

E-IK Transformasi DNA Untuk Praktikum Biologi Molekuler

Ria Ika Maharani (1), Dewi Mustikaningtyas (2), Danang Subarkah Hadikawuryan (3)

(1)(2) Laboratorium Biologi FMIPA UNNES
(3) Laboratorium Teknik Kimia Fakultas Teknik UNNES

ria.ika@mail.unnes.ac.id (1*), dewi_mustikaningtyas@mail.unnes.ac.id (2), danangsh@mail.unnes.ac.id (3)

ABSTRAK

Kemunculan bioteknologi molekuler dipelopori oleh rekayasa genetika, dimana meliputi manipulasi gen, kloning gen, *Deoxyribonucleic acid* (DNA) rekombinan, teknologi modifikasi genetik, dan genetika modern dengan menggunakan prosedur identifikasi, replikasi, modifikasi dan transfer materi genetik dari sel, jaringan, maupun organ. Kemajuan bioteknologi molekuler ini telah merambah disemua line kehidupan, sehingga dengan kondisi saat ini sebuah *learning by doing* sangat diperlukan sebagai bekal keterampilan. Salah satu tahap dalam rekayasa genetika ini adalah proses transformasi DNA, dimana diberikan pengetahuan dan keterampilan dalam melakukan proses transformasi DNA yang efektif dan efisien dengan tingkat keberhasilan tinggi. Kesiapan bahan dan peralatan harus mendukung dalam melakukan kegiatan rekayasa genetika, selain dari teknik praktik sesuai instruksi kerja (*IK*) yang jelas dan adaptif. Penelitian ini dirancang dengan tujuan mendapatkan *E-IK* Transformasi DNA menggunakan DH10B Competent Cells dengan metode *heat sock*. Metode penelitian berbasis *project* guna mendapatkan instruksi kerja yang dapat diaplikasikan di laboratorium Biologi FMIPA UNNES dan disajikan dalam bentuk digital berupa *E-IK* dengan model pengembangan 4-D yang memiliki empat tahap proses, yaitu *Define, Design, Development, dan Disseminate*. Tahapan akhir dilakukan uji coba hasil *E-IK* melalui uji validitas dan uji kelayakan. Hasil penelitian menghasilkan *E-IK* Transformasi DNA berbasis *project* dengan uji validasi dan uji kelayakan pada skor 79,58% dan 82,29%. Dengan perolehan skor tersebut masuk dalam kategori baik, sehingga dapat digunakan sebagai acuan dalam melakukan praktikum transformasi DNA.

Kata Kunci: Praktikum, *E-IK*, Biologi Molekuler, Transformasi DNA

ABSTRACT

The emergence of molecular biotechnology was pioneered by genetic engineering, which includes gene manipulation, gene cloning, recombinant deoxyribonucleic acid (DNA), genetic modification technology, and modern genetics using procedures for identification, replication, modification and transfer of genetic material from cells, tissues and organs. Advances in molecular biotechnology have penetrated all lines of life, so that in current conditions, learning by doing is very necessary as a means of providing skills. One of the stages in genetic engineering is the DNA transformation process, where knowledge and skills are provided in carrying out the DNA transformation process effectively and efficiently with a high success rate. The readiness of materials and equipment must support carrying out genetic engineering activities, apart from practical techniques according to work instructions (IK) that are clear and adaptive. This research was designed with the aim of obtaining E-IK DNA transformation using DH10B Competent Cells using the heat sock method. Project-based research method to obtain work instructions that can be applied in the FMIPA UNNES Biology laboratory and presented in digital form in the form of E-IK with a 4-D development model which has four process stages, namely Define, Design, Development and Disseminate. The final stage is to test the E-IK results through validity and feasibility tests. The results of the research produced project-based E-IK DNA Transformation with validation and feasibility tests with scores of 79.58% and 82.29%. The score obtained is in the good category, so it can be used as a reference in carrying out DNA transformation practicum.

