

## MENGEMBANGKAN KEMAMPUAN MAHASISWA PENDIDIKAN BIOLOGI DALAM MENGISOLASI PLASMID BAKTERI SEBAGAI PENGAYAAN PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI

Oleh:

*Kusnadi, Diana Rochintaniawaty, Diah Kusumawaty*

Jurusan Pendidikan Biologi  
FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia

### ABSTRACT

*This learning cycle focused on developing of Biology education student's performance in bacteria DNA-plasmid isolation as well as using gel electrophoresis. The aim of the study was to improve student's performance in operating equipment used in plasmid isolation such as: micropipettes, microcentrifuge, vortex, shaker-incubator, gel electrophoresis, and UV Trans-illuminator camera. Beside that students were also trained to DNA-plasmid isolation base on standard procedure, so students could identify the form of plasmid via the use of gel electrophoresis. This study was conducted in 2 cycle learning processes as an enrichment of microbiology activity, which associated with molecular microbes genetics. Using observation sheet did evaluation. The study revealed that biology education students had good performance in isolating the plasmid and all group were succeed to isolate the plasmid. Beside that there were increased in knowledge ability especially associated with molecular microbes genetics subject, which achievement gain average was 18,3% (Class A) and 35,4% (class B). The DNA isolation activity in microbiology learning shared high contribution as well as increasing of knowledge achievement and performance ability.*

*Keyword: DNA-plasmid, gel electrophoresis, isolation, learning cycle*

### PENDAHULUAN

Pentingnya kegiatan praktikum dalam pembelajaran sains tidak dapat disangkal lagi, karena melalui kegiatan praktikum keterampilan proses sains siswa dapat dikembangkan. Selain menunjang pemahaman siswa terhadap konsep yang dipelajarinya, kegiatan praktikum merupakan sarana untuk membiasakan siswa pada masalah nyata pada dunia kerja sehingga menghasilkan siswa yang siap dengan bidang pekerjaan yang akan digelutinya (Winarno Surakhmad, 1988).

Bidang ilmu biologi molekuler merupakan bidang ilmu yang pada saat ini berkembang sangat pesat. Bidang ilmu ini telah menjadi akar bagi pengembangan ilmu-ilmu biologi lainnya maupun ilmu terapan yang terkait dengan ilmu biologi. Bahkan dalam bidang industri pengembangan teknik dalam bidang biologi molekuler telah membantu manusia

untuk mendapatkan produk-produk yang lebih efisien dalam penggunaannya sehingga memiliki nilai ekonomi tinggi, seperti misalnya produksi vaksin, tumbuhan dan hewan transgenik dll. (Levin and Strauss, 1998).

Salah satu teknik yang mendasar dari bidang ilmu ini adalah isolasi plasmid. Plasmid banyak digunakan sebagai vektor dalam teknik rekayasa genetika (Macer, 1998). Keterampilan dalam mengisolasi plasmid merupakan keterampilan dasar yang harus dimiliki oleh kelompok orang yang tertarik dalam bidang biologi molekuler. Salah satu teknik isolasi plasmid telah dikembangkan oleh Xiang *et al.*, (1998) dengan teknik ini isolasi plasmid berikut elektroforesis DNA plasmid dapat dilakukan dalam waktu lebih kurang 1 jam, dan peralatan yang digunakan relatif sederhana sehingga memungkinkan untuk dilakukan dalam kegiatan praktikum di laboratorium perguruan tinggi (Kusumawaty, 1999).

