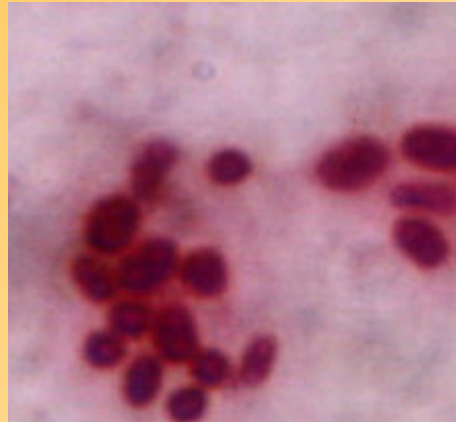
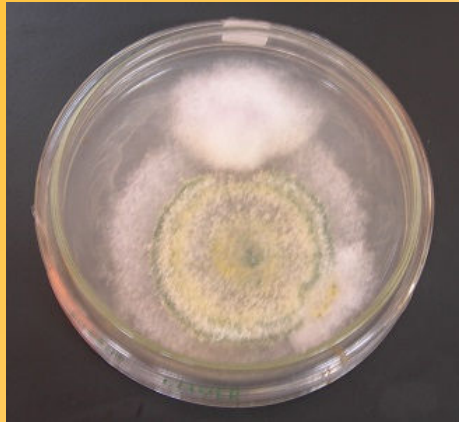


PETUNJUK PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PERTANIAN



**Oleh:
Tim Pengajar
Mikrobiologi Pertanian**



**PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS PADJADJARAN
2022**

JADWAL PRAKTIKUM
MIKROBIOLOGI PERTANIAN
SEMESTER GENAP 2021/2022

Hari : Selasa
Pukul : 15.00–17.00
Tempat : 1. Dalam jaringan (Daring): GMeet pada Google Classroom
2. Luar jaringan (Luring): Laboratorium Biologi Tanah, Departemen Ilmu Tanah dan Sumber Daya Lahan, Fakultas Pertanian, Universitas Padjadjaran

No.	Tanggal/Tempat	Kegiatan Praktikum	Capaian Setelah Melakukan Praktikum Ini Mahasiswa:
1.	08-03-2022 Daring	Mengamati morfologi bakteri dengan pengecatan Gram	Dapat membedakan bakteri Gram +/- dengan mewarnai sel bakteri melalui pengecatan Gram
2.	15-03-2022 Daring	Mengamati morfologi bakteri dengan pengecatan spora	Dapat membedakan bentuk dan letak spora di dalam sel bakteri
3.	22-03-2022 Daring	Mengamati morfologi bakteri dengan pengecatan kapsul	Dapat membedakan bentuk kapsul dan sel vegetatif bakteri
4.	29-03-2022 Daring	Mengamati morfologi jamur dan algae secara mikroskopis	Dapat membedakan bentuk sel vegetatif dan generatif pada beberapa jenis jamur dan algae secara mikroskopis
5.	12-04-2022 Daring	Evaluasi 1 (Materi 1–4)	
6.	19-04-2022 *Luring	Pengamatan morfologi bakteri, jamur, dan algae	Dapat membuat preparat bakteri, jamur, dan algae serta mengamatinya menggunakan mikroskop pada perbesaran lensa objektif yang berbeda
7.	26-04-2022 *Luring	Isolasi dan menghitung populasi bakteri, jamur, dan algae dari rizosfer, filosfer, dan spermosfer dengan media dasar bakteri, jamur, dan algae; Metode <i>plate count</i>	Dapat mengisolasi dan menghitung populasi bakteri, jamur, dan algae dari habitat yang berbeda
8.	10-05-2022 *Luring	Uji metabolisme bakteri (uji gula-gula atau karbohidrat dan protein)	Dapat menguji produksi metabolit bakteri melalui uji fermentasi karbohidrat dan protein
9.	17-05-2022 *Luring	Pengendalian mikrob secara fisika (suhu) dan kimia (antibiotik)	Dapat mempraktikkan cara pengendalian mikrob secara fisika dan kimia
10.	24-05-2022 Daring	Evaluasi 2 (Materi 6–8)	

Keterangan: *Pelaksanaan praktikum mulai tanggal 19 April 2022 direncanakan akan dilaksanakan secara luring. Namun tergantung dari kebijakan pemerintah dan Universitas Padjadjaran dalam menyikapi perkembangan Covid-19.