Key Word: Practice, E-IK, Molecular Biology, DNA Transformasi

I. PENDAHULUAN

1. Latar Belakang

Bioteknologi sudah sangat familiar terdengar saat ini, merupakan seperangkat alat yang canggih dan fleksibel dengan potensi besar dalam memberikan kontribusi bagi peningkatan kesehatan manusia, peningkatan kualitas dan hasil produk pertanian-peternakan, peningkatan hubungan kita dengan lingkungan (Sulaiman *et al.* 2016) dan bioremediasi serta industri (Rajakaruna and Taylor, 2016). Bioteknologi ini bertumbuh seiring dengan pertumbuhan bidang-bidang yang terkait seperti biokimia, biologi molekuler, mikrobiologi, genetika, bioinformatika, nanoteknologi, ilmu farmasi dan biofisika (Manam, 2023). Selain perkembangan bidang-bidang tersebut dipicu pula oleh besarnya tuntutan dalam pencapaian target dengan proses cepat serta terobosan inovatif yang bisa menguntungkan bagi umat manusia. Bioteknologi modern yang berkembang saat ini berada di level materi genetik yang bertanggung jawab pada sifat yang dimiliki makhluk hidup yaitu DNA (Suratno, 2015), lalu dilakukan manipulasi organisme dengan menghasilkan gen baru atau mengkombinasikan gen (Sutarno, 2016). Teknik ini dinamakan rekayasa genetika dimana merupakan gabungan teknik-teknik eksperimental yang memberikan kemungkinan *scientist* mengisolasi, mengidentifikasi dan melipatgandakan suatu fragmen DNA dalam bentuk murninya (Sharma, 2021). Dengan adanya rekayasa genetika ini akan dapat memindahkan materi genetik dari sumber yang sangat beragam secara tepat dan terkontrol dalam waktu singkat. Teknologi yang digunakan adalah teknologi DNA rekombinan yaitu dengan membentuk kombinasi DNA baru dengan cara penyisipan molekul DNA kedalam suatu vektor hingga memungkinkan untuk terintegrasi dan mengalami perbanyakan di dalam suatu sel organisme lain yang berperan sebagai inang. Penelitian yang telah memanfaatkan DNA rekombinan antara lain dibidang kesehatan seperti pengobatan penyakit (Anway, 2021 dan Pandey *et al.*, 2010) menemukan trombin rekombinan digunakan sebagai lem setelah operasi bedah (Shabarni *et al.*, 2017), transformasi gen CIDR1 α -PfEMP1 dalam pembuatan vaksin malaria (Dicky dkk, 2023), kloning gen α -amilase kedalam bakteri yang bisa dikulturkan di laboratorium (Naully, 2016), transformasi gen yang berperan dalam pertahanan terhadap patogen dan predator tanaman kedelai (Isda dkk, 2012) dan kentang transgenik (Silalahi dkk, 2021) serta bidang peternakan menghasilkan hewan transgenik (Niemanna adn Kues, 2000). Unsur-unsur yang penting dalam melakukan DNA rekombinan adalah enzim restriksi, kloning vektor dan enzim ligase. Masing-masing unsur ini membutuhkan pengetahuan dan keterampilan, serta didukung dengan fasilitas yang memadahi dalam proses pengerjaannya. Keterampilan dalam melakukan kegiatan di laboratorium sangat dibutuhkan sehingga pengenalan secara langsung dalam bentuk praktikum sangat dibutuhkan saat ini. Kesiapan instrumen dalam melakukan penilaian keterampilan mampu menjadikan bahan acuan dalam berkegiatan di laboratorium biologi molekuler (Maharani dkk, 2022). Tahap kelima dilakukan identifikasi sel transforman yang mengandung DNA plasmid rekombinan. Terakhir tahap keenam adalah isolasi DNA plasmid rekombinan (Iman dkk, 2019). Kondisi saat ini kegiatan praktikum biologi molekuler baru dikenalkan mengenai isolasi DNA, *Polymerase Chain Reaction* (PCR) dan pemotongan secara enzimatis menggunakan enzim restriksi. Belum dikenalkan untuk tahap selanjutnya yaitu transformasi, identifikasi sel transforman dan isolasi DNA plasmid rekombinasi DNA, meski secara teori telah dilakukan.

2. Perumusan Masalah

Dari latarbelakang tersebut dapat dirumuskan permasalahan yaitu belum adanya instruksi kerja (IK) untuk proses transformasi DNA sebagai salah satu bagian dari rekayasa genetika pada kegiatan praktikum biologi molekuler mahasiswa biologi FMIPA UNNES.

3. Tujuan Penelitian

Tujuan yang ingin dicapai yaitu menyusun instruksi kerja (IK) dalam bentuk *E-IK* Transformasi DNA dan melakukan uji validasi dan kelayakan pada *E-IK* yang akan dibuat.

4. Manfaat Penelitian

Manfaat yang didapat dari penelitian ini adalah diperolehnya acuan kerja salah satu tambahan acara praktikum biologi molekuler dalam bentuk *E-IK* yang telah siap diaplikasikan secara baik, benar, efektif dan efisien.