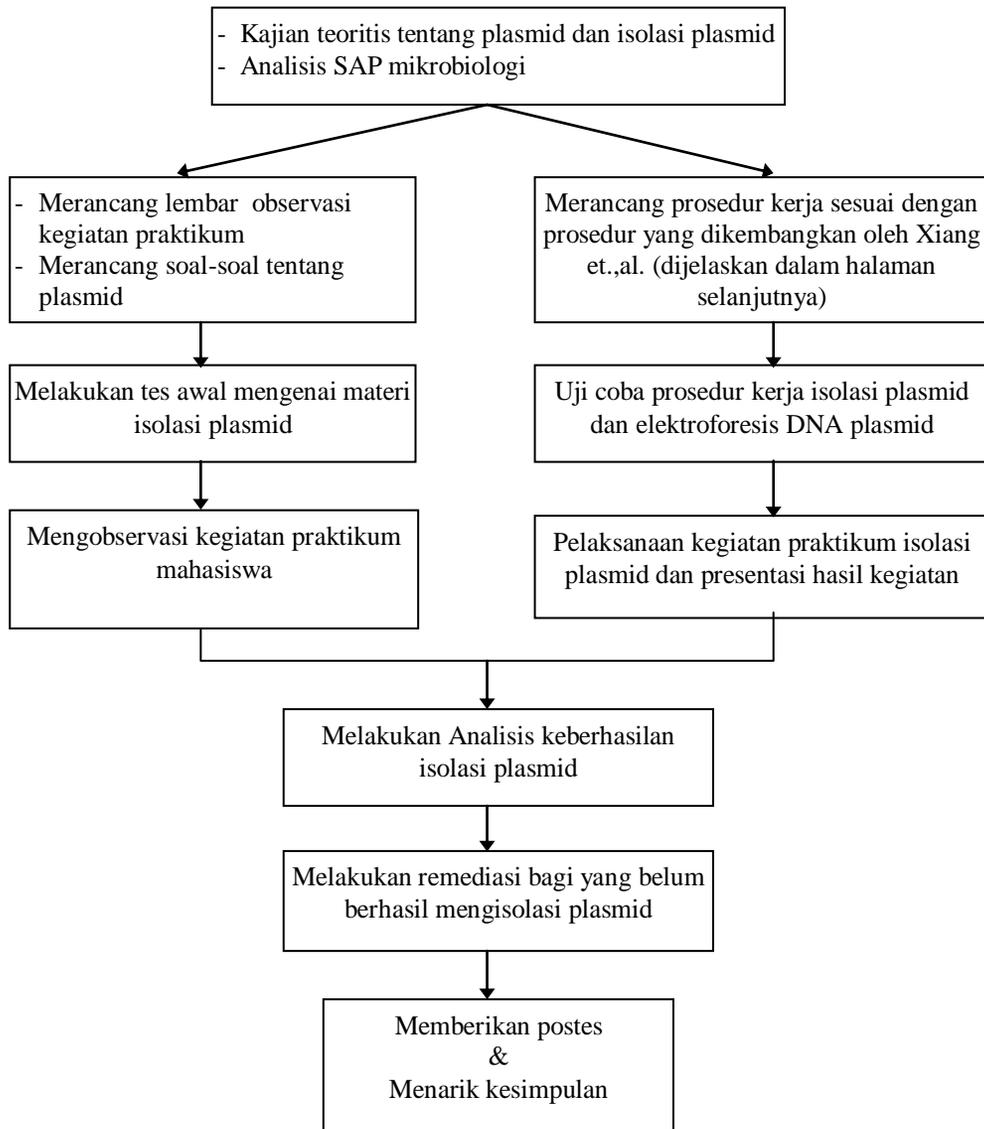
Konsep tentang plasmid dan teknologi rekayasa genetika juga mulai diperkenalkan dalam jenjang pendidikan SMU, terutama dalam konsep bioteknologi. Untuk membekali mahasiswa sebagai calon guru, maka pemahaman konsep tentang plasmid, tidak hanya cukup melalui kegiatan perkuliahan di dalam kelas, namun juga harus dilatihkan pada mahasiswa melalui kegiatan praktikum isolasi plasmid.

Berdasarkan latar belakang yang diuraikan, maka perlu adanya suatu pengayaan dalam praktikum mikrobiologi yang menitik beratkan pada pembekalan mahasiswa pendidikan biologi untuk menguasai keterampilan di bidang biologi molekuler, yaitu isolasi plasmid.

Pembelajaran ini bertujuan untuk membekali mahasiswa pendidikan biologi keterampilan untuk mengisolasi plasmid dan keterampilan untuk menggunakan alat-alat biologi molekuler, seperti: gel elektroforesis, shaker incubator, mikrosentifuge, mikropipet, microwave dan UV transilluminator serta meningkatkan pemahaman terhadap materi genetika molekuler bakteri.