DAFTAR ISI

Pendahuluan	4
Praktikum I. Pengecatan Dinding Sel Bakteri dengan Metode Gram	9
Praktikum II. Pengecatan Spora Bakteri dengan Metode Klein dan Metode Wirtz	11
Praktikum III. Pengecatan Kapsul Bakteri dengan Metode Burri-Gins dan Maneval	13
Praktikum IV. Identifikasi Jamur dan Algae Berdasarkan Morfologi	15
Praktikum V. Isolasi dan Penentuan Populasi Bakteri dan Jamur dari Tanah, Rizosfer, Filosfer, dan Spermosfer	19
Praktikum VI. Identifikasi Bakteri Berdasarkan Karakteristik Fisiologis	24
Praktikum VII. Pengendalian Mikrob Kontaminan secara Fisika dan Kimia	26
Daftar Pustaka	29
Lampiran	30

PENDAHULUAN

TATA TERTIB PRAKTIKUM LURING/OFFLINE

Peraturan Umum

1. Sebelum memasuki ruang praktikum, praktikan diharuskan membaca terlebih dahulu diktat penuntun praktikum sesuai dengan materi praktikum sampai memahami apa yang akan dikerjakan.
2. Praktikan tidak boleh memasuki ruang praktikum sebelum jam praktikum.
3. Sebelum praktikum akan diadakan penjelasan singkat tentang bahan dan prosedur percobaan yang akan dilakukan dan sewaktu-waktu akan dilakukan responsi/tes mengenai percobaan-percobaan yang akan dilakukan baik lisan atau tertulis.
4. Praktikum akan dilakukan secara berkelompok dan setiap kelompok merupakan satu kelompok tetap selama masa praktikum.
5. Setelah melakukan percobaan setiap praktikan diharuskan membuat laporan mengenai hasil percobaan yang telah dilakukan. Laporan tersebut harus memuat hal-hal sebagai berikut: Nama, NPM, tanggal percobaan, percobaan ke berapa dan tentang hal apa; Prinsip percobaan; Prosedur percobaan; Hasil percobaan; dan Pembahasan terhadap hasil percobaan.
6. Kehadiran praktikum adalah 100%.
7. Hasil-hasil pekerjaan praktikum, laporan, kehadiran, responsi/tes, akan diperhitungkan di dalam menentukan nilai akhir mata kuliah Mikrobiologi Pertanian.

Peraturan Khusus

1. Mahasiswa memakai jas laboratorium selama bekerja di laboratorium.
2. Tas dan barang-barang yang tidak diperlukan dalam praktikum dilarang disimpan di meja praktikum.
3. Setiap kelompok bertanggung jawab atas penggunaan alat-alat dan zat kimia yang telah disediakan pada tempatnya serta diwajibkan selalu menjaga kebersihan dan kerapian meja praktikum.
4. Dilarang makan, minum, dan merokok di dalam laboratorium.
5. Jauhkan tangan Anda dari mulut, hidung, dan telinga selama Anda bekerja di laboratorium, dan rambut praktikan yang panjang harus diikat untuk menghindari kecelakaan dan kontaminasi.
6. Perlakukan semua organisme yang Anda tangani sebagai patogen (mampu menimbulkan penyakit). Walaupun umumnya biakan yang disediakan di laboratorium tidak berbahaya.
7. Dilarang memindahkan bahan-bahan dan alat-alat percobaan dari tempatnya.
8. Dilarang membuang sampah dan zat warna ke dalam bak cuci, sampah dibuang di tempat yang telah disediakan.
9. Pergunakanlah zat semaksimal mungkin sesuai dengan buku petunjuk praktikum. Hati-hatilah dengan zat-zat yang mudah terbakar seperti alkohol dan spirtus.
10. Api Bunsen dimatikan dengan menutupnya kembali dengan tutup Bunsen tersebut.
11. Jika kultur bakteri pecah atau tumpah, segera laporkan kepada pembimbing praktikum supaya dapat dibersihkan dengan desinfektan yang sesuai.
12. Mahasiswa yang karena kelalaiannya menyebabkan alat-alat laboratorium rusak/pecah diwajibkan untuk menggantinya paling lambat sebelum ujian praktikum diselenggarakan.