II. METODE PENELITIAN

Tahap pertama dari penelitian ini adalah *project* dimana dilakukan aplikasi transformasi DNA secara langsung untuk mengetahui kesiapan laboratorium biologi dalam menyajikan praktikum ini. Pada tahap ini akan diidentifikasi kebutuhan alat dan bahan yang dibutuhkan, pemenuhannya dan aplikasi praktikum. Tahap kedua dengan pembuatan instruksi kerja dalam melakukan praktikum transformasi DNA dalam bentuk *E-IK*. Model penyusunan dan pengembangan *E-IK* yang dipakai pada penelitian ini diadaptasi dari model 4D yaitu *define, design, development, dan disseminate*. Tahapan yang ada dalam prosedur penelitian ini disesuaikan dengan langkah-langkah pengembangan 4D menurut Mulyatiningsih, 2011. Pengujian hasil dengan menggunakan uji validitas oleh tim ahli dan uji kelayakan oleh mahasiswa biologi yang telah menempuh praktikum biologi molekuler di FMIPA Universitas Negeri Semarang. Teknik pengumpulan data yang digunakan menggunakan metode:

- a. Angket: angket digunakan untuk memperoleh data respon ahli media, ahli materi, dan ahli bahasa terhadap *E-IK* yang dibuat. Angket kedua adalah angket untuk uji kelayakan yang dibagikan kepada mahasiswa.
- b. Wawancara: dilakukan kepada mahasiswa secara langsung maupun daring yang digunakan untuk mendukung data

Teknik analisis data menggunakan statistik deskriptif persentase (Suijono, 2011). Perhitungan persentase perolehan skor untuk hasil validasi dengan rumus sebagai berikut (Arikunto, 2010).

$$P = \frac{f}{N} \times 100\%$$

Keterangan :

P : angka persentase pada penilai

f : frekuensi (jumlah skor yang diperoleh)

N : Number of Cases (jumlah skor maksimal)

Persentase skor hasil penilaian validitas materi, bahasa dan media kemudian dikonversikan ke dalam kriteria yang disajikan.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada praktikum biologi molekuler prinsip dasar bioteknologi modern sudah diberikan dan dilatihkan, namun tahapan full dalam rekombinasi DNA belum semua dilatihkan. Untuk itu dilakukan penelitian dalam rangka uji coba praktek melakukan salah satu tahapan yaitu transformasi DNA dengan hasil penelitian berupa instruksi kerja tahap transformasi DNA. Uji coba langsung ini untuk mengetahui kesiapan bahan, alat dan sumber daya manusia pendukung di laboratorium biologi. Hasil penelitian berupa instruksi kerja (IK) transformasi DNA gambar 1 dibuat dalam selembar tampilan yang disajikan sesuai kriteria pembuatan instruksi kerja. Tampilan dari IK berupa alur atau urutan dari langkah-langkah yang harus dilakukan dalam rangka mendapatkan hasil yang diharapkan. Format yang ditampilkan dapat berupa teks dan atau visual.



Gambar 1. IK Transformasi DNA

IK ini merupakan deskripsi detail mencakup secara jelas kebutuhan dan cara penyelesaian tujuan akhir (Bimanualz, 20216). Konten yang harus ada dalam sebuah IK tersaji dalam tabel 1 yang menjadi syarat minimal yang harus dipenuhi oleh IK (Store ISO, 2015 dan Robert, 2020).

Tabel 1. Konten Instruksi Kerja (IK)