## **DESAIN PEMBELAJARAN**

Secara umum desain program pembelajaran mikrobiologi yang dikembangkan, seperti tampak pada diagram alir berikut ini:



## **PROSEDUR KERJA KEGIATAN PRAKTIKUM ISOLASI PLASMID**

Satu – dua diambil koloni tunggal sel hasil transformasi yang berwarna biru dari cawan petri berisi medium LB padat (1% bacto trypton, 0,5% bacto yeast ekstrak, 1% NaCl + 1.5% bacto agar) + ampicilin dan IPTG/X-gal dengan menggunakan tusuk gigi steril dan dimasukkan ke dalam tabung 250 ml yang berisi medium TB (Terrific Broth: 1,2% bacto tryptone, 2,4% yeast ekstrak, 0,4% gliserol, 0,17 M  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , 0,72 M  $\text{K}_2\text{HPO}_4$ ) cair yang mengandung 100  $\mu\text{g}$  /ml ampicilin. Tabung kemudian diinkubasi semalam pada suhu 37°C pada kecepatan 250 rpm. (tahapan di atas dilakukan oleh dosen mata kuliah yang bersangkutan sehari sebelum praktikum dimulai). Kultur sel kemudian dimasukkan ke dalam tabung mikrosentrifuga sebanyak 1,5 ml dan disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama 20 detik. Supernatan dibuang, kemudian endapan bakteri ditambah dengan 100  $\mu\text{l}$  GTE (50 mM glukosa, 25 mM tris-HCl pH 8, 10 mM EDTA pH 8). Setelah itu endapan bakteri tersebut dihomogenkan dengan alat vorteks. Setelah homogen suspensi bakteri tersebut kemudian ditambah dengan “buffer” lisis sebanyak 200  $\mu\text{l}$  (0,2 M NaOH, 1% SDS), tabung kemudian dibolak-balik (buffer lisis dibuat dari stok 10 M NaOH steril dan 5% SDS, dicampurkan pada saat akan digunakan). Selanjutnya ditambahkan 150  $\mu\text{l}$  5 M potasium asetat pada suspensi bakteri kemudian dibolak-balik hingga homogen, dan disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama satu menit. Endapan yang diperoleh kemudian dibuang dengan menggunakan tusuk gigi steril dengan dicukil. Selanjutnya ditambahkan dua kali volume 100% etanol dingin (-20°C) ke dalam supernatan, setelah itu tabung disentrifugasi pada kecepatan 13.000 rpm selama satu menit. Supernatan dibuang, dan tabung dibalik dan diletakkan di atas kertas tisu. Sampel disimpan di inkubator pada suhu 50°C selama 10-15 menit. Pelet yang diperoleh disuspensikan dengan menambah 200  $\mu\text{l}$  TE (10 mM Tris-Cl, 1 mM EDTA pH 8). Sampel sebanyak 5  $\mu\text{l}$  kemudian dielektroforesis pada gel agarosa 1% dalam TAE 1 x.. Hasil yang diperoleh dilihat di bawah UV lamp dan didokumentasi dengan cara dijiplak menggunakan plastik transparansi untuk dokumentasi kelompok, dan untuk dokumentasi kelas hasil difoto dengan menggunakan kamera Funaroid FP 6000.

## **IMPLEMENTASI PROGRAM PEMBELAJARAN MIKROBIOLOGI**

Pembelajaran mikrobiologi yang dikembangkan merupakan bagian yang tak terpisahkan dengan kegiatan praktikum mikrobiologi secara keseluruhan. Adapun materi praktikum yang dikembangkan adalah isolasi plasmid dan elektroforesis.

Pelaksanaan program pembelajaran telah berlangsung dengan baik. Pembelajaran dimulai dengan pelaksanaan pretes. Sebelum pelaksanaan kegiatan praktikum, dikumpulkan jurnal mahasiswa mengenai kegiatan yang akan dilaksanakan. Hal ini dilakukan untuk memperlancar kegiatan praktikum maka setiap kelompok membuat jurnal yang memuat tujuan, prinsip kerja, serta langkah-langkah kerja dalam bentuk diagram alir. Jurnal ini dikumpulkan dan diperiksa oleh tim pelaksana program.

