kromatogram

# High Performance Liquid Chromatography

## Main Components

### 1. Fase Gerak dan Reservoir Pelarut

→ Fase gerak pada HPLC harus menggunakan pelarut dengan kemurnian sangat tinggi.

→ Reservoir pelarut merupakan wadah penyimpanan fase gerak, biasanya berbentuk botol kaca dengan selang penghubung.



# High Performance Liquid Chromatography

## Main Components

### 2. Pompa

→ Ketentuan: Pompa bertekanan tinggi agar dapat mendorong fase gerak dalam reservoir menuju kolom fase diam dan melewati detektor

→ Tekanan yang digunakan beragam tergantung dari dimensi kolom, ukuran partikel fase diam, serta laju alir dan komposisi dari fase gerak yang akan dipakai.



# High Performance Liquid Chromatography

## Main Components

### 3. Injektor

- Tempat masuknya sampel ke dalam sistem HPLC
- Dapat dilakukan secara manual dengan syringe atau dengan menggunakan sistem injeksi otomatis
- Harus dapat menampung sampel cairan dalam kisaran volume 0.1-100 mL.



# High Performance Liquid Chromatography

## Main Components

### 4. Sample

- Harus bersifat bening dan tidak ada endapan
- Oleh karena itu, preparasi sampel diperlukan sebelum dianalisis, misalnya dengan melakukan filtrasi sampel



# High Performance Liquid Chromatography

## Main Components

### 5. Kolom HPLC

- Fase diam terjadi di sini
- Akan terjadi pemisahan komponen sampel yang kemudian dapat dihitung waktu retensi\* masing-masing komponennya oleh detektor



# High Performance Liquid Chromatography

## Main Components

### 6. Detektor

→ Untuk mendeteksi keberadaan komponen yang telah melewati kolom dan memberikan sinyal elektronik pada pengolah data.

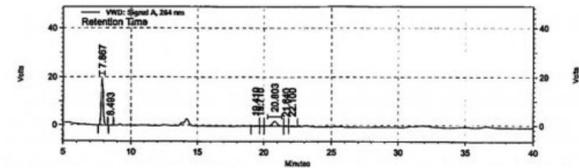


# High Performance Liquid Chromatography

## Main Components

### 7. Pengolah Data

→ Menampilkan output visual hasil analisis yang terbaca oleh detektor dalam bentuk kromatogram\*



VWD: Signal  
A, 284 nm

Retention Time

Results

Retention Time	Area	Area %	Height	Height %	Name
7.867	3239619	72.84	329451	86.67	VIT A
8.493	15779	0.35	1727	0.45	
19.410	140173	3.15	5631	1.48	
19.710	64889	1.46	4338	1.14	
20.803	874700	19.67	33762	8.88	VIT E
21.640	39563	0.89	2093	0.55	
22.100	73086	1.64	3119	0.82	

# Ultra Performance Liquid Chromatography

Merupakan variasi dari HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

## Fungsi

Memisahkan satu senyawa dengan senyawa lainnya

## Perbedaan dengan HPCL

- Dapat memisahkan partikel dengan ukuran sangat kecil ( $2\mu\text{m}$ )
- Bekerja dengan tekanan tinggi – mencapai 100 mPa
- Waktu yang digunakan dalam proses pemisahan singkat (1-2 menit)



1 mPa = 1.000.000 N/m<sup>2</sup>

# Ultra Performance Liquid Chromatography

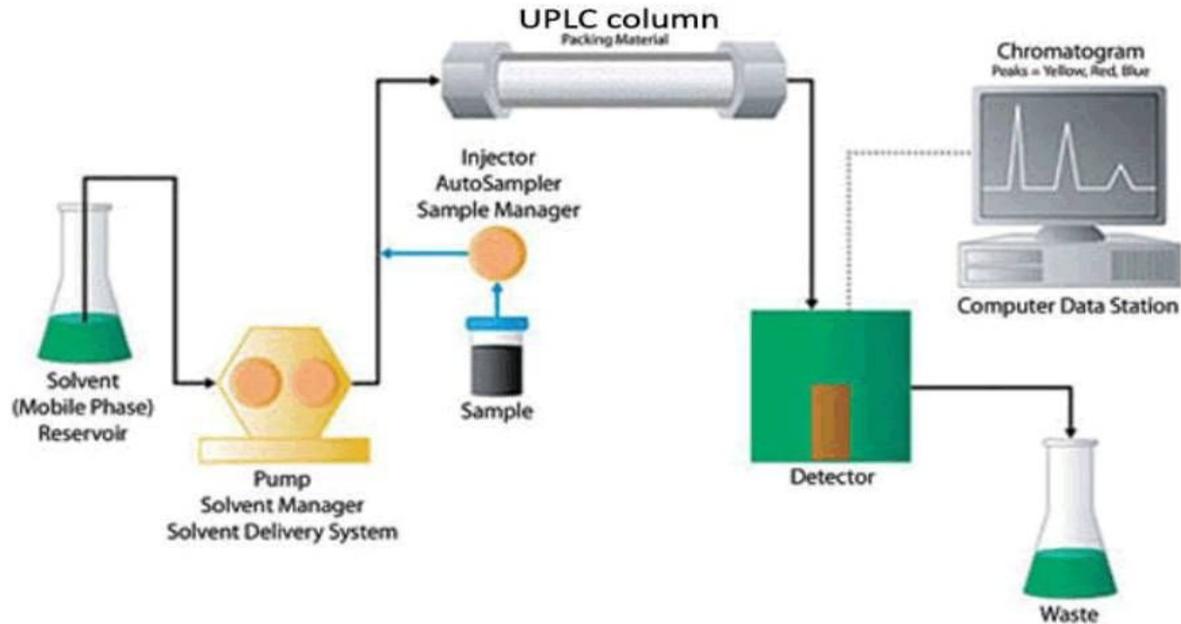


FIG. 1. Working of UPLC.

# Ultra Performance Liquid Chromatography

## Prinsip kerja pemisahan campuran



**Adsorption chromatography**

**Partition chromatography**

Melibatkan pemisahan campuran kimia dalam proses pemisahan campuran:

**1. FASE DIAM**

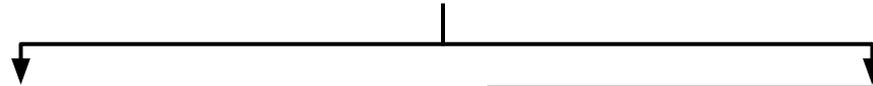
Adsorben adalah fase diam pada adsorption chromatography.

**2. FASE GERAK**

Gaya yang ada pada fase gerak dapat membantu menghilangkan zat terlarut dari adsorben sehingga bisa bergerak bebas. Ada 2 zat yang digunakan pada fase gerak: cairan (liquid-**solid** chromatography) dan gas (gas-**solid** chromatography)

# Ultra Performance Liquid Chromatography

## Prinsip kerja pemisahan campuran



**Adsorption chromatography**

**Partition chromatography**

- Jenis UPLC yang paling banyak digunakan adalah kromatografi partisi.
- Kedua fase pada prinsip partition chromatography dalam bentuk **cairan**
- Selama pemisahan cairan-cairan, senyawa tertentu dipisahkan ketika mencapai 2 fase cair yang berada dalam kondisi kesetimbangan.
  - Dua fase cair = pelarut asli dan film pelarut

# Laboratory Storage

## FUNCTION:

- to store samples, specimens, vaccines, medicines, at a specific temperature
- to minimize the risk of contamination and explosions of volatile materials

## TYPE:

- Refrigerator (2°C to 10°C ) and freezer (-10°C to -25°C)

## MECHANISM:

- maintain very specific temperature range consistently
- come with special features including state of the art thermometers and alarms

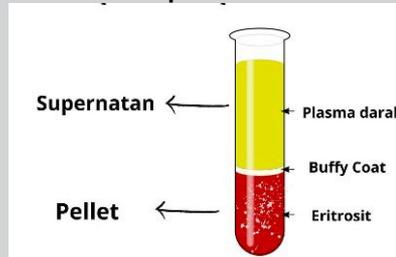


# Centrifuge

Centrifuge atau alat centrifuge ini sering disebut juga dengan sentrifugasi, atau yang juga memiliki arti pemisahan.

## Fungsi

- Melakukan pemisahan pada suatu larutan/komponen zat dengan proses pengendapan, hingga terbagi menjadi dua fase, yakni supernatan dan pellet



- Digunakan pada laboratorium-laboratorium umum : untuk memisahkan plasma dari sel darah pada proses analisis darah
- Untuk meneliti partikel virus, DNA, RNA dalam tubuh



# Centrifuge

## Mekanisme kerja

Memanfaatkan gaya sentrifugal. Pada proses ini, semakin cepat putaran yang dihasilkan, maka akan semakin tinggi gaya gravitasi yang dihasilkan.

Gaya sentrifugal akan bekerja ketika mulai menyalakan mesin alat centrifuge. Komponen utama yang sangat penting pada centrifuge ini disebut motor. Motor ini yang akan bekerja memutar alat centrifuge.

Dengan cara memutar suatu sampel pada kecepatan tinggi, dimana hal ini akan memaksa partikel yang lebih berat terkumpul ke dasar tabung, yang biasanya disebut dengan gravitasi pada proses pengendapan.

# Sonicator

Merupakan alat yang memiliki proses perubahan sinyal listrik menjadi getaran fisik yang bisa diarahkan ke suatu zat tertentu

## Fungsi

dapat digunakan untuk mempercepat pembubaran, dengan cara memecah interaksi antarmolekul serta menganalisis dinamika molekular dan kinetika reaksi pada pembelahan molekul. Ini sangat berguna ketika tidak memungkinkan untuk mengaduk sampel, seperti tabung NMR.

## Prinsip Kerja

Prinsip kerja dari sonikasi adalah gelombang suara ultrasonik yang dihasilkan oleh sonikator akan menghancurkan jaringan dengan menciptakan getaran-getaran yang menyebabkan terjadinya pemecahan dinding sel secara mekanik



# Sonicator

## Cara Kerja

Metode sonikasi termasuk jenis metode top down dalam pembuatan material nano. **Metode top down adalah proses sintesis nanopartikel secara fisika, dimana terjadi pemecahan material besar menjadi material berukuran nanometer**

Metode ini dilakukan dengan karakteristik gelombang ultrasonik yaitu dengan mengakibatkan adanya getaran partikel medium amplitudo sejajar dengan arah rambat secara longitudinal, sehingga menyebabkan partikel medium membentuk suatu rapatan dan regangan. Kecepatan perambatan gelombang longitudinal bergantung pada modulus elastik yang setara dengan modulus pukal dan densiti medium dipengaruhi oleh parameter sonication, seperti daya input, waktu sonicasi, diameter probe, dan frekuensi sonikasion.

# Vortexer

Merupakan alat yang digunakan untuk memhomogenisasikan sample yang sudah dicampurkan dengan pelarut organik.

## Fungsi

Digunakan untuk mencampurkan cairan dengan proses **homogenisasi**. Pada alat ini, beberapa wadah yang dapat ditampung seperti tabung centrifuge, tabung reaksi, ependorf, falkon dan wadah lainnya yang berukuran kecil. Sehingga memiliki ukuran yang pas dan sesuai dengan alat vortex mixer. Vortexer dilengkapi dengan speed range yang dapat mengatur kecepatan dengan sistem operasi yang telah dibuat secara otomatis dan canggih. Cara kerjanya didukung oleh mode touchscreen dan mode continoud yang dapat bergerak secara terus menerus selama alat tersebut digunakan. Didalam alat vortex ini juga terdapat sensor infrared sehingga tidak diperlukan lagi tekanan yang kuat saat menggunakannya.



# Vortexer

## Cara Kerja

Instrumen *vortex mixer* tersusun atas **motor mesin yang dialiri listrik dan memiliki poros penggerak**. Poros tersebut akan bergerak vertikal saat alat dinyalakan. Untuk menampung sampel, alat ini memanfaatkan potongan karet yang dipasang sedikit di luar pusat alat.

Potongan karet tersebut kemudian akan ikut bergerak karena poros penggerak pada motor mesin. Motor mesin berosilasi dengan karet dalam gerakan melingkar yang sangat cepat. Gerakan ini kemudian akan menciptakan pusaran pada cairan. Pusaran tersebut akan menyatukan zat-zat yang sebelumnya terpisah hingga molekulnya terseragamkan.