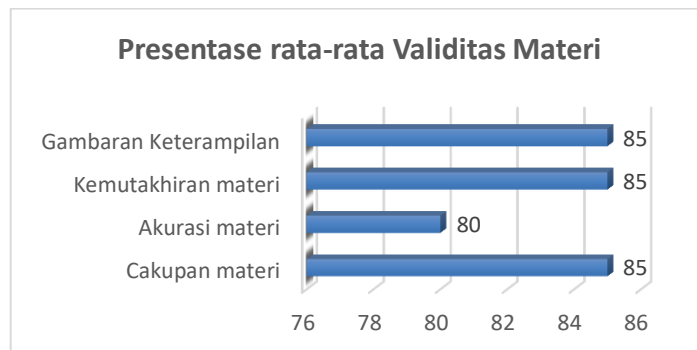
Konten	Penjelasan
Tujuan	Memberikan alasan mengapa IK dibuat
	Disajikan dengan kalimat “ Tujuan dari pembuatan IK ini untuk menyediakan instruksi terhadap proses”
	Memberi penjelasan secara spesifik dalam mendefinisikan tujuan dari pembuatan IK ini
Ruang lingkup	Mendefinisikan area atau proses dimana instruksi akan dibuat atau dilaksanakan
Dokumen terkait	Menyediakan keterangan mengenai hubungan IK dengan dokumen lain seperti contoh dokumen standar yang digunakan.
Definisi	Mendefinisikan berbagai terminology yang unik, persyaratan, dan ketentuan yang berkaitan dengan proses yang akan tertuang dalam IK yang akan dibuat.
Responsibility	Menuliskan pihak yang bertanggung jawab terhadap proses instruksi (individu atau departemen/divisi)
Alat dan Bahan yang digunakan	Daftar seluruh kebutuhan yang digunakan dalam melakukan tugas yang dituliskan dalam IK
Alat Keselamatan	Daftar seluruh kebutuhan keselamatan yang harus dipenuhi oleh pelaksana IK saat melakukan kegiatan spesifik yang tertera dalam IK
Instruksi	Daftar seluruh langkah yang harus diselesaikan dalam ruang lingkup IK yang berbentuk sebuah alur beruntun atau urutan. IK dapat dituliskan dalam bentuk teks alur dan visual (foto, flow charts, bullet, gambar)

Urutan yang digunakan sebagai acuan dalam pembuatan IK adalah melakukan dokumentasi terhadap aktivitas yang ditetapkan, mempredeksikan ilmu atau level kemampuan dari ruang lingkup yang melakukan instruksi, membuat format IK, menyusun IK, melakukan uji terhadap IK yang telah dibuat dan menyebarluaskan IK serta selalu melakukan perbaharuan sesuai kebutuhan (Global voice Quality, 2024). Publish hasil IK selain dalam bentuk cetak disajikan pula dalam link yaitu <https://bit.ly/iktransformsidna> dan barcode (gambar 2) dalam rangka mendukung digitalisasi dengan harapan mudah dijangkau, mudah diakses dan paperless. Serta dapat menjembatani jika bentuk cetaknya hilang, rusak atau basah. Format yang digunakan dalam bentuk PDF (*Portable Document Format*) karena didukung oleh hampir semua perangkat lunak platform komputer dan perangkat genggam.



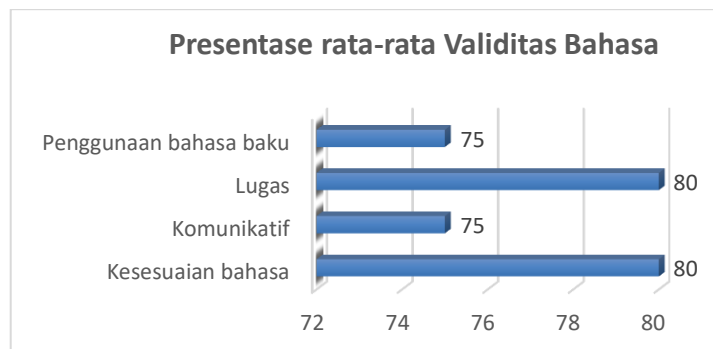
Gambar 3. Barcode IK Transformasi DNA

Dari hasil IK yang dibuat dengan konten persyaratan telah terpenuhi semua poin-poinnya, meskipun penyajian hanya dalam satu lembar halaman saja penggunaan kata dan kalimat dipilih lugas, tegas, pendek, komunikatif. Pemberian tambahan definisi supaya memberikan gambaran mengenai istilah yang kemungkinan baru bagi pengguna IK ini. Tidak hanya dalam bentuk teks diberikan sedikit selipan gambar supaya tidak terlihat monoton dalam tampilan. Untuk instruksi kerja dibuat tahap demi tahap didasarkan pada uji coba yang dilakukan di laboratorium biologi FMIPA UNNES. IK Transformasi DNA disusun dengan menggunakan metode yang sangat umum digunakan yaitu heat shock atau kejut panas. Metode ini memiliki prinsip berupa kejutan suhu tinggi selama beberapa detik yang diberikan pada sel bakteri sehingga plasmid dapat masuk ke dalam sel (Sambrook and Russel, 2001). Metode ini diklaim efektif dalam membuat plasmid masuk kedalam DNA kompeten (Siu *et al.*, 2017). Efektivitas suhu dan waktu yang digunakan untuk kejut panas pada suhu 44 °C selama 30 detik (Eunike, 2017). Pemilihan *E. coli* sebagai DNA inang karena memiliki efisiensi yang tinggi untuk berbagai strain plasmid (Liu *et al.*, 2014).