Selanjutnya dilaksanakan kegiatan praktikum sesuai dengan langkah-langkah kerja pada pedoman praktikum. Sehubungan dengan keterbatasan peralatan, seperti mikropipet, sentrifugasi, vorteks, elektroforesis, maka strategi yang digunakan selama pelaksanaan praktikum adalah dengan cara menugaskan setiap mahasiswa melakukan kegiatan secara

bergantian, setiap mahasiswa dalam kelompok melakukan satu tahap kegiatan kemudian digantikan oleh anggota kelompoknya pada tahap berikutnya, sehingga semua anggota kelompok dapat melakukan kegiatan tersebut. Selama kegiatan berlangsung untuk setiap tahap kegiatan yang dilakukan, maka hasilnya dicatat langsung seperti terjadi perubahan kekeruhan, pembentukan supernatan, perubahan warna dan sebagainya.

Selama kegiatan berlangsung dilakukan observasi pada kinerja setiap mahasiswa sesuai dengan format yang telah dibuat. Observasi dilakukan secara langsung bagaimana mahasiswa melakukan kegiatan tahap demi tahap diobservasi dengan seksama oleh tim pelaksana pembelajaran.

### HASIL EVALUASI PEMBELAJARAN & PEMBAHASAN

Evaluasi keberhasilan program yang dititikberatkan dalam kegiatan ini adalah evaluasi berdasarkan hasil dari beberapa aspek kegiatan, yaitu :

- a. Pengamatan/observasi terhadap kinerja mahasiswa selama mengikuti kegiatan praktikum. Observasi dilakukan oleh observer yang berasal dari anggota tim pengajar praktikum mikrobiologi dengan menggunakan lembar observasi yang berisi aspek-aspek kinerja yang harus dikuasai mahasiswa dalam melakukan praktikum isolasi plasmid. Aspek-aspek kinerja mahasiswa yang diobservasi meliputi: 1) kemampuan dasar praktikum mikrobiologi 2) keterampilan menggunakan peralatan baru (khusus alat biologi molekuler), dan 3) keterampilan berkomunikasi. Kinerja mahasiswa dikategorikan berdasarkan prosentase jumlah mahasiswa yang diobservasi, yaitu sebagai berikut:

Jumlah mahasiswa	kategori
80 - 100 %	----- baik
60 - 79%	----- sedang
40 - 59 %	----- rendah

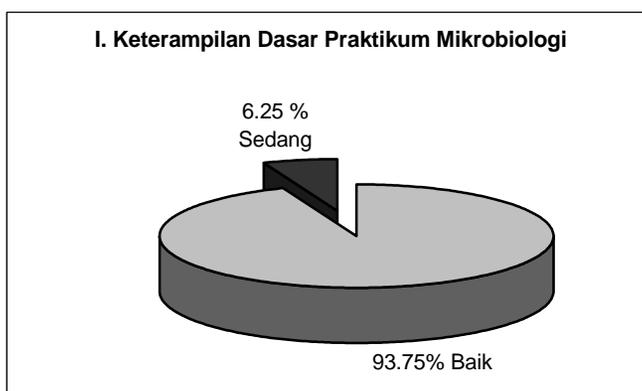
- b. Data keberhasilan mahasiswa dalam mengisolasi plasmid yang dilihat pada akhir kegiatan. Keberhasilan dalam mengisolasi plasmid ini ditunjukkan dengan adanya band plasmid dilihat di bawah sinar UV dengan menggunakan kamera UV-transiluminator. Mahasiswa menggambar hasil yang tampak pada layar UV dengan plastik transparan.
- c. Penilaian terhadap hasil pretes dan postes serta laporan yang dibuat mahasiswa.
- d. Angket penelitian meliputi aspek 1) manfaat praktikum untuk meningkatkan wawasan calon guru, 2) manfaat praktikum untuk meningkatkan ketrampilan menggunakan alat-alat laboratorium, 3) evaluasi terhadap pedoman praktikum yang digunakan, 4) evaluasi pelaksanaan pembelajaran dan 5) pendapat mahasiswa tentang tingkat kesukaran praktikum isolasi plasmid.