# pH Meter

## What is That?

Alat laboratorium yang digunakan untuk mengecek pH (power of hydrogen) dalam suatu sampel



## Principle

- Semakin tinggi  $H^+$  dalam suatu sampel cairan, maka semakin rendah pH nya alias bersifat asam
- Semakin banyak ion  $OH^-$  nya maka sampel cairan tersebut bersifat semakin basa

## Kind

- **pH meter untuk sampel cair** → **laboratorium air dan industri**
- pH meter untuk sampel tanah → digunakan petani disawah atau kebun

# pH Meter

## Components

1. **Layar pH meter** berfungsi untuk menampilkan hasil pengukuran/pembacaan dari pH. Selain pH, juga ditampilkan suhu dari sampel dan jam analisa.
2. **Tombol fungsi** ini ada beberapa macam berfungsi untuk mengatur/membuka menu dari pH meter.
3. **Gagang** berfungsi untuk sebagai tempat bersandar probe pH meter.
4. **Gelas kimia** untuk perendaman probe pH meter. Probe harus tetap direndam agar tetap sensitif terhadap sampel dan tidak mengalami kekeringan, ini akan menyebabkan probe/elektrode rusak.



# pH Meter

## How to Use That?

1. Siapkan sampel cairan yang akan diuji. Tuang sampel tersebut ke dalam beaker gelas ukuran 250 ml atau yang pas dengan jumlah sampel.
2. Celupkan bagian elektrode/probe ke dalam sampel sambil diaduk secara perlahan kemudian lepas.
3. Biarkan pembacaan pada layar berjalan hingga pengukuran pH dari sampel stabil ditandai dengan tulisan stable pada layar pH meter.

# Magnetic Stirrer

## Fungsi

- Mengaduk suatu larutan
- Memanaskan larutan cair secara magnetis dan mekanis

## Prinsip kerja (Elektromagnetik)

- Pengaduk magnet digunakan untuk mencampurkan semua jenis cairan
- Pengadukan dihasilkan dari medan magnet yang ada
- Ukuran kecepatan magnetic stirrer dapat diatur sesuai kebutuhan
- (+) mempercepat homogenisasi

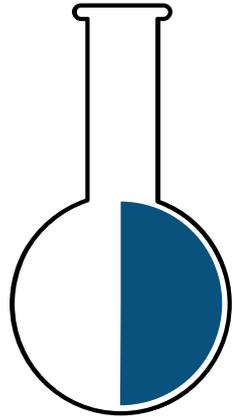


# Magnetic Stirrer

## Cara Kerja

- **Siapkan** wadah yang sudah **berisi larutan cair**
- **Tempatkan** wadah **di atas hotplate**
- **Nyalakan kompor listrik** dengan menghubungkan ke listrik
- **Atur suhu** hotplate dengan mengatur tombol pengaturan suhu
- **Masukkan stik magnet** ke dalam wadah yang di dalamnya terdapat larutan
- Kemudian, **atur kecepatan pengaduk magnet** dengan menekan tombol pengatur magnet pengaduk searah jarum jam.
- Jika, kecepatan pengadukan terlalu tinggi, sesuaikan lagi dengan memutar kenop pengatur magnetik pengaduk berlawanan arah jarum jam
- Aduk hingga larutan cair menjadi **homogen**
- Setelah selesai, **keluarkan pengaduk magnet** dari wadah larutan cair
- **Matikan kompor listrik** dengan memutuskan sambungan dari listrik





# LAB IMMUNOLOGI

# **Pemeriksaan viral load HIV**

# 3 metode test

1. tes reaksi berantai reverse-transcriptase polymerase (RT-PCR) → memakai suatu enzim untuk menggandakan HIV dalam contoh darah. Kemudian reaksi kimia menandai virus. Penanda diukur dan dipakai untuk menghitung jumlah virus. Tes jenis ini dibuat oleh Roche dan Abbott.
2. tes DNA bercabang (bDNA) → menggabungkan bahan yang menimbulkan cahaya dengan contoh darah. Bahan ini mengikat pada bibit HIV. Jumlah cahaya diukur dan dijadikan jumlah virus. Tes jenis ini dibuat oleh Bayer.
3. tes nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) → menggandakan protein virus agar dapat dihitung. Tes jenis ini dibuat oleh bioMerieux. Biasa menggunakan rt-pcr juga

# RT-PCR

*Polymerase chain reaction*

suatu metode enzimatik untuk amplifikasi DNA dengan cara in vitro. Pada proses PCR diperlukan beberapa komponen utama, yaitu DNA cetakan, Oligonukleotida primer, Deoksiribonukleotida trifosfat (dNTP), Enzim DNA Polimerase, dan Komponen pendukung lain adalah senyawa buffer. metode ini dapat meningkatkan jumlah urutan DNA berkali-kali lipat dari jumlah awalnya.

Fungsi:

- Membuat salinan DNA
- menambahkan situs enzim restriksi, atau untuk memutasikan (mengubah) basa tertentu pada DNA
- memanfaatkan enzim DNA polimerase yang secara alami memang berperan dalam memperbanyak DNA pada proses replikasi.

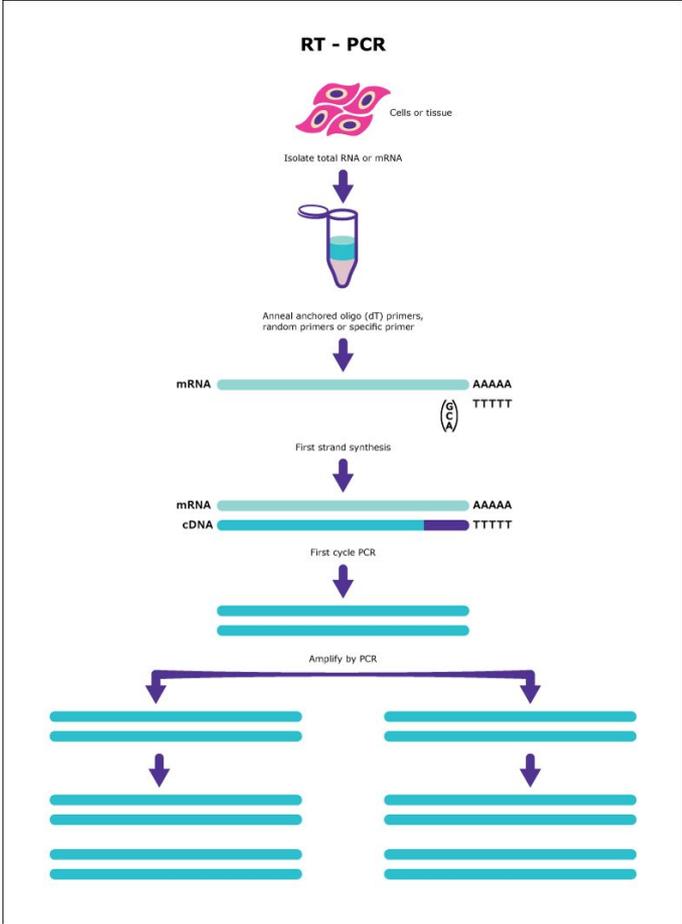
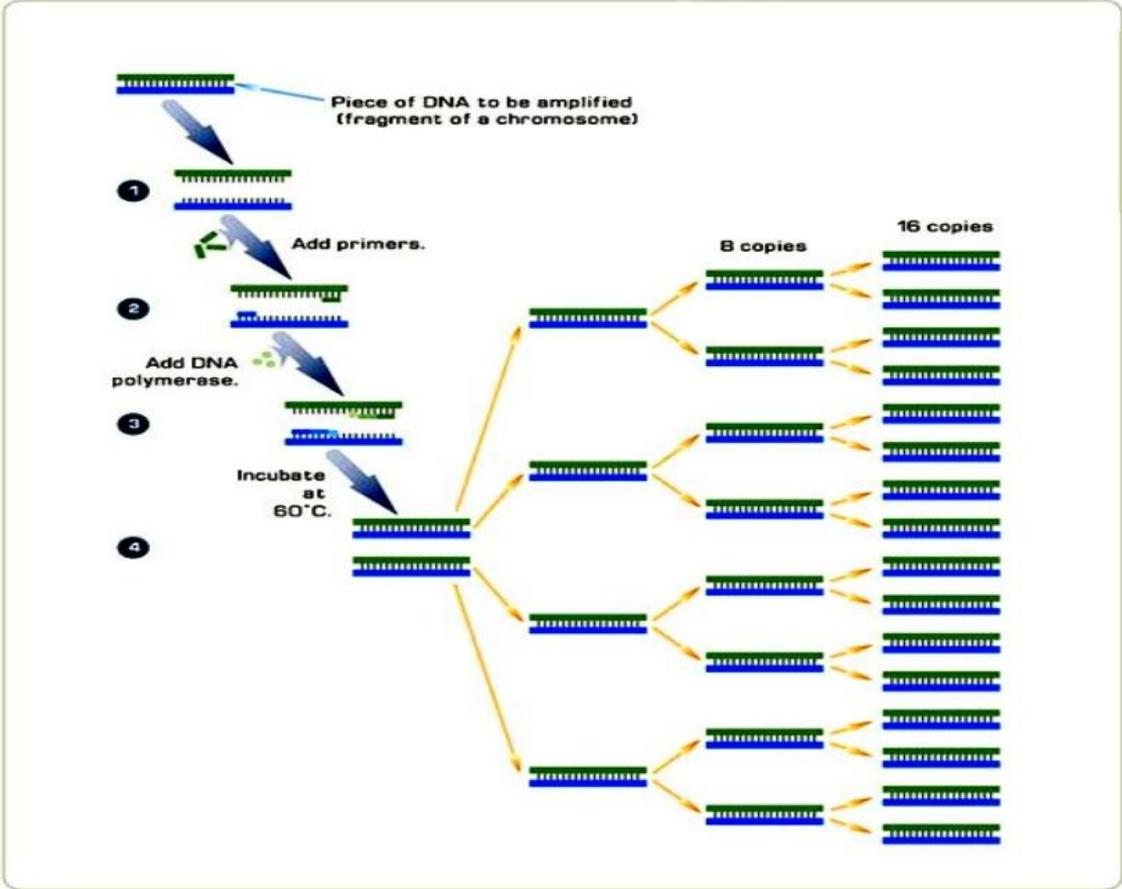
Cara kerja :

- Denaturasi → proses pembukaan DNA untai ganda menjadi DNA untai tunggal.
- Annealing (penempelan primer) → sebaiknya berukuran 18 – 25 basa, mengandung 50 – 60 % G+C dan untuk kedua primer tersebut sebaiknya sama, digunakan dalam PCR adalah 30 – 45 detik, Kisaran temperatur penempelan yang digunakan adalah antara 36oC sampai dengan 72oC, namun suhu yang biasa dilakukan itu adalah antara 50 – 60oC.
- perpanjangan Primer (extension)



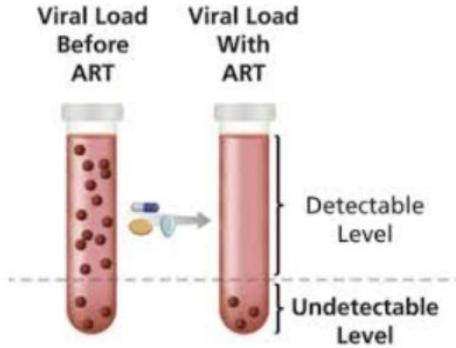
Gentier48

# Tahap 3



# Tcm (test cepat molekuler)

**Centrifuge** = alat untuk memutar sampel pada kecepatan tinggi, memaksa partikel yang lebih berat terkumpul ke dasar tabung centrifuge



Centrifuge adalah alat untuk memutar sampel pada kecepatan tinggi, memaksa partikel yang lebih berat terkumpul ke dasar tabung centrifuge. Pemakaian centrifuge yang paling sering adalah untuk pemisahan komponen sel darah dari cairannya sehingga cairannya bisa dipakai untuk pemeriksaan.

Ada beberapa klasifikasi centrifuge menurut jenisnya, antara lain :

#### - General Purpose Centrifuge

Model biasanya adalah tabletop (bisa diletakkan di atas meja) yang dirancang untuk pemisahan sampel urine, serum atau cairan lain dari bahan padat yang tidak larut. Centrifuge ini biasanya berkecepatan 0-3000 rpm, dan bisa menampung sampel dari 5-100 ml.- Micro Centrifuge atau disebut juga microfuges, memutar microtubes khusus pada kecepatan tinggi. Volume microtubes berkisar 0.5-2.0 ml.

#### - Speciality Centrifuge

Yaitu centrifuge yang dipakai untuk keperluan yang lebih spesifik. Seperti microhematocrit centrifuges dan blood bank centrifuges, yang dirancang untuk pemakaian spesifik di laboratorium klinik. Microhematocrit centrifuge adalah merupakan variasi dari microcentrifuge yang dapat menampung sampel kapiler untuk pengukuran volume hematocrit pack cell, sedangkan Blood Bank Centrifuge adalah centrifuge yang dipakai di bank darah dan serologi yang dirancang untuk memisahkan sampel serologis dalam tabung.

Jenis lain adalah centrifuge berkecepatan tinggi, yaitu *ultracentrifuges* dan *refrigerated centrifuges*. Centrifuge berkecepatan tinggi berputar pada kecepatan 0-20.000 rpm dan ultracentrifuge berputar pada kecepatan di atas 50.000 rpm. Kebanyakan centrifuge ini dilengkapi dengan sistem pendinginan untuk menjaga sampel tetap dingin selama sentrifugasi. Centrifuge ini lazim dipakai di laboratorium penelitian.