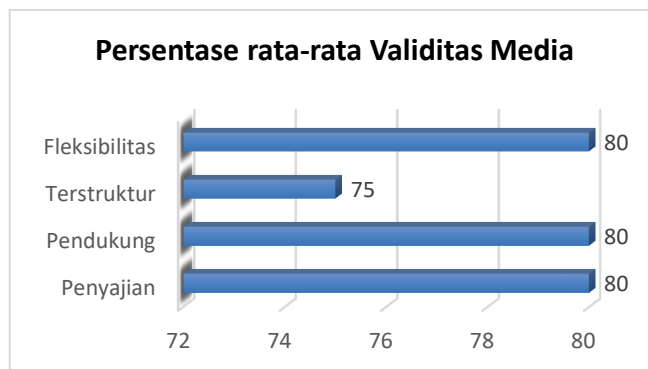
Grafik 1. Hasil uji validasi segi materi

Segi bahasa yang digunakan dalam pembuatan IK meliputi 4 hal yaitu pemilihan kata dan pembuatan kalimat sesuai dengan tujuan, komunikatif dalam penyusunan, lugas untuk mengurangi abigu kalimat dan memakai ejakan yang disempurnakan. Disajikan dalam grafik 2 mengenai penggunaan bahasa dalam IK, rerata untuk konten bahasa ada di 75% dan 80%.



Grafik 2. Hasil uji validasi segi bahasa

Media menjadi ujung tombak dari penyebaran informasi yang benar, mudah dan tepat sasaran. Pembuatan media digunakan untuk membuat hidup informasi yang disampaikan meskipun IK biasanya terkesan monoton dengan sedikit sentuhan tambahan gambar atau penempatan posisi yang *eyecatching* diharapkan mampu meningkatkan antusias dari pengguna IK. Hasil validasi media ditunjukkan pada grafik 3 dengan rata-rata pemberian skor ada di 78,75%. Prinsip-prinsip dasar dalam tipografi yang bisa diterapkan dalam pembuatan media yaitu menggunakan ukuran font yang lebih besar daripada standar seperti diukur 18-22 pt, gunakan font selain Times New Roman, Verdana, Tahoma, atau Arial.



Grafik 3. Hasil uji validasi segi media

Kelayakan IK Transformasi DNA diperoleh dari pengumpulan respon para calon pengguna atau mahasiswa biologi yang telah mendapatkan mata praktikum biologi molekuler sejumlah 40 responden. Responden diberikan IK dalam bentuk cetak dan IK dalam bentuk digital, selanjutnya diberikan kuisioner berisikan tiga komponen yaitu materi, bahasa dan media. Dari hasil uji baik validasi dan kelayakan tersebut dapat dikatakan IK Transformasi DNA memenuhi empat kriteria yang dipersyaratkan yaitu credible atau dipercaya, clear atau mudah dipahami, accessible atau mudah diakses baik cetak ataupun digitalnya serta consistent dalam penggunaan kata-katanya. Terbukti dari hasil pengujian masuk dalam kategori baik, dengan hasil perhitungan untuk uji validasi 82,08% dan uji kelayakan dari responden diperoleh angka 82,29%. Keberhasilan dalam melakukan proses transformasi DNA dengan menggunakan IK yang dibuat ini dapat menjadi referensi untuk dimasukkan dalam acara praktikum biologi molekuler.

IV. KESIMPULAN

Berdasarkan analisis penelitian yang telah dilakukan didapatkan kesimpulan:

Hasil penelitian diperoleh *E-IK* Transformasi DNA berbasis project dengan menggugulkan penyajian secara digital yang simpel, padat dan runtut. *E-IK* Transformasi DNA aplikatif dengan presentase hasil 79,58% untuk uji validasi oleh tim validator ahli serta 82,29% dari hasil uji kelayakan oleh responden mahasiswa. Kedua hasil persentase yang diperoleh masuk dalam kriteria baik sehingga produk yang dihasilkan ini bisa diaplikasikan. Kelanjutan penelitian ini dibuat IK-*IK* yang lain sehingga terkumpul *IK* lengkap untuk proses rekombinan DNA.