## **PEMBAHASAN**

### **Kinerja mahasiswa**

#### *a. Kemampuan dasar praktikum mikrobiologi*

Berdasarkan observasi yang dilakukan selama kegiatan pembelajaran, kemampuan dasar mahasiswa pendidikan biologi terutama dalam praktikum mikrobiologi menunjukkan kinerja yang baik (93,75% mahasiswa) seperti terlihat pada gambar 1. Hal ini disebabkan karena mahasiswa sudah terlatih menggunakan alat dan bahan pada kegiatan praktikum sebelumnya, sehingga dalam hal keterampilan dasar seperti menggunakan label pada tabung reaksi dengan benar, membuka penutup (sumbat kapas) dengan tepat, mengambil biakan bakteri dengan benar, bekerja secara aseptik dan sebagainya sudah menunjukkan kinerja yang baik. Namun terdapat beberapa kelompok yang belum menguasai keterampilan dasar yang harus dikuasai secara maksimal. Misalnya keterampilan membuka sumbat kapas dan mensterilkan mulut tabung reaksi belum secara maksimal dikuasai oleh siswa. Keterampilan dasar ini sangat penting dalam kegiatan praktikum mikrobiologi dan menentukan keberhasilan praktikum yang dilakukan.



**Gambar 1. Kemampuan mahasiswa dalam melakukan keterampilan dasar praktikum mikrobiologi.**

#### *b. Keterampilan menggunakan peralatan baru (khusus alat biologi molekuler),*

Hasil observasi tentang kemampuan menggunakan peralatan yang relatif baru bagi mahasiswa pendidikan biologi, terutama dengan peralatan yang berhubungan dengan biologi molekuler, seperti mikropipet, mikrosentrifuse, vorteks, kamera UV-transiluminator dan alat elektroforesis. Sebanyak 91% mahasiswa menunjukkan kemampuan yang baik. Namun ada beberapa kinerja yang masih kurang yaitu keterampilan dalam menggunakan alat vorteks., terutama di kelas A. Hal ini disebabkan karena praktikum di kelas A dilaksanakan dua hari lebih dahulu dibandingkan pelaksanaan praktikum di kelas B, sehingga dosen dapat memperbaiki agar tidak sampai terjadi kesalahan yang sama pada kelas berikutnya. Keberhasilan kinerja mahasiswa

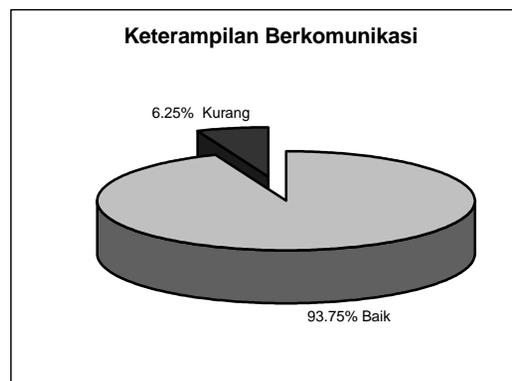
dalam menggunakan peralatan didukung oleh penjelasan yang disampaikan oleh dosen pada kegiatan awal praktikum tentang pengenalan alat laboratorium mikrobiologi.



**Gambar 2. Kemampuan mahasiswa dalam melakukan keterampilan menggunakan peralatan baru (khusus alat biologi molekuler)**

*c. Keterampilan berkomunikasi*

Kemampuan mahasiswa pendidikan biologi dalam mengkomunikasikan hasil kegiatan praktikum yang telah dilakukan cukup baik (93,75% mahasiswa). Keterampilan tersebut meliputi memperlihatkan hasil setiap langkah yang dilakukan, mencatat data setiap langkah kegiatan, membuat jurnal atau laporan sementara, membuat laporan akhir dengan benar dan mendiskusikan hasil kegiatan. Kinerja yang baik dalam mengkomunikasikan hasil kegiatan ini, disebabkan karena mahasiswa tersebut sudah terbiasa melakukan praktikum sebelumnya dengan membuat jurnal atau laporan hasil kegiatan yang telah dilakukan.