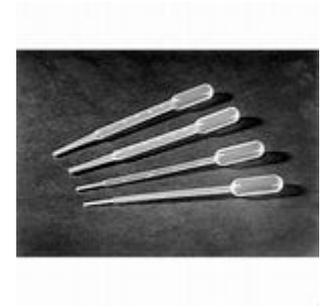
# Cartridge + pipet

**Pipet tetes** = salah satu alat kimia yang sangat umum digunakan dalam melakukan proses pengambilan cairan atau larutan dengan skala yang kecil.

Fungsi = membantu memindahkan cairan dari satu wadah ke wadah lainnya

Cara kerja = menekan bagian karet, agar udaranya dapat keluar terlebih dahulu. Jika akan menekannya ketika di dalam air, maka udara yang keluar mungkin dapat bereaksi dengan zat cair.

**Cartridge** = salah satu alat di lab yang digunakan untuk menyimpan cairan plasma sebagai bahan tes, yang pada cartridge juga terdapat barcode scanner sebagai identitas pasien



# Gen expert

Untuk mendeteksi *mycobacterium tuberculosis* dan kepekaannya terhadap rifampicin dengan menggunakan GeneXpert MTB/RIF.

## Prinsip kerja :

Bakteri dalam sputum dilisiskan dan DNA bakteri diisolasi. Fragmen DNA spesifik *M.tb* diamplifikasi jutaan kali dengan *Real Time Polymerase Chain Reaction*. Primer dalam assai Xpert MTB/RIF memperbanyak bagian dari gen *rpoB* yang mengandung 81 pasangan basa "core". Probes dapat membedakan *conserved wild-type sequence* dan mutasi pada core yang berhubungan dengan resistensi terhadap RIF



The screenshot shows a software interface with a table of results and a summary section. The table has columns for 'Ct', 'Result', 'Amplify Probe', and 'Primer Chain'. The summary section includes fields for 'User', 'Status', 'Separation Date', 'SOP Version', 'Cartridge S/N', 'Reagent Lot ID', 'Notes', and 'Error Status', along with 'Start Time', 'End Time', 'Instrument S/N', 'Module S/N', and 'Module Name'.

Ct	Result	Amplify Probe	Primer Chain
33.0	+	NEG	PA30
33.0	-	NEG	PA29
33.0	-	NEG	PA38
33.0	-	NEG	PA39
23.8	162	PA30	PA39
33.0	-	NEG	PA38
33.0	0	NEG	PA39
33.0	0	NEG	PA38

User:	Yoga DP	Start Time:	18/11/18 08:45:35
Status:	Done	End Time:	18/11/18 10:21:51
Separation Date:	06/05/17	Instrument S/N:	836648
SOP Version:	4.75	Module S/N:	036445
Cartridge S/N:	249950948	Module Name:	IS
Reagent Lot ID:	31509		
Notes:	suspek TB RD		
Error Status:	OK		

Di laptop hasilnya

**Interpretasi Hasil  
GeneXpert MTB/RIF**



# b-DNA

DNA bercabang

## Tabung reaksi kecil

Fungsi :

- Menjadi wadah untuk menampung berbagai reaksi kimia dalam skala medium.
- Menjadi wadah untuk melakukan percobaan reaksi kimia dalam skala kecil.
- Tabung reaksi juga bisa menjadi wadah perkembangbiakan mikroorganisme dalam media cair.
- Alat ini dapat digunakan untuk pengujian kualitatif.
- Menjadi tempat untuk mencampur, menampung, dan memanaskan bahan kimia dalam volume yang lebih kecil.

Prinsip Kerja : Sebagai wadah larutan, beberapa memiliki tutup yang digunakan untuk meletakkan sampel (darah).

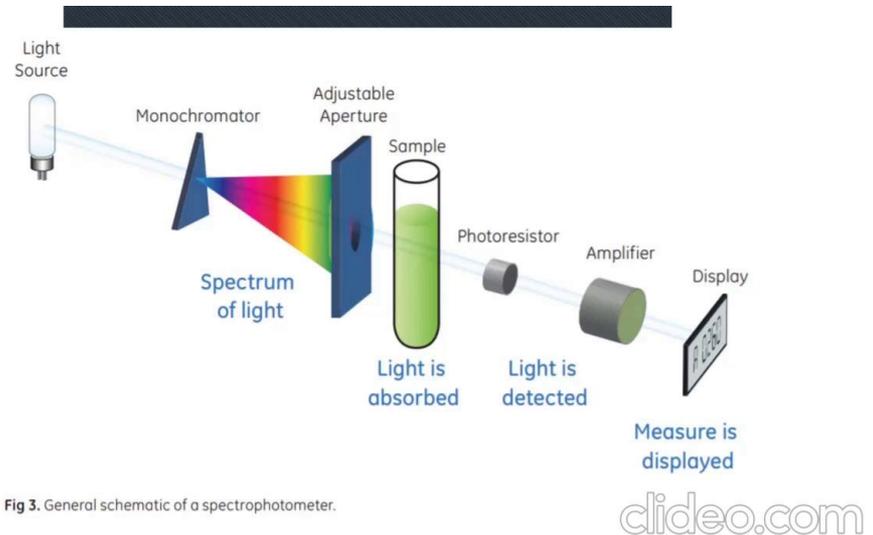
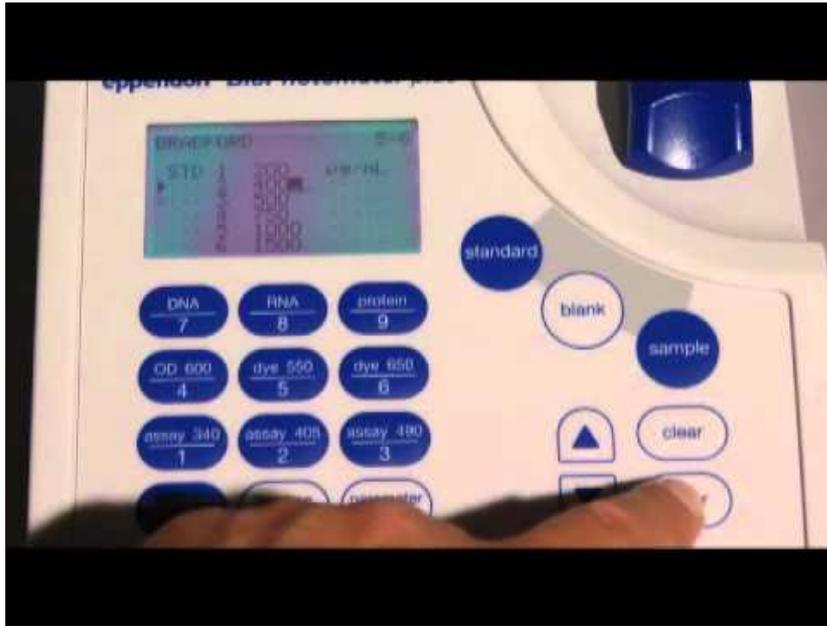


## biophotometer

alat yang digunakan untuk menganalisis ssDNA, dsDNA, RNA, protein secara cepat dan akurat. Alat ini biasanya digunakan dalam bidang biologi molekuler dan biokimia



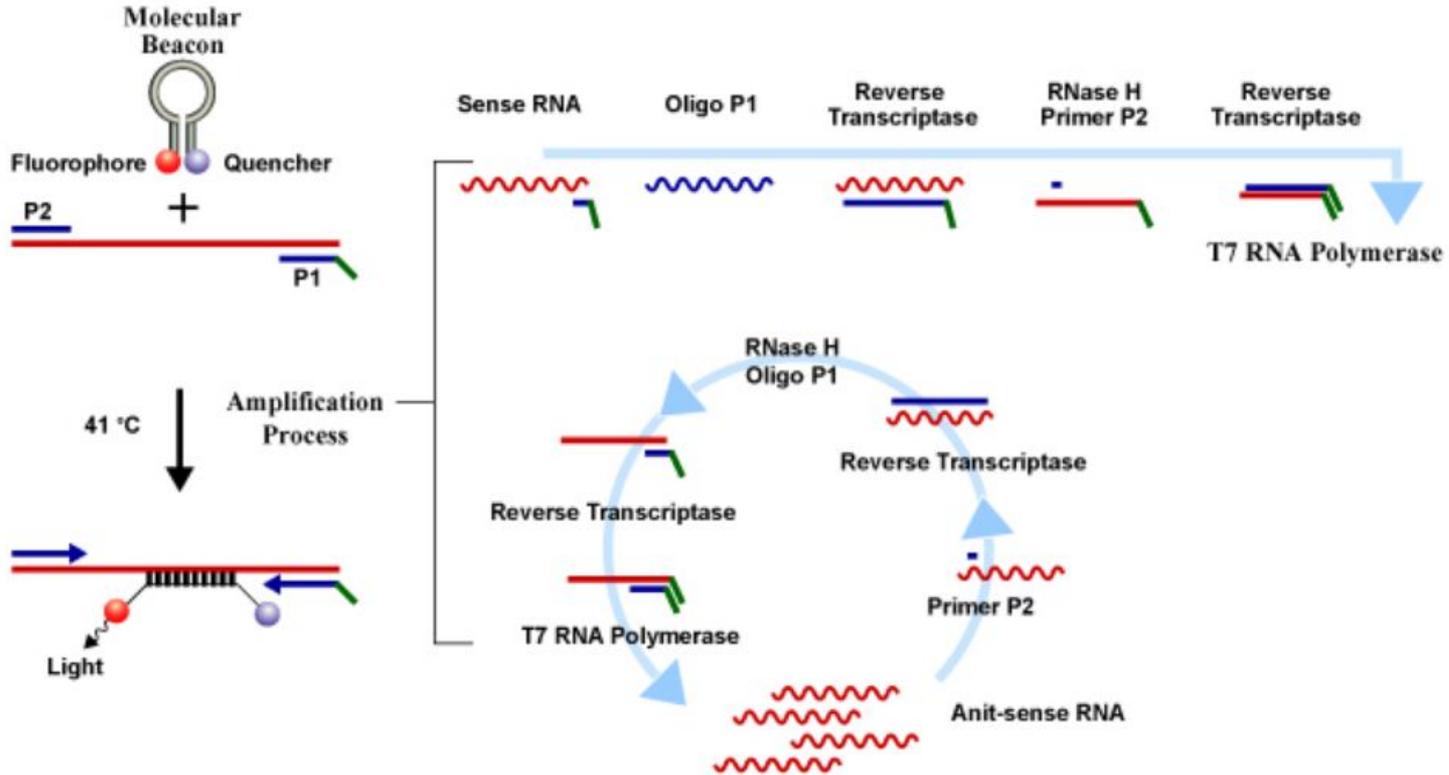
## Cara kerja biophotometer



Basis → Capture Probe → Extender → Target → label extender → pre-amplifier → amplifier

# NASBA

*nucleic acid sequence-based amplification*



Prinsip kerja alat (hanya beda prinsip kerjanya) , alatnya biasa pakai PCR

# **Pengukuran kadar berbagai jenis Sitokin dalam darah dengan metode ELISA**

# Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA)

- ❖ Teknik yang menggabungkan **spesifisitas antibodi** dengan **sensitivitas uji enzim** secara sederhana, dengan menggunakan antibodi atau antigen.
- ❖ Fungsi :
  - memberikan **pengukuran antigen atau antibodi** yang baik secara **relatif** maupun **kuantitatif**.
  - mendeteksi adanya **antigen yang dikenali oleh antibodi** atau menguji **antibodi yang mengenali antigen**.