DAFTAR PUSTAKA

- Anway Ganguly. 2021. Recombinant DNA Technology and its Medical Applications. IJCRT Volume 9, Issue 2 February 2021 ISSN: 2320-2882 page 990-992.
- Dicky Dewantoro, Erma Sulistyarningsih, Rosita Dewi. 2023. Optimasi Transformasi Gen CIDR1 α -PfEMP1 pada Eschericia coli BL21(DE3) dengan Metode Heat-shock.

- Jurnal Sains dan Teknologi Volume 12 Number 1, Tahun 2023, pp. 95-101 P-ISSN: 2303-3142 E-ISSN: 2548-8570 .
- Eunike Priscilla Tanio. 2017. Heat-Shock Transformation Efficiency Of pTA7002-AtRKD4 Into Escherichia coli BL21 (DE3). Faculty of Biotechnology, Atma Jaya Yogyakarta University.
- Iman Permana Maksun, Sriwidodo, Shabarni, Khomaini Hassan, Toto Subroto, Soetijoso Soemitro. 2019. Teknik Biologi Molekuler. Penerbit Alqaprint Jatinangor. Bandung. ISBN 978-602-6408-21-1.
- Maharani, R.I, Mubarak, I dan Hadikawuryan, D.S. 2023. E-Booklet Teknik Pipetting Mikropipet. BEST Journal Vol.6 No.2 Hal. 506-512 ISSN (Print) : 2614 – 8064 September 2023 ISSN (Online): 2654 – 4652.
- Maharani, R.I, Mustikaningtyas, D dan Solichin. 2022. Instrumen Penilaian Keterampilan Praktik di Laboratorium Biologi Molekuler. BEST Journal Vol. 5 No.2 Hal 31-36.
- Manam, V.K. 2023. Advances in Biotechnology and Molecular Biology. Publisher: Weser Books, Germany. ISBN: 978-3-96492-471-1.
- Mulyatiningsih, E. 2011. Riset Terapan Bidang Pendidikan dan Teknik. Yogyakarta: UNY Press. pp. 67-72.
- Naully, P.G. 2016. Isolasi Dan Kloning Gen A-Amilase Dari Bakteri Termofilik Pada Escherichia coli DH5 α . Sigma-Mu Vol.8 No.1 – Maret 2016.
- Niemann, H. and W.A. Kues. 2000. Transgenic Livestock : Premises and Promises. J. Anim. Reprod. Sci. 60 : 277 -293.
- Rajakaruna S.S and Taylor-Robinson A.W. 2016. Application of recombinant DNA technology (genetically modified organisms) to the advancement of agriculture, medicine, bioremediation and biotechnology industries. Journal of Applied Biotechnology & Bioengineering Volume 1 Issue 3 – 2016.
- Shabarni Gaffar, Purba Upay, Wulan Pertiwi, Iman Permana Maksun, Khomaini Hasan, Toto Subroto, Sutarya Enus dan Soetijoso Soemitro. 2017. Ekspresi Prethrobin-2 Manusia Recombinan dalam Pishia pastoris dan Optimasi Kondisi Ekspresinya. IJPST Vol 4, Nomor 1, Februari 2017 hal 27-34.
- Sharma, N. 2021. Cell Biology, Molecular Biology and Biotechnology. ISBN No 978-93-90845-38-5. Uttarakhand Open University. Nainital.
- Silalahi, D, Wirawan, I.G.P, Sritamin, M. 2021. Transformasi Genetik Tanaman Kentang (Solanum tuberosum L.) dengan Gen acvB Menggunakan Vektor Agrobacterium tumefaciens. Journal on Agriculture Science, 11 (1): 63 – 75.
- Siu S.S. Langden, Anto Budiharjo, Wijanarka dan Wien Kusharyoto. 2017. Transformasi Dan Kloning Plasmid PJ804:77539 Pada E.coli TOP'10. Jurnal Biologi, Volume 6 No 1, Januari 2017. Hal. 65-70.
- Suliman Khan, Muhammad Wajid Ullah, Rabeea Siddique, Ghulam Nabi, Sehrish Manan, Muhammad Yousaf, and Hongwei Hou. 2016. Role of Recombinant DNA Technology to Improve Life. International Journal of Genomics Volume 2016, Article ID 2405954, 14 pages
- Sutarno. 2016. Rekaya Genetika dan Perkembangan Bioteknologi di Bidang Peternakan. Proceeding Biology Education Conference (ISSN: 2528-5742), Vol 13(1) 2016: 23-27

Accepted Date	Revised Date	Decided Date	Accepted to Publish
01 Juni 2024	08 Juni 2024	13 Juli 2024	Ya