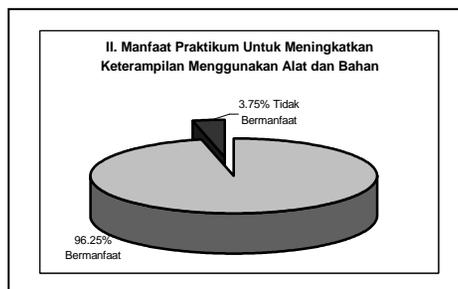
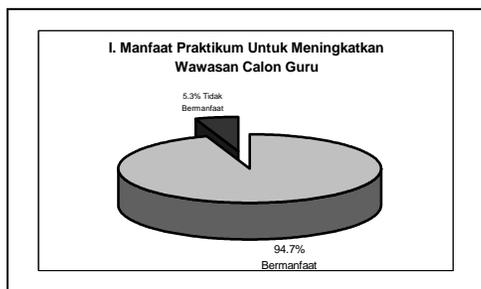
**Gambar 3. Kemampuan mahasiswa dalam melakukan keterampilan berkomunikasi**

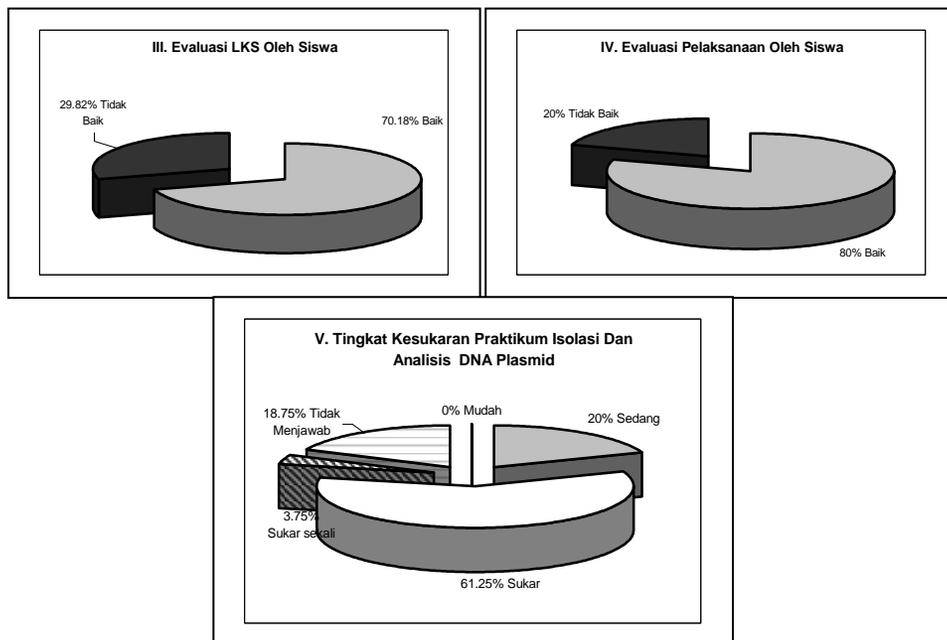
### Hasil analisis angket

Dari hasil angket yang diberikan pada mahasiswa yang meliputi aspek-aspek: 1) manfaat praktikum untuk meningkatkan wawasan calon guru, 2) manfaat praktikum untuk meningkatkan ketrampilan menggunakan alat-alat laboratorium, 3) evaluasi terhadap pedoman praktikum yang digunakan, 4) evaluasi pelaksanaan pembelajaran kegiatan praktikum isolasi plasmid, dan 5) pendapat mahasiswa tentang tingkat kesukaran praktikum isolasi plasmid. Hasil analisis angket menunjukkan bahwa kegiatan pembelajaran teurtana kegiatan praktikum isolasi plasmid telah membrikan hasil dn manfaat yang cukup berarti bagi peningkatan wawasan calon guru (94,7%), bermanfaat untuk peningkatan ketrampilan menggunakan alat-alat laboratorium, khususnya yang berhubungan dengan perlatan biologi molekuler (96,25%).