ELISA READER



ELISA KIT

## Komponen kit

- Pre-coated, stabilized 96-well microtiter
- Plate
- Sample diluent
- Standard and controls
- Conjugated detection antibody
- 10x wash solution
- Substrate
- Stop solution

## Prinsip Kerja Microplate Reader (ELISA Reader)

- **Berkas cahaya** yang melewati sampel memiliki diameter yang berkisar antara 1 sampai 3 mm.
- Suatu sistem deteksi untuk mendeteksi cahaya yang berasal dari sampel, **menguatkan sinyal dan menentukan absorbansi sampel.**
- Selanjutnya suatu sistem pembacaan **mengubahnya menjadi data** yang memungkinkan **interpretasi hasil pengujian.**

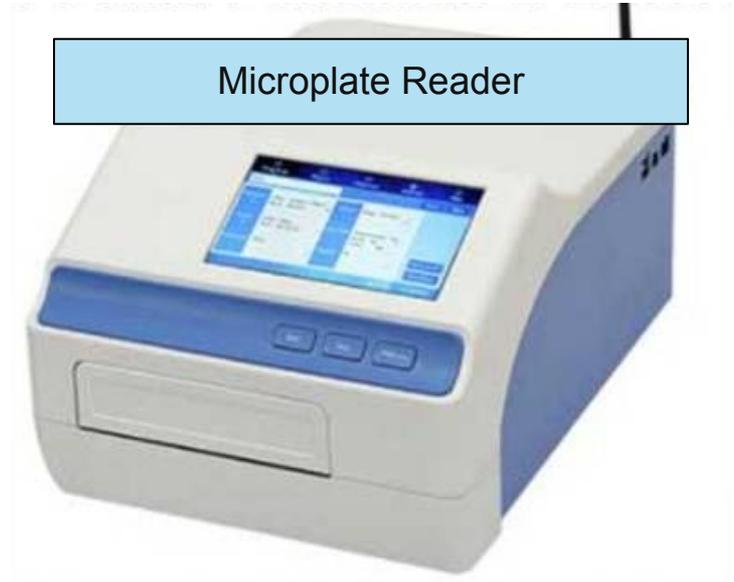


## Microplate Reader VS spektrofotometer

spektrofotometer



Microplate Reader



<

Melakukan analisis dengan jumlah sampel

# Komponen Penting dalam Immunoassay

## Antibodi (antiserum)

Antibodi: protein yg diproduksi oleh sistem imun untuk melawan antigen

**SYMBOL FOR  
ANTIBODY**



## Antigen

Molekul yang menginduksi produksi antibodi ketika dikenali oleh tubuh  
Apapun yang asing bagi sistem imun, misal: bakteri, virus, dll

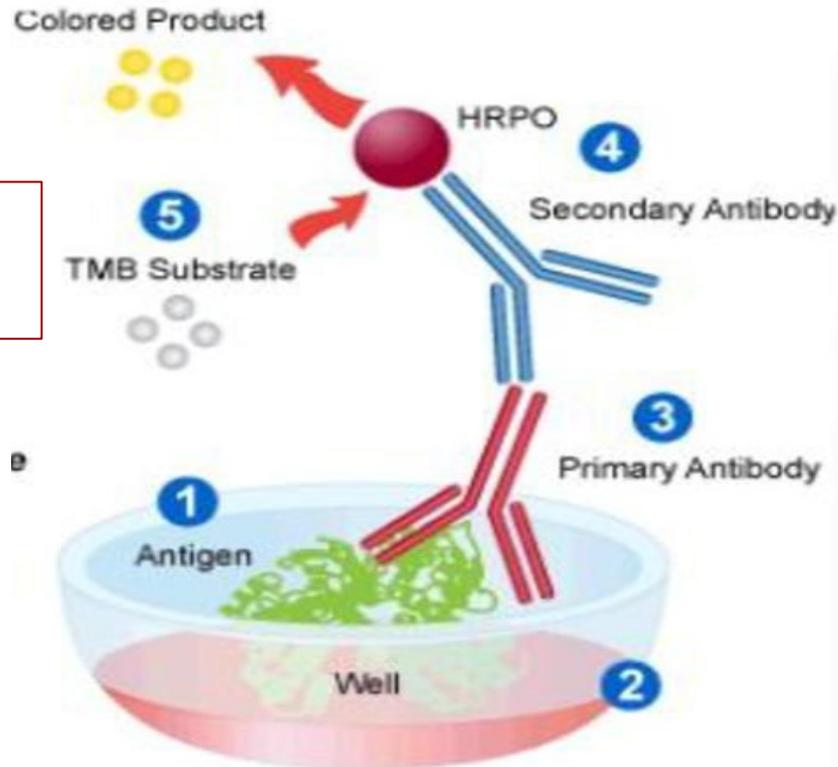
**SYMBOL FOR ANTIGEN**



## Labeling material

Diperlukan adanya marker untuk mengetahui ikatan antigen-antibodi  
Marker tidak boleh mengganggu ikatan

# Prinsip Dasar ELISA



**TMB** memiliki laju reaksi yang cepat sehingga cocok untuk analisis kinetik

**Menghitung, mengukur, menentukan jumlah  
sel (analisis sel) dengan metode  
Flowsitometri**

# Flow Cytometry

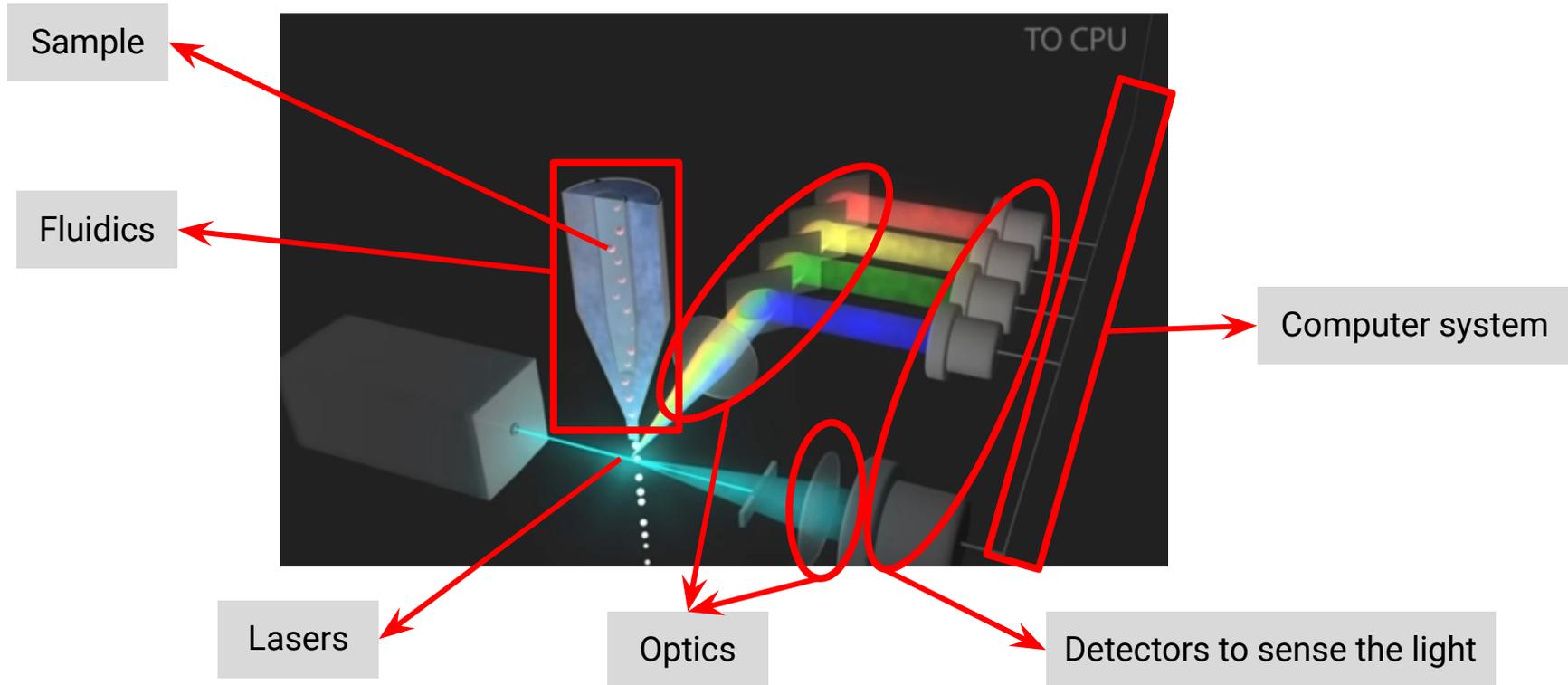
## Fungsi

- Menghitung dan menganalisis ukuran dan bentuk sel
- Menggolongkan dan mendeskripsikan tipe sel yang berbeda dalam populasi sel yang heterogen



# Flow Cytometry

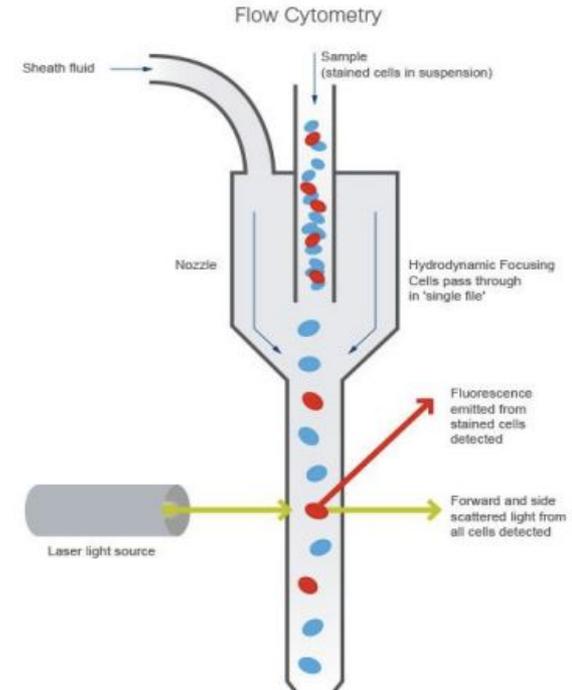
## Components



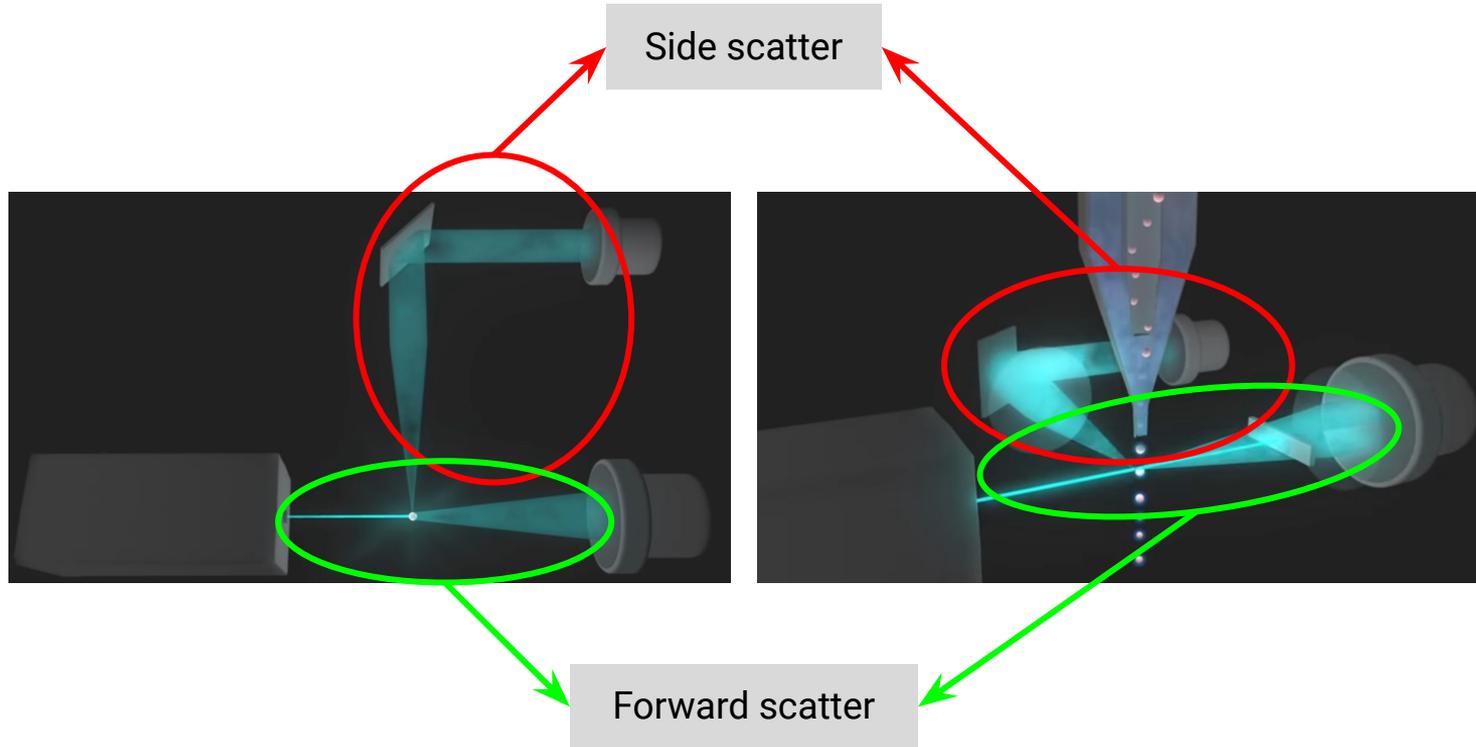
# Flow Cytometry

## Prinsip Kerja

- Setiap sel yang melewati berkas sinar laser akan menyebabkan sinar laser terpancar (scattered) ke dua arah, yaitu forward scatter (FSC) yang paralel dengan arah sinar dan side scatter (SSC) yang arahnya tegak lurus pada arah sinar laser.
- FSC → volume atau ukuran sel
- SSC → karakteristik sel
  
- Identifikasi antigen dapat digunakan berbagai zat pewarna fluorokrom.
- Fluorokrom merupakan suatu senyawa fluoresen yang dapat berpendar saat mengalami eksitasi oleh sinar dengan panjang gelombang tertentu.