Sanksi-Sanksi

Praktikan yang dianggap melanggar peraturan-peraturan di atas akan dikenakan sanksi-sanksi yang sesuai dengan berat ringannya pelanggaran.

MIKROSKOP

Tipe dan Bagian-Bagian Mikroskop

Mikroskop adalah instrumen yang paling banyak digunakan di laboratorium mikrobiologi untuk melihat jasad renik, sehingga mikroskop erat sekali hubungannya dengan mikrobiologi, mengingat kecilnya mikroorganisme. Dengan alat ini diperoleh perbesaran sehingga memungkinkan untuk melihat organisme dan struktur yang tak tampak dengan mata telanjang. Beberapa mikroskop memungkinkan perbesaran objek dalam kisaran luas – dan seratus kali sampai ratusan ribu kali.

Secara garis besar mikroskop dibagi atas dua macam, yaitu (1) mikroskop biasa atau mikroskop cahaya (optis), dan (2) mikroskop elektron. Keduanya berbeda dalam prinsip yang mendasari perbesaran. Mikroskop cahaya yang kesemuanya menggunakan sistem lensa optis, mencakup mikroskop (1) medan terang (*bright field*), (2) medan gelap (*dark field*), (3) fluoresensi, dan (4) kontras-fase.

Mikroskop yang biasa kita gunakan tipe *bright field* dan *dark field*. *Bright field* menyinari lapangan pandangan, sedangkan objeknya sendiri gelap, sedangkan tipe *dark field* objeknya yang disinari sedangkan lapangan pandangannya gelap. Mikroskop lainnya adalah mikroskop ultraviolet, yaitu mikroskop yang menggunakan sinar ultraviolet, dan mikroskop kontras-fase yaitu mikroskop yang dilengkapi dengan diafragma dan lensa objektif khusus sehingga dapat membedakan struktur dengan jelas.

Mikroskop elektron adalah mikroskop yang menggunakan sinar elektron sebagai pengganti gelombang cahaya untuk memperoleh bayangan yang diperbesar hingga ratusan ribu kali. Mikroskop elektron biasanya digunakan untuk melihat virus, bakteriofage, struktur bakteri, molekul protein, dan lain-lain. Perbandingan berbagai tipe mikroskop dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel. 1. Perbandingan berbagai macam mikroskop.

Macam Mikroskop	Perbesaran Berguna Maksimum	Tampang Spesimen	Terapan Berguna
Medan terang	1.000–2.000	Diwarnai atau tak diwarnai; bakteri biasanya diwarnai dan menampilkan warna zat pewamanya	Untuk melihat ciri-ciri morfologi keseluruhan bakteri, khamir, kapang, algae, dan protozoa
Medan gelap	1.000–2.000	Biasanya tak diwarnai; tampak terang atau “bercahaya” dalam medan yang sedianya gelap	Untuk mikroorganisme (misalnya bakteri yang disebut spiroket) yang menunjukkan sedikit ciri morfologi yang khas dalam keadaan hidup dan dalam suspensi zat alir
Fluoresen	1.000–2.000	Cerah dan berwarna seperti zat fluoresennya	Teknik-teknik diagnostik dengan zat pewarna fluoresen membantu identifikasi mikroorganismenya