Pendapat mahasiswa terhadap pedoman praktikum (LKS) yang digunakan, dalam kategori sedang (70,18%). Hal ini kemungkinan masih sulitnya memahami istilah-istilah yang berhubungan dengan kegiatan praktikum isolasi plasmid, seperti istilah supernatan, transformasi, buffer dan sebagainya. Secara umum pelaksanaan pembelajaran kegiatan isolasi plasmid menurut mahasiswa cukup baik (80%) dan beberapa saran diajukan untuk perbaikan seperti penyempurnaan LKS yang digunakan sebaiknya lebih mudah dipahami oleh mahasiswa. Jumlah peralatan praktikum isolasi plasmid perlu ditambah, karena kendala utama dari penyelenggaraan praktikum ini adalah kurangnya sarana yang digunakan dalam praktikum dalam hal jumlah alat terutama mikropipet. Hal ini dapat difahami karena jumlah mikropipet yang tersedia hanya 1 set sehingga mahasiswa harus menunggu untuk mendapat giliran menggunakan peralatan tersebut, sehingga berdampak pada lamanya waktu yang digunakan utnuk melaksanakan kegiatan isolasi plasmid. Disamping itu mahasiswa meminta ditambahkan pendalaman materi mengenai genetika molekuler mikroba.

Dari hasil angket juga ditemukan sebanyak 61,25% mahasiswa berpendapat bahwa praktikum isolasi plasmid merupakan praktikum yang tergolong sulit. Beberapa alasan mengatakan bahwa praktikum ini belum pernah dilakukan sehingga alat dan bahan yang digunakan dalam kegiatan praktikum baru dikenal oleh mahasiswa. Alasan lain yang dikemukakan adalah perlunya pemahaman yang mendalam dari setiap tahapan kerja, serta praktikum ini berhubungan dengan materi biomolekuler yang merupakan materi yang dianggap sulit oleh mahasiswa. Namun demikian di atas 80% responden mengatakan bahwa kegiatan mengisolasi plasmid merupakan kegiatan yang penting bagi pengembangan karir di masa yang akan datang serta dapat menambah wawasan mahasiswa yang menjadi bekal mereka untuk melaksanakan pembelajaran biologi di sekolah.





**Gambar 4. Diagram hasil analisis angket mengenai pendapat mahasiswa pendidikan Biologi terhadap pembelajaran praktikum isolasi plasmid bakteri**

### Hasil belajar mahasiswa

Berdasarkan pretes dan postes yang telah dilakukan, diperoleh rata-rata nilai pretes dan postes untuk dua kelas yang berbeda sebagai berikut:

**Tabel 1. Rata-rata Hasil Pre-Test, Post-Test dan Laporan Mahasiswa**

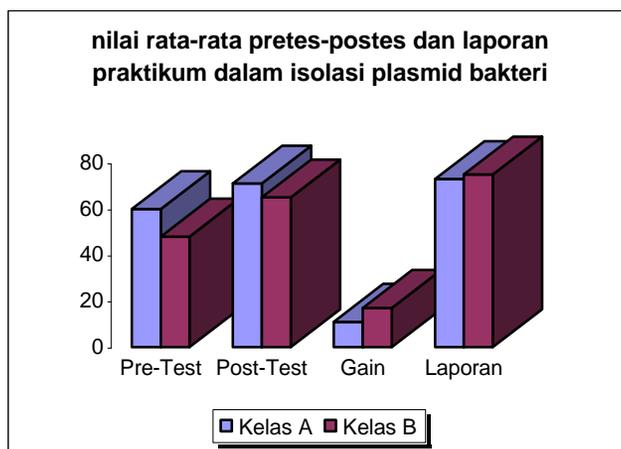
Instrumen penelitian	Kelas A	Kelas B
Pre-Test	60	48
Post-Test	71	65
Gain	11	17
Laporan	73	75

Rata-rata nilai pretes dan postes untuk kedua kelas ada perbedaan, umumnya kelas A memiliki rata-rata kelas cukup tinggi. Hal ini menunjukkan pengetahuan mahasiswa kelas A akan materi genetik bakteri sebelum pembelajaran cukup tinggi. Namun jika nilai rata-rata perolehan pembelajaran setelah dan sebelum (Gain) ternyata untuk kelas B terjadi kenaikan yang cukup berarti sebesar 35,4% dibandingkan dengan Gain kelas A (18,3%).