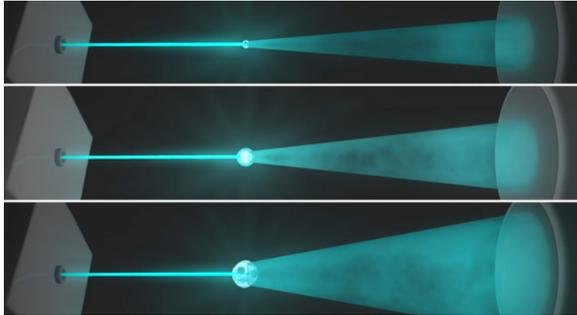


# Flow Cytometry

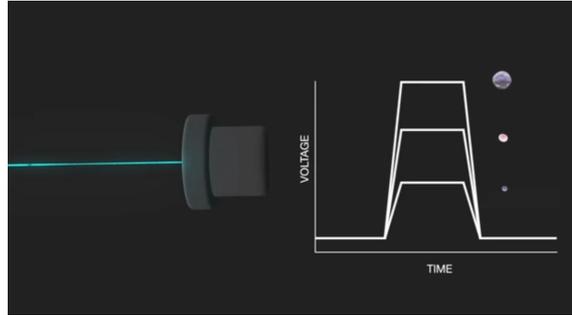


# Flow Cytometry

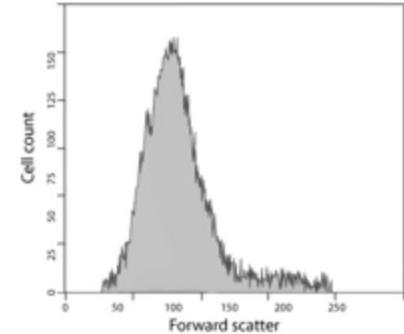
Forward scatter → ukuran sel



Jumlah cahaya yang tersebar ke depan untuk setiap sel dideteksi oleh detektor di sisi jauh sel dari laser.



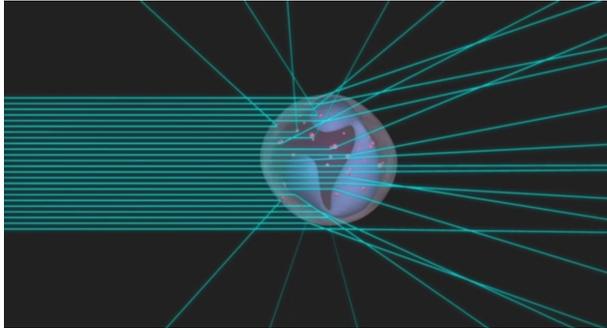
Detektor mengubah cahaya yang tersebar menjadi tegangan (voltage pulse), yang berbanding lurus dengan jumlah cahaya yang dihamburkan ke depan



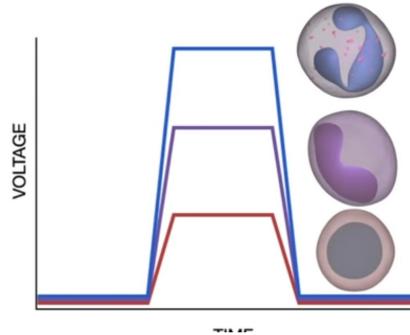
Komputer mengubah data menjadi plot histogram dengan jumlah cahaya yang tersebar ke depan pada sumbu x dan jumlah sel pada sumbu y

# Flow Cytometry

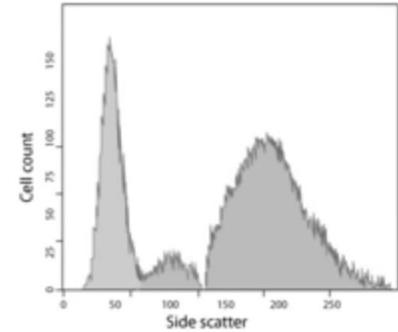
Side scatter → bentuk & kompleksitas sel



Jumlah sisi cahaya yang tersebar dideteksi oleh detektor yang terletak tegak lurus terhadap jalur sinar laser

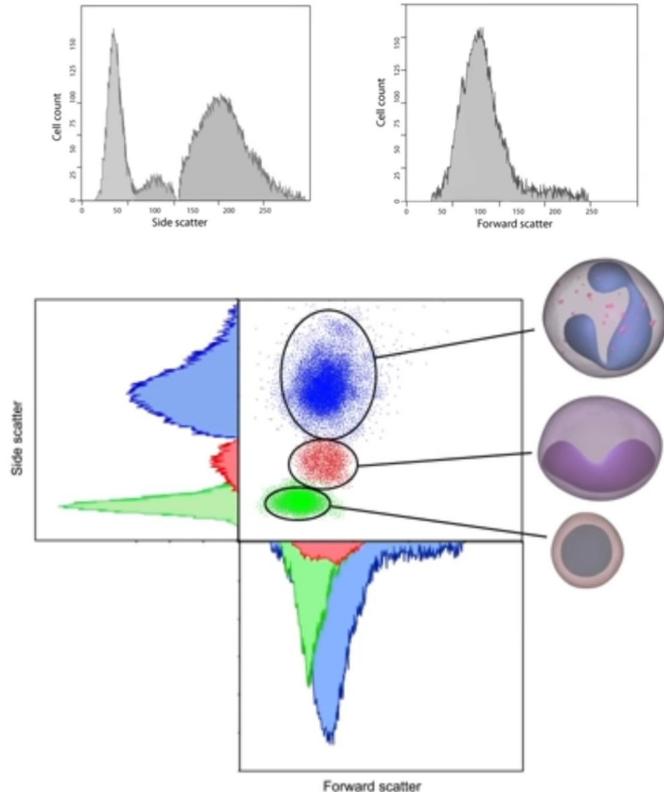


Detektor mengubah cahaya yang tersebar menjadi tegangan (voltage pulse), yang berbanding lurus dengan jumlah cahaya yang dihamburkan ke sisi



Komputer mengubah data menjadi plot histogram dengan jumlah cahaya yang tersebar ke samping pada sumbu x dan jumlah sel pada sumbu y

# Flow Cytometry

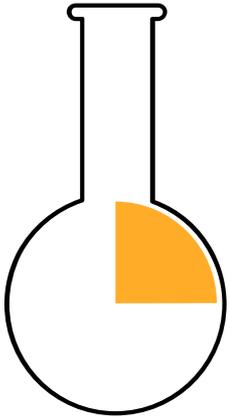


Dengan menganalisis data forward & side scatter bersama-sama, peneliti dapat memahami **ukuran, bentuk, dan kompleksitas sel**.

Selain itu, analisis data forward & side scatter memungkinkan peneliti untuk **membagi populasi sel yang heterogen menjadi populasi individu** dengan ukuran, bentuk, dan kompleksitas yang bervariasi.

Kemampuan menganalisis beberapa populasi dalam sampel ini adalah kekuatan besar dari teknik eksperimental flow cytometry.

# **LAB MOLEKULER GENETIKA**



# Hematology Analyzer

**Hematology analyzer** adalah alat laboratorium yang digunakan untuk mengukur kadar hemoglobin, leukosit hingga trombosit.



## Prinsip Kerja

Sampel darah yang ada dilakukan pencampuran dengan menggunakan campuran reagen untuk hingga terjadi proses yang disebut dengan hemolyzing. Dari proses ini akan terbagi menjadi beberapa tujuan, bisa pengukuran leukosit, trombosit maupun eritrosit.

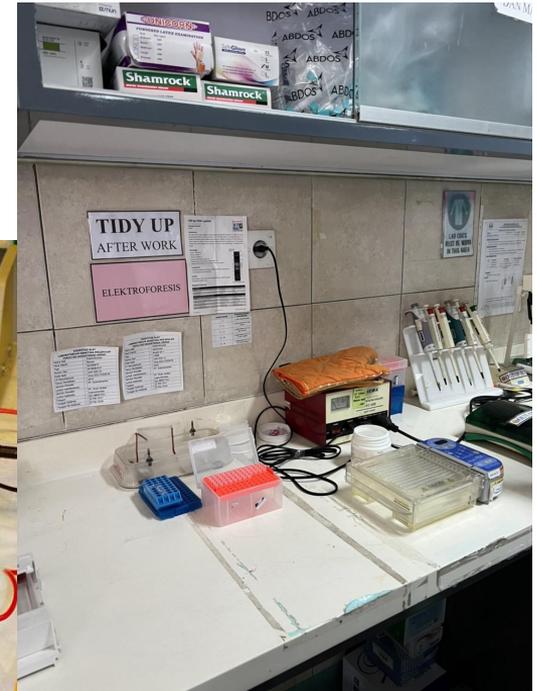
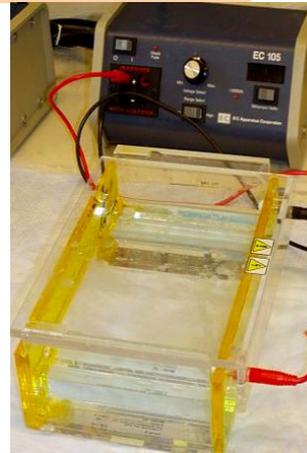
Jika sudah, maka semua data dari sampel darah tersebut akan diolah pada mikroprosesor, dan data akan ditampilkan dalam layar monitor.

# Elektroforesis gel

Teknik laboratorium yang digunakan untuk memisahkan molekul DNA, RNA atau protein berdasarkan ukuran dan muatan listriknya.

## Fungsi

- Untuk mengetahui ukuran dan bentuk suatu partikel baik DNA, RNA dan protein
- Untuk mengetahui ukuran dan jumlah basa yang dikandung suatu sekuen DNA tertentu.



# Elektroforesis gel

## Mekanisme kerja

- Elektroforesis melibatkan medan listrik, sehingga salah satu ujung memiliki muatan positif dan ujung lainnya memiliki muatan negatif.
- Karena DNA dan RNA adalah molekul bermuatan negatif, mereka akan ditarik ke arah ujung yang bermuatan positif sedangkan partikel-partikel bermuatan positif (kation) akan bergerak menuju kutub negatif (anoda).
- Protein tidak bermuatan negatif, jadi ketika ingin memisahkan protein menggunakan elektroforesis harus terlebih dahulu mencampur protein dengan deterjen yang disebut natrium dodesil sulfat. Perlakuan ini membuat protein terungkap ke dalam bentuk linier dan melapisi mereka dengan muatan negatif, yang memungkinkan mereka untuk bermigrasi ke arah ujung positif gel dan dipisahkan.
- Setelah molekul DNA, RNA, atau protein dipisahkan menggunakan elektroforesis, pita yang mewakili molekul dengan ukuran berbeda dapat dideteksi.

# Polymerase Chain Reaction (PCR)

Suatu teknik yang digunakan untuk membuat banyak salinan dari suatu segmen DNA, proses ini akan menghasilkan sejumlah besar salinan dari sampel awal yang kecil.

## Fungsi

Suatu metode sintesis enzimatik yang digunakan untuk mengaplifikasi DNA secara in vitro. Dapat meningkatkan jumlah urutan DNA berkali-kali lipat dari jumlah awalnya.

## Prinsip Kerja

- Reaksi amplifikasi ini dimulai dengan melakukan denaturasi DNA cetakan yang berantai ganda menjadi rantai tunggal
- Suhu diturunkan sehingga primer akan menempel (annealing) pada DNA cetakan yang berantai tunggal.
- Setelah proses annealing, suhu dinaikkan kembali sehingga enzim polimerase melakukan proses polymerase rantai DNA yang baru.
- Rantai DNA yang baru tersebut selanjutnya sebagai cetakan bagi reaksi polimerase berikutnya.