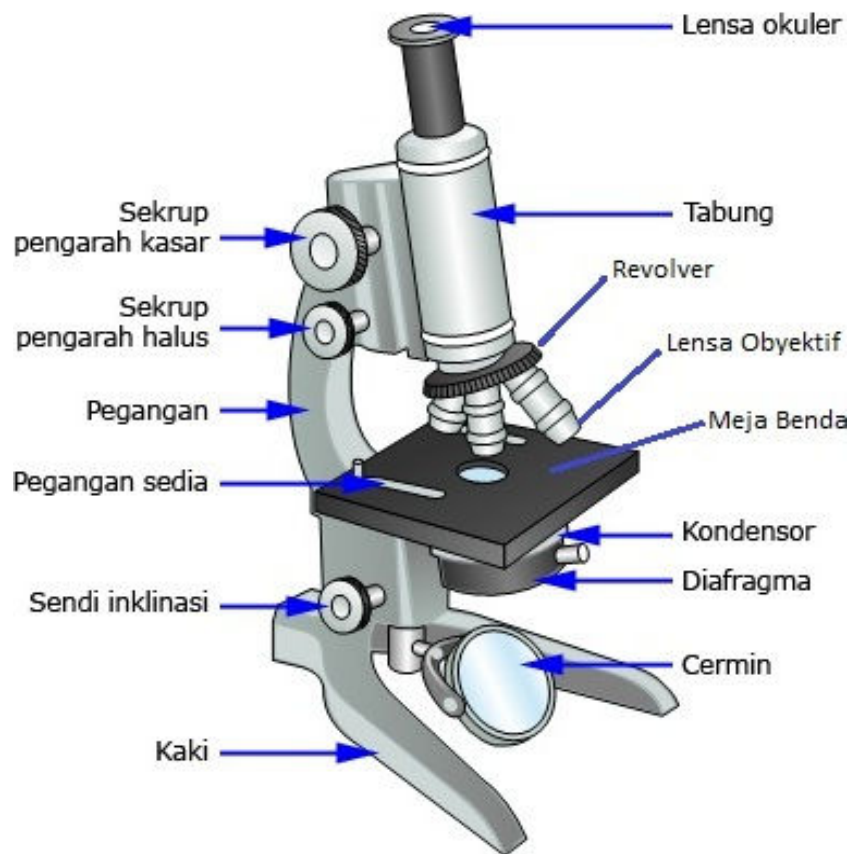
Kontras-fase	1.000–2.000	Berbagai derajat “kegelapan”	Untuk pemeriksaan struktur selular pada sel-sel hidup mikroorganisme berukuran lebih besar, misalnya khamir, algae, protozoa
Elektron	200.000–400.000	Cerah pada layar fluoresen	Pemeriksaan objek yang amat kecil – virus dan struktur ultra sel-sel mikrob

Sumber : Pelczar and Chan (1986)

Berdasarkan jumlah lensa okulernya, terdapat dua tipe mikroskop, yaitu (1) tipe monokuler, dan (2) tipe binokuler. Mikroskop yang digunakan pada praktikum adalah mikroskop medan terang tipe monokuler.

Secara garis besar mikroskop terdiri atas dua bagian yaitu :

1. Bagian mekanik, meliputi statif, tubus, revolver, meja, benda, makrometer, pengatur kondensor, dan mikrometer.
2. Bagian optik, meliputi lensa okuler, lensa objektif, kondensor, dan cermin pengatur cahaya. Gambar mikroskop beserta bagian-bagiannya dapat dilihat pada Gambar 1.



Pustekkom Depdiknas © 2009

Gambar 1. Mikroskop cahaya dan bagian-bagiannya.

Cara Menggunakan Mikroskop

1. Gunakanlah kedua tangan pada saat membawa mikroskop, satu tangan memegang leher mikroskop, dan satu lagi menahannya di bagian bawah (kaki mikroskop). Jangan hanya dipegang dengan satu tangan.
2. Sebelum menggunakan mikroskop, terlebih dahulu Anda memeriksa kelengkapan alat optik dan mekaniknya.
3. Bersihkanlah mikroskop dengan kain flanel dan apabila lensa berlemak bersihkan dengan kapas yang dibasahi xylol.
4. Carilah tempat dengan permukaan datar dan ada sumber cahaya.
5. Periksa kunci makrometernya dan apabila masih terkunci bukalah kunci tersebut dengan ditekan.
6. Aturlah cahaya yang masuk dengan cara memutar mikrometer berlawanan dengan arah jarum jam sampai mencapai maksimum, kemudian bukalah diafragma, atur cermin, dan putarlah makrometer searah dengan jarum jam sampai diperoleh cahaya yang cukup terang. Bila sumber cahaya lemah pakailah cermin cekung supaya cahaya terkumpul. Setelah mendapatkan cahaya yang cukup, letak mikroskop jangan diubah lagi.
7. Letakkanlah gelas objek (*object glass*) di atas meja preparat dengan baik sehingga preparat (*film*) tepat berada di bawah lensa objektif.
8. Pergunakan lensa objektif dengan perbesaran 45x untuk melihat jamur dan preparat hidup, misalnya untuk melihat gerak bakteri. Putarlah mikrometer sesuai dengan arah jarum jam sehingga diperoleh pandangan yang luas dan jelas.
9. Pergunakan lensa objektif perbesaran kuat 100x untuk melihat preparat yang diwarnai. Untuk keperluan ini kita harus selalu menggunakan minyak imersi (*immersion oil*) yang diteteskan langsung di atas preparat. Kegunaan minyak imersi ialah untuk mengumpulkan cahaya dan dalam hal ini tidak digunakan gelas penutup (*cover glass*).
10. Setelah preparat diletakkan di atas meja preparat, putarlah mikrometer searah dengan jarum jam sampai maksimum, kemudian putar makrometer ke arah yang sama sampai maksimum dan lensa objektif mengenai minyak imersi.
11. Putarlah kembali mikrometer pelan-pelan sambil diamati sampai didapatkan pandangan yang betul-betul jelas.

MORFOLOGI BAKTERI DENGAN PENGECATAN

Bakteri bersifat transparan dan berukuran sangat kecil sehingga tidak dapat dilihat dengan mata telanjang. Untuk mengetahui struktur, morfologi, dan sifat kimia bakteri, harus dilakukan pengecatan sel bakteri. Zat warna yang biasa dijadikan untuk mengecat bakteri adalah *methylene blue*, *basic fuchsin*, dan *crystal violet*. Zat warna ini menghasilkan ion warna (*chromophore*) yang bermuatan positif, sehingga bakteri yang bermuatan negatif menarik *chromophore* kationik.

Terdapat dua jenis zat warna yaitu zat warna basa dan asam. Zat warna basa contohnya methylene-blue ($\text{methylene}^+ - \text{cl}^-$) sedangkan zat warna asam yang mempunyai *chromophore* anionik seperti eosin ($\text{Na}^+ - \text{eosinate}^-$). Zat warna ini tidak dapat dipakai untuk mengecat bakteri. Waktu pengecatan bakteri antara 30 detik–2 menit tergantung pada afinitas zat warna.

Terdapat dua jenis pengecatan, yaitu: pengecatan tunggal atau sederhana dan pengecatan majemuk. Pengecatan tunggal ialah pengecatan yang menggunakan satu macam zat warna saja, misalnya fuchsin, crystal violet atau methylene blue sedangkan pengecatan majemuk ialah pengecatan yang menggunakan lebih dari satu macam zat warna. Pengecatan tunggal hanya bertujuan untuk melihat bentuk sel sedangkan pengecatan majemuk dapat membedakan karakteristik suatu morfologi tertentu.

Sebelum melakukan pengecatan bakteri, dibuat dahulu film dari suspensi bakteri di atas gelas objek. Tujuan pembuatan film adalah mematikan sel bakteri dengan cepat tanpa merusak morfologinya dan melekatkan sel bakteri ke permukaan gelas objek.