Jika dilihat dari skala nilai maksimum 100, ternyata rata-rata nilai postes masih dalam kategori sedang. Hal ini menggambarkan bahwa penguasaan konsep mahasiswa tentang

materi genetika molekuler bakteri masih belum optimal. Beberapa faktor yang menyebabkan belum optimalnya penguasaan konsep ini disebabkan karena materi genetika cukup sulit bagi mahasiswa dan perlu terus dikembangkan pendekatan dan metode lain untuk meningkatkan penguasaan mahasiswa tersebut. Faktor lainnya kemungkinan karena pada umumnya materi yang disampaikan cukup abstrak dan membutuhkan pemahaman yang cukup dan perlu dibantu dengan visualisasi materi subjek melalui kegiatan praktikum seperti yang di kembangkan dalam pembelajaran ini.

Nilai laporan praktikum untuk kedua kelas rata-rata sudah cukup baik (skala maksimum 80). Hal ini menunjukkan kemampuan kinerja dan analisis terhadap hasil kegiatan praktikum cukup baik. Mahasiswa umumnya telah mempelajari prosedur dan prinsip kerja yang akan dilakukan, terutama dalam mengisolasi plasmid. Hal ini dibantu dengan pedoman kerja tentang isolasi plasmid yang telah diberikan seminggu sebelum pelaksanaan praktikum. Hasil keseluruhan dari evaluasi pretes-postes dan laporan yang diperoleh dalam kegiatan pembelajaran ini dapat dilihat pada grafik berikut:



**Gambar 5 Grafik hasil belajar mahasiswa pendidikan biologi pada pembelajaran praktikum isolasi plasmid bakteri**

## **KESIMPULAN**

Berdasarkan evaluasi program dari instrumen pogram yang dikembangkan maka diperoleh beberapa kesimpulan yaitu:

- 1) Secara umum mahasiswa pendidikan biologi memiliki kemampuan dan kinerja yang baik dalam melaksanakan kegiatan praktikum mikrobiologi, terutama dalam melakukan isolasi DNA plasmid bakteri.
- 2) Program pembelajaran mikrobiologi telah memberikan kontribusi yang cukup berarti baik dalam peningkatan pengetahuan maupun dalam ketrampilan proses sains serta bekal untuk karir mahasiswa calon guru biologi di masa yang akan datang.

## DAFTAR PUSTAKA

- Dahar, Ratna Willis. *Peranan Praktikum IPA Dalam Pendidikan Guru IPA. Makalah diseminarkan dalam Lokakarya Pengembangan Kurikulum Dalam Rangka Implementasi Due-Like Program IPA di FPMIPA UPI*. 2000.
- Brock, T. & Madigan, M., *Biology of Microorganism*, Prentice Hall International Inc., USA. page 254-261. 1991
- Brown, T.A. *Gene Cloning an Introduction*. Van Nostrand Reinhold (UK). Co. Ltd. page 30-35. 1987
- Kusumawaty, Diah.. *Isolasi dan Karakterisasi Mikrosatelit pada Jati (Tectona grandis)*. Thesis Magister. ITB. Bandung. Tidak dipublikasikan. 1999
- Levin M., and Strauss, H., *Risk and Assesment in Genetic Engineering*, Mc.Graw Hill, New York. 1991.
- Macer, D., *Genetic Engineering in New Zealand: Science, Ethics and Public Policy*, Centre of Resources Management, Lincoln, New Zealand. 1991.
- Tortora, Funke and Case. *Microbiology an Introduction*. Fourth edition. The Benjamin/Cummings Publishing Company, Inc. page 220-221. 1992.
- Winarno Surahmad. *Pengantar Interaksi Belajar Mengajar*. Tarsito. Bandung. 1984.