# Polymerase Chain Reaction (PCR)

## Cara Kerja

Tahapan dalam melakukan alat PCR :

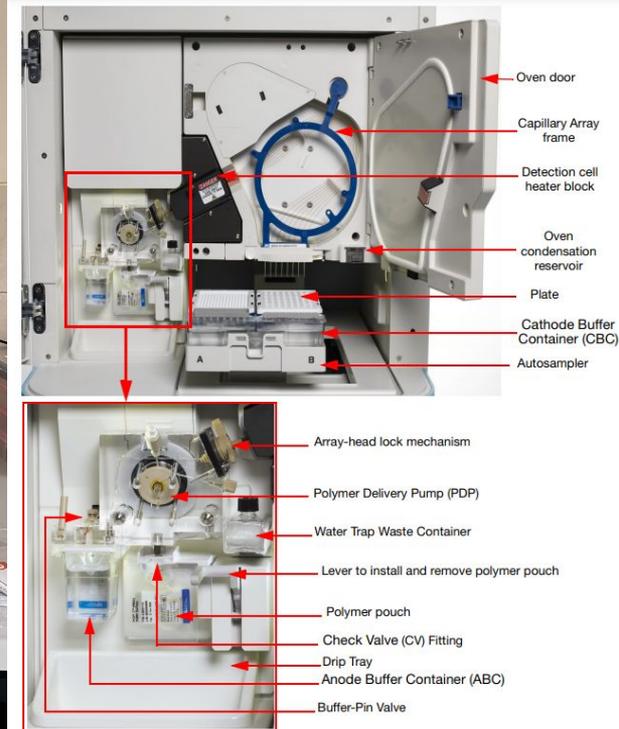
1. Denaturasi  
→ Pemanasan sampai dengan mencapai suhu 94-96°C. Pada proses ini, panas mempengaruhi DNA akan terpisah menjadi untai tunggal DNA.
2. Annealing/Penempelan  
→ Suhu akan diturunkan menjadi 50-65°C. Proses ini memungkinkan untuk primer menempel pada template untai tunggal DNA dan berikatan pada daerah komplementer pada sekuen single-stranded DNA.
3. Extension/elongasi  
→ Suhu pada tahap elongasi bergantung dengan enzim polimerase DNA yang digunakan. Suhu optimum pada 75-80°C dan umumnya 72°C. Pada tahap ini, enzim polimerase atau Taq polimerase melakukan pemanjangan membentuk sekuen DNA baru. DNA polimerase mensintesis sekuen atau untai DNA baru yang komplementer pada untai DNA template dengan menambahkan dNTP (deoksiribonukleotida trifosfat) komplementer pada templat dengan arah ujung 5' ke 3', sehingga terbentuklah untai DNA baru. dNTP merupakan nukleotida yang salah satu dari jenisnya dicampurkan pada proses elongasi.

# Genetic Analyzer

**Genetic analysis:** the study of a sample of DNA to look for differences, or variants, that may increase an individual's risk for disease or impact drug responses.

## DESCRIPTION:

- fluorescence based DNA analysis instrument using capillary electrophoresis technology with 8- or 24- capillaries.
- capable of sequencing DNA or analyzing fragments.
- suited for applications such as Sanger sequencing, genotyping, mutation analyses, methylation, and SNP and STR profiling.



# Genetic Analyzer

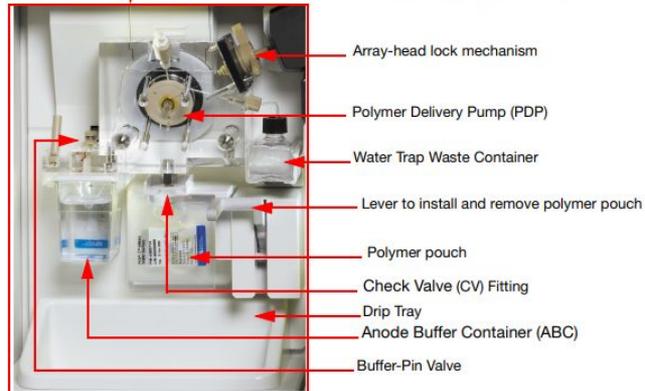
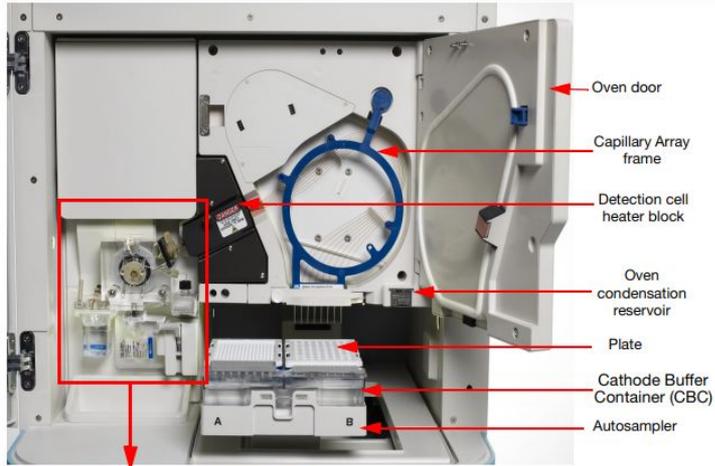


Table 1 Instrument parts and functions

Part	Function
Autosampler	Holds the sample plates and Cathode Buffer Container (CBC) and moves to align the plates and CBC with the capillaries.
Oven	Maintains uniform capillary array temperature.
Oven condensation reservoir	Collects condensation from the oven.
Pump block	Includes the displacement pump chamber, polymer chambers, piston water seal, syringe fitting array attachment point (array port), the lower polymer block, and the CV/Fitting (Check Valve pouch attachment fitting).
Detection cell heater block	Holds the detection cell in place for laser detection and maintains the detection cell temperature of 50 °C.
Polymer Delivery Pump (PDP)	Pumps polymer into the array and allows for automated maintenance procedures.
Lower polymer block	Contains the buffer valve, anode electrode, buffer gasket, and holds the anode buffer container.
Radio Frequency Identification (RFID)	RFID tags to read the following information for primary instrument consumables: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Lot numbers</li> <li>• Serial numbers</li> <li>• Dates (expiration)</li> <li>• Capacity (usage)</li> </ul> The primary consumables are: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Capillary Array</li> <li>• Cathode Buffer Container (CBC)</li> <li>• POP™ Polymer</li> <li>• Anode Buffer Container (ABC)</li> </ul>
Capillary Array	Enables the separation of the fluorescent-labeled DNA fragments by electrophoresis. It is a replaceable unit composed of 8 or 24 capillaries (50 cm and 36 cm length). <b>Note:</b> The 36 cm capillary is for HID applications, only.
Anode Buffer Container (ABC)	The Anode Buffer Container (ABC) contains 1X running buffer to support all electrophoresis applications on the instrument. It has a built-in overflow chamber to maintain constant fluid height.
Cathode Buffer Container (CBC)	The Cathode Buffer Container (CBC) contains 1X running buffer to support all electrophoresis applications on the instrument.
Polymer pouch	Supplies polymer to the Polymer Delivery Pump.
Conditioning reagent	The pouch is used for priming the polymer pump, washing the polymer pump between polymer type changes, and during instrument shut down. It has adequate volume for a one-time use.

# Genetic Analyzer

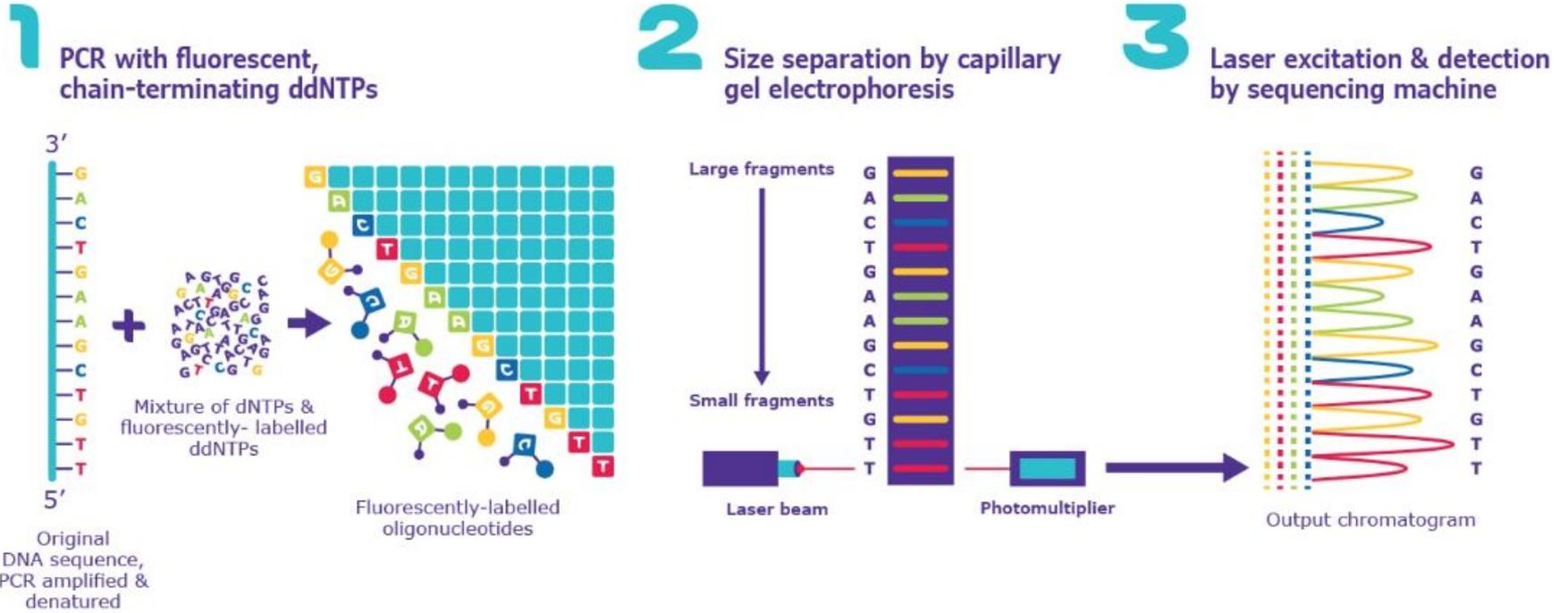


Figure 1. Three Basic Steps of Automated Sanger Sequencing.

# Genetic Analyzer

## MECHANISM

### 1. Preparing samples

- The sample is denatured so that only single-strand DNA is present.
- Fluorescent dyes are attached to the DNA.

### 2. During run, the systems:

- Prepares the capillary by pumping fresh polymer solution under high pressure from the polymer delivery pump to the waste position in the Cathode Buffer Container (CBC).
- Electrokinetically injects the sample into the capillary using a low-voltage for a few seconds.

### 2. During run, the systems:

- Washes the capillary tips in the rinse position of the CBC
- A high electric field pulls the negatively charged DNA through the separation polymer.
- The smaller fragments migrate faster than the larger fragments and reach the detector first.
- 4 different dyes attached to DNA and determine the 4 bases A, G, C and T
- Captures the fluorescent light

#### Start the system:

1. Start the instrument ([page 22](#)).
2. Start the computer ([page 24](#)).
3. Check maintenance notifications in the Dashboard ([page 28](#)).
4. Check consumable status in the Dashboard ([page 29](#)).
5. Replenish consumables ([page 31](#)).

#### Set up and run:

1. Prepare the instrument ([page 42](#)).
2. Preheat the oven ([page 42](#)).
3. Check instrument status ([page 53](#)).

1. Create or import a plate ([page 43](#)).
2. Assign plate contents ([page 46](#)).
3. Print the plate layout ([page 50](#)).
4. Prepare and load sample plates ([page 51](#)).

Quick Start a run ([page 55](#)).

1. Load plates for run and create the injection list ([page 56](#)).
2. Review and modify the injection list in Preview Run ([page 59](#)).
3. Start the run ([page 61](#)).
4. Monitor the run ([page 61](#)), check sequence or sample quality and specify re-injections ([page 62](#)).

#### Review sequencing results:

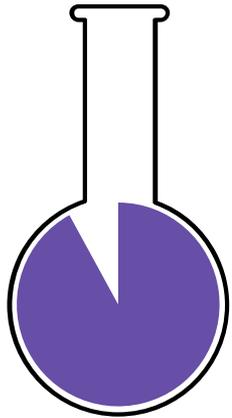
1. Review sequence quality ([page 81](#)).
2. Specify re-injections ([page 95](#)).
3. Review quality reports ([page 85](#)).
4. Export sequencing results ([page 87](#)).

#### Review fragment/HID results:

1. Review sample quality ([page 89](#)).
2. Specify re-injections ([page 85](#)).
3. Review quality reports ([page 95](#)).
4. Export sizing results ([page 96](#)).

(Optional) print or save (.pdf) calibration and performance check reports to save with results:

- Spatial calibration ([page 99](#))
- Spectral calibration ([page 103](#)).
- Sequencing install standard performance check ([page 122](#)).
- Fragment or HID install standard performance check ([page 132](#)).