BEKERJA DENGAN ASEPTIK

Mikrob yang merupakan kontaminan pada media kultur jaringan atau media biakan dapat dikendalikan dengan cara sterilisasi alat dan bahan serta pengerjaan dilakukan dalam kondisi aseptik yaitu kondisi dimana populasi mikroorganisme. Kondisi yang aseptik dapat diperoleh dengan cara alat-alat yang digunakan harus steril dan lingkungan sekitarnya diusahakan bersih dengan populasi mikrob yang sangat rendah. Mikroorganisme yang ada di permukaan meja dapat dikendalikan dengan cara menyemprot dan mengusap permukaan tersebut dengan alkohol 70%. Populasi mikroorganisme di udara dapat ditekan dengan cara menyemprotnya dengan alkohol 70% atau membunuhnya dengan sinar ultra violet (UV). Untuk menghindari kontaminasi, pengerjaan dilakukan di dekat api bunsen. Selain upaya-upaya tersebut, lingkungan yang aseptik dapat pula didukung apabila pengerjaan dilakukan dalam kotak *laminar air flow*, dimana udara yang keluar di dalam kotak tersebut adalah udara yang disaring dan dimatikan mikroorganismenya.

Cara mematikan mikrob pada bahan dan alat dapat dilakukan dengan cara sterilisasi. Sterilisasi dapat dilakukan dengan berbagai cara tergantung dari jenis bahan yang digunakan. Alat-alat yang dibuat dari gelas serta bahan termasuk media, dapat disterilisasi dengan menggunakan *autoclave* yaitu pada suhu 121 °C dan tekanan 1 atm selama 20–30 menit. Untuk media tertentu, sterilisasi dapat dilakukan selama 15 menit. Sterilisasi untuk bahan-bahan dari logam, baja, besi dan bahan-bahan yang tahan untuk dibakar, misalnya jarum ose dapat dilakukan dengan cara membakarnya pada api sampai membara.

PRAKTIKUM I

PENGECATAN DINDING SEL BAKTERI DENGAN METODE GRAM

Tujuan :

Praktikum ini bertujuan untuk membedakan bakteri yang bersifat Gram positif dan Gram negatif.

Link Logbook Tugas dan Video :

<http://labbiotan.faperta.unpad.ac.id/mikrobiologi-pertanian/video-praktikum-mikrobiologi/>

Teori :

Christian Gram (1884) menemukan prosedur pengecatan Gram. Pengecatan ini merupakan salah satu prosedur yang amat penting dan paling banyak digunakan dalam klasifikasi bakteri. Dengan metode ini, bakteri dapat dipisahkan secara umum menjadi dua kelompok besar yaitu: (1) organisme yang dapat menahan kompleks pewarna primer gentian violet sampai pada akhir prosedur (sel-sel tampak biru gelap atau ungu), disebut Gram positif; dan (2) organisme yang kehilangan kompleks warna ungu kristal pada waktu pembilasan dengan alkohol (sehingga bila diperiksa ternyata kosong) namun kemudian terwarnai oleh pewarna tandingan, fuchsin/safranin (sel-sel tampak merah muda), disebut Gram negatif.

Diketahui bahwa komposisi dinding sel bakteri Gram positif berbeda dari bakteri Gram negatif. Dinding sel yang lebih tebal pada bakteri Gram positif menyusut oleh perlakuan alkohol karena terjadinya dehidrasi, menyebabkan pori-pori dinding sel menutup sehingga mencegah larutnya kompleks gentian violet pada langkah pemucatan. Di lain pihak, sel-sel Gram negatif mempunyai kandungan lipid yang lebih tinggi pada dinding selnya dan lipid pada umumnya larut dalam alkohol dan aseton. Larutnya lipid oleh pemucat yang digunakan dalam pewarnaan Gram diduga memperbesar pori-pori dinding sel sehingga proses pemucatan pada sel-sel Gram negatif berlangsung lebih cepat.

Contoh-contoh bakteri Gram