# LAB KULTUR SEL & SITOGNETIKA

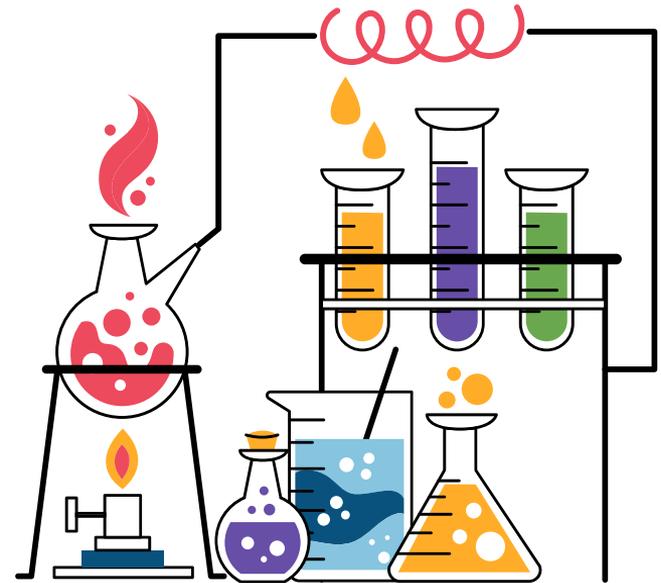
## LAB KULTUR SEL & SITOGENETIKA

### CULTURE CELLS

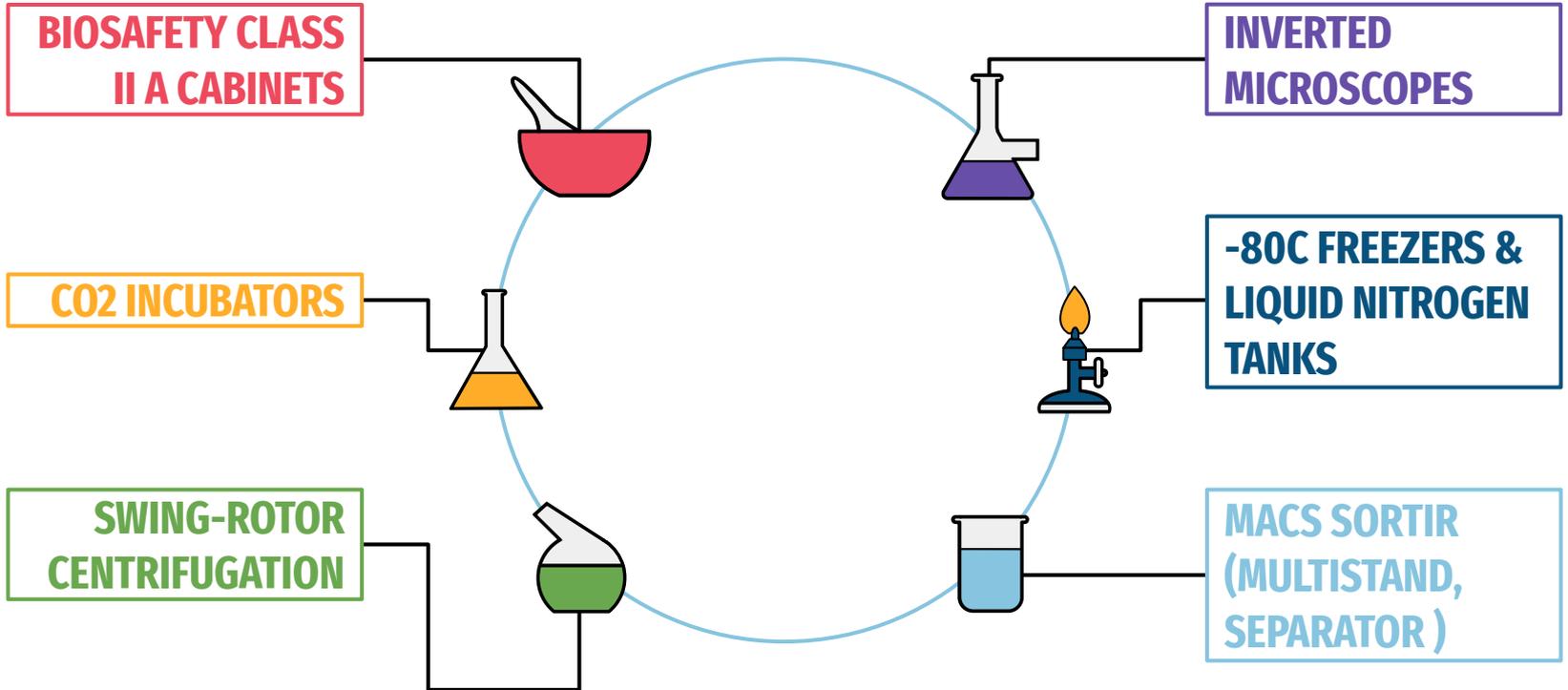
Kultur Sel ialah suatu proses di mana suatu sel dari suatu jaringan diambil dan ditumbuhkan pada kondisi septik. Sel yang digunakan untuk dikultur biasanya diambil dari jaringan eukaryota. Sel tersebut akan tumbuh dan bertambah banyak dalam kondisi in vitro.

### SITOGENETIKA

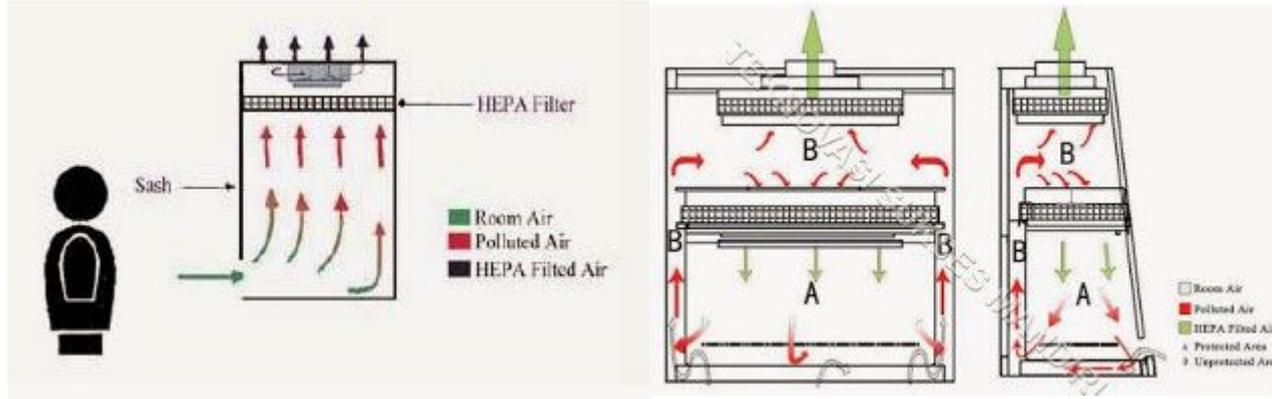
Sitogenetika  
Cytogenetics adalah gabungan antara cytology (studi tentang sel) dan genetika, yang berusaha menjelaskan hubungan antara kejadian-kejadian di dalam sel (khususnya kromosom) dengan fenomena genetis.



# ALAT - ALAT



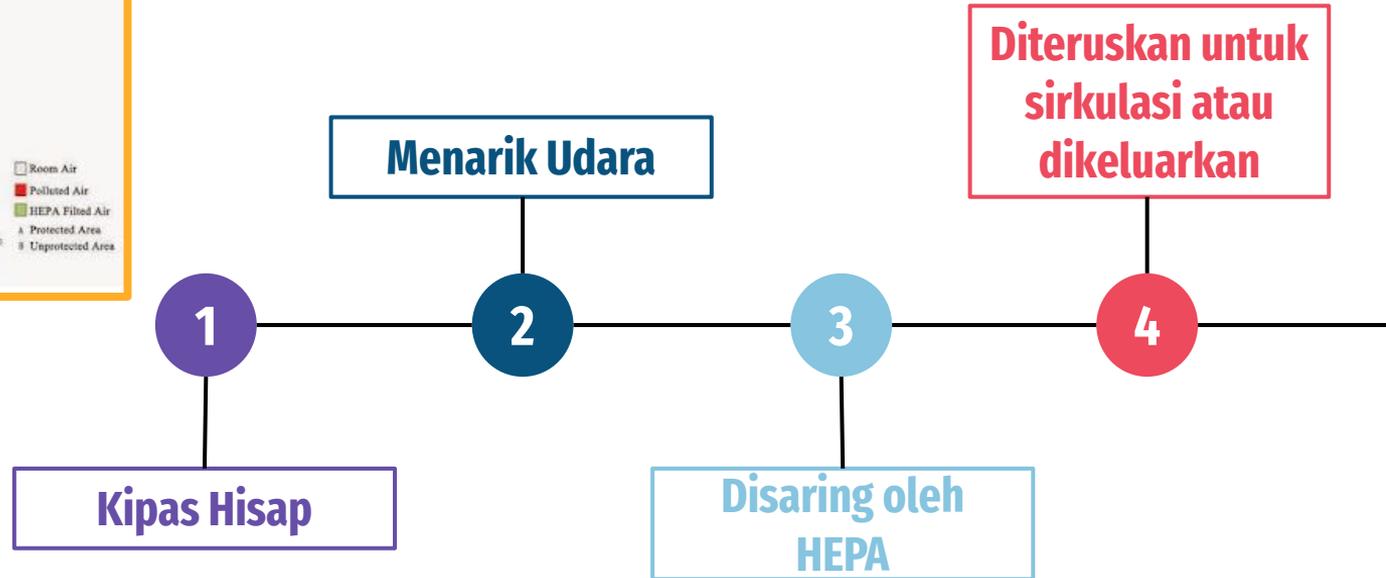
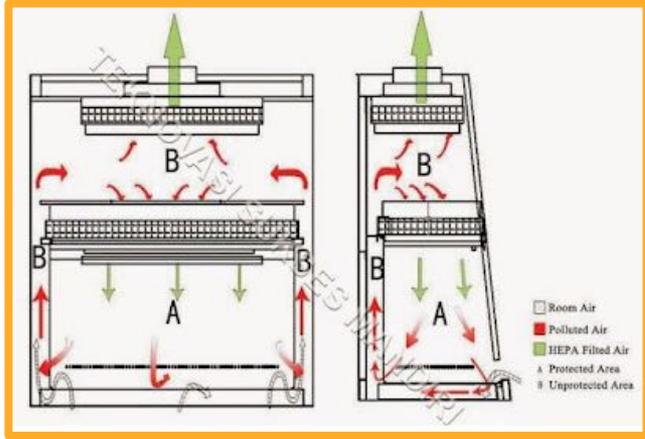
# BIO SAFETY CLASS II A CABINETS



suatu area kerja laboratorium didesain khusus dengan ventilasi udara yang dalam pembuatannya telah direkayasa untuk keamanan pekerja atau laboran yang menggunakan sampel material, untuk menghindari kemungkinan bahaya terkontaminasi yang dapat menimbulkan penyebaran bakteri atau virus yang bersifat patogen



# Prinsip kerja BSC II A



# CO2 INCUBATORS

- CO2 Incubator atau inkubator CO2 adalah alat laboratorium yang digunakan untuk membantu proses pertumbuhan kultur sel bakteri.
- Alat CO2 Incubator mampu memberikan suhu yang konstan sehingga menghasilkan kelembapan yang baik bagi pertumbuhan bakteri.



# Komponen penting CO2 INCUBATORS

## Thermostat



## Kabinet



## Pengontrol Kelembapan & Gas



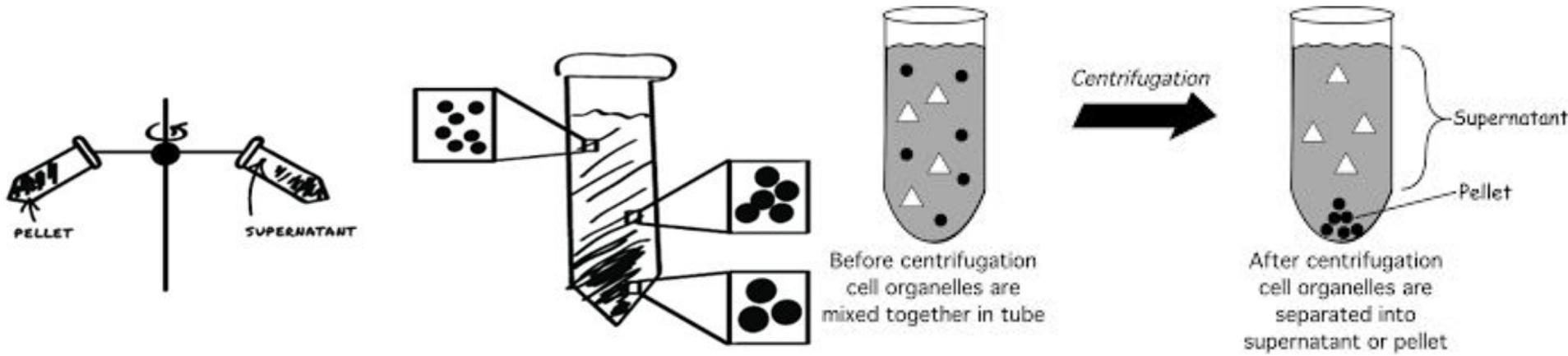
# SWING-ROTOR CENTRIFUGATION

Centrifuge adalah alat pada laboratorium yang digunakan untuk memisahkan partikel organel. Hasil dari pemisahan centrifuge ditunjukkan dalam pengendapan atau sedimentasi karena perbedaan massa jenis larutan. Centrifuge dilakukan dengan cara menempatkan suatu objek yang akan dipisahkan ke dalam rotor dan memanfaatkan gaya tegak lurus terhadap sumbu spin. Jika perputaran semakin cepat, maka sedimentasi atau pengendapan yang terbentuk akan semakin banyak.



# Prinsip kerja CENTRIFUGATION

Prinsip kerja centrifuge adalah dengan memisahkan partikel yang terkandung di dalam suatu larutan menurut ukuran, bentuk, kerapatan molekul, viskositas dari medium tersebut serta kecepatan rotor. Centrifuge memanfaatkan gaya sentrifugal, yakni gaya putar yang menjauhi pusat lingkaran sehingga pada suatu cairan, partikel yang lebih besar akan secara otomatis menjauh, sedangkan partikel yang lebih kecil akan berkumpul dan membentuk endapan di bagian tengah cairan.

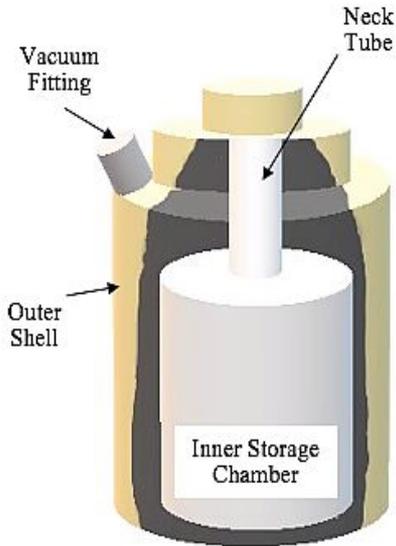


# freezers & Liquid Nitrogen Tank



Sebuah wadah bersuhu yang sangat rendah untuk mengawetkan dan menyimpan sel dan jaringan hidup yang utuh secara struktural dalam jangka waktu yang lama pada proses kriopreservasi, serta mengurangi risiko adanya kontaminasi





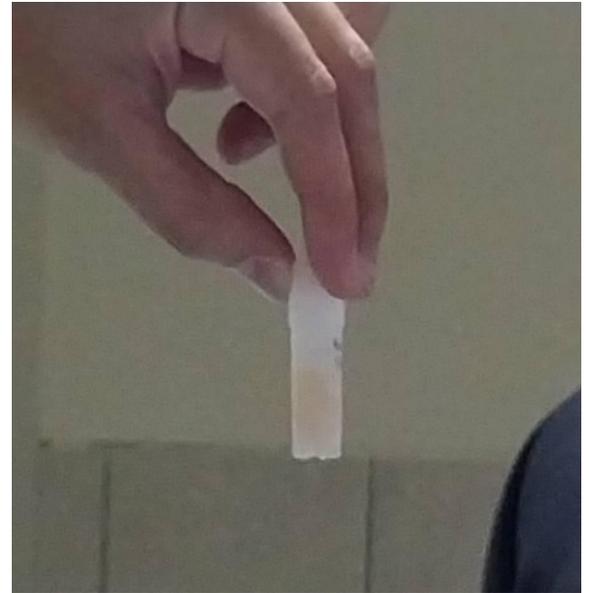
- Tangki terbuat dari dua lapisan terjepit dari aluminium atau paduan aluminium yang memiliki ruang hampa di antara keduanya
- Udara dikeluarkan dari ruang luar, dan vakum parsial dibuat di area antara dua ruang
- Vakum inilah (seperti dalam botol termos) yang mengisolasi tangki dan mengurangi jumlah kehilangan energi konduktif dan memungkinkan nitrogen cair bertahan lebih lama daripada yang lain.

Vakum berada di antara ruang penyimpanan bagian dalam dan kulit luar. Spesimen disimpan di ruang penyimpanan bagian dalam.

mempertahankan rentang suhu yang sangat spesifik secara konsisten dan biasa dilengkapi dengan fitur-fitur khusus termasuk termometer

Kriopreservasi adalah proses yang mengawetkan organel, sel, atau jaringan lainnya dengan mendinginkan sampel ke suhu yang sangat rendah.

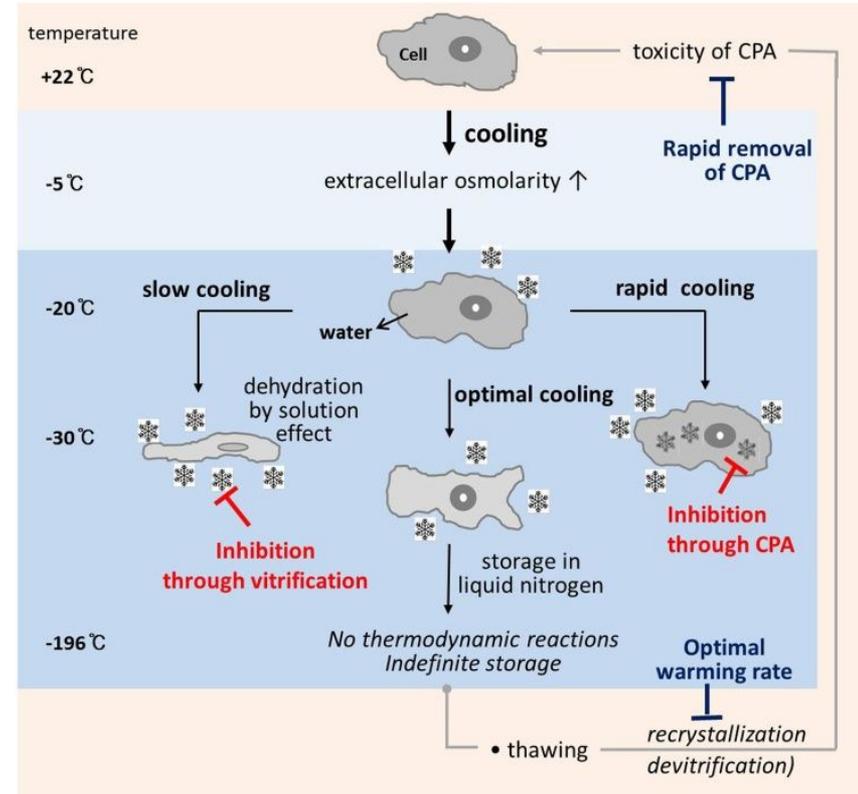
Reaksi biologis dan kimia dalam sel hidup berkurang secara dramatis pada suhu rendah sehingga memungkinkan untuk dilakukan penyimpanan jangka panjang



Pembekuan berakibat fatal bagi sebagian besar organisme hidup, karena kristal es intra dan ekstraseluler terbentuk dan menghasilkan perubahan pengaturan kimiawi sel yang menyebabkan kerusakan seluler.

Kerusakan sel pada kecepatan pendinginan yang cepat dikaitkan dengan pembentukan es intraseluler, sedangkan pendinginan lambat menyebabkan perubahan osmotik karena efek paparan larutan intra dan ekstraseluler yang sangat terkonsentrasi atau interaksi mekanis antara sel dan es ekstraseluler.

Perilaku pembekuan sel dapat diubah dengan adanya agen cryoprotective yang berfungsi mencegah kerusakan sel akibat pembentukan kristal es.



# MACS (Magnetic-activated cell sorting)

MACS (Magnetic-activated cell sorting) adalah teknologi pemisahan sel berdasarkan penggunaan manik-manik magnetik terkonjugasi antibodi monoklonal.

MACS mengikat partikel magnetik ke sel melalui interaksi antibodi dengan penanda permukaan sel yang ditargetkan.

Kemudian, sel-sel yang ditargetkan tersebut diisolasi secara magnetis dari sampel biologis lainnya.



# MACS (Magnetic-activated cell sorting)

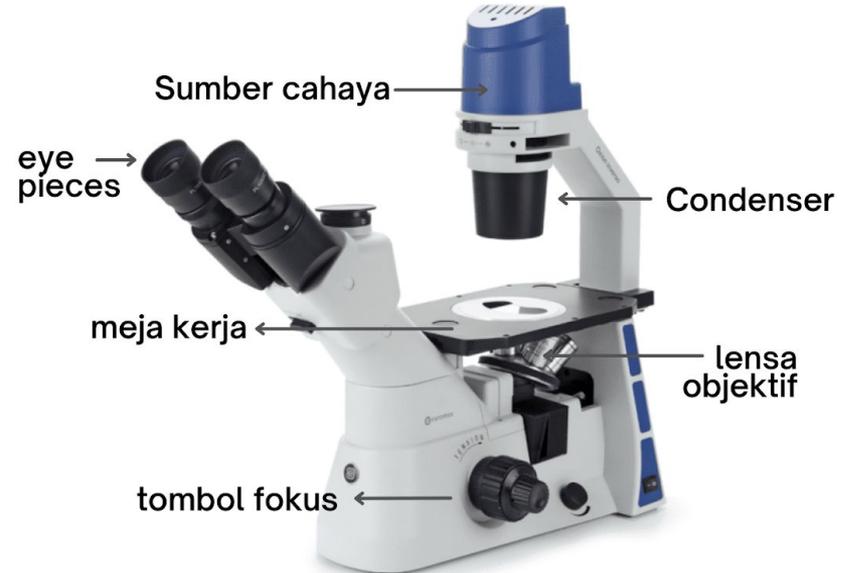
## Prinsip kerja:

1. Manik-manik magnetik dilapisi dengan antibodi, lektin, atau enzim yang terkait dengan penanda permukaan atau antigen dari kelompok sel yang ditargetkan ditambahkan ke sampel biologis.
2. Sel dengan penanda permukaan tersebut diberi label oleh manik-manik magnetik.
3. Solusinya ditransfer ke kolom, dan medan magnet diterapkan.
4. Sel yang ditargetkan—sel yang melekat pada manik-manik magnetik—dimagnetisasi ke dinding kolom sementara sel yang tidak ditargetkan mengalir melalui kolom.
5. Medan magnet dimatikan, dan sel-sel pembawa manik-manik dilepaskan untuk pemulihan

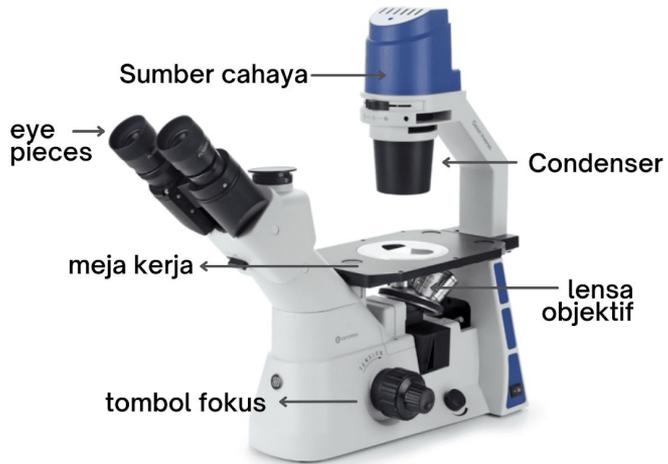
# Inverted Microscope

Inverted Microscope (mikroskop terbalik) adalah mikroskop yang ditemukan pada tahun 1850.

Disebut mikroskop terbalik, karena lensa objektif yang berada di bawah meja kerja, sedangkan kondensor dan sumber cahaya berada di atas meja kerja.



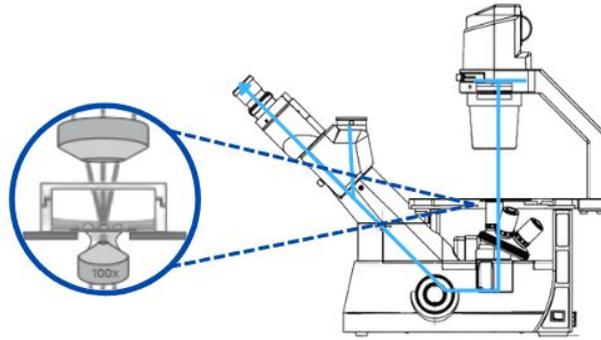
# Inverted Microscope



- **Meja kerja**  
Meja kerja pada mikroskop terbalik relatif besar dan mampu menampung besar seperti cawan petri.
- **Kondensor**  
Kondensor mikroskop berada di atas meja kerja, yang digunakan untuk melihat pada spesimen.
- **Lensa objektif**  
Lensa yang berfungsi untuk menghasilkan dan memperbesar gambar spesimen. Lensa ini bergerak secara vertikal. Mikroskop terbalik umumnya memiliki 3-6 lensa objektif.
- **Tombol fokus**  
Tombol untuk menyempurnakan pemfokusan untuk mendapatkan gambar yang jernih dan tajam saat melihat melalui lensa okuler.
- **Lensa mata**  
Lensa mata tetap berada di sudut pandang standar seperti mikroskop pada umumnya.

# Inverted Microscope

## Prinsip kerja:



Inverted Microscope dapat mengamati spesimen dari bawah, bukan dari atas. Hal ini karena sumber cahaya dan kondensor terletak di atas stage/meja kerja, mengarah ke bawah sedangkan lensa objektif terletak di bawah stage menunjuk ke atas.

Oleh karena itu, sel-sel diamati melalui bagian bawah wadah kultur sel. Untuk memenuhi kriteria keberhasilan pengamatan, bagian bawah wadah kultur harus memiliki fitur optik tertinggi



**THANK YOU!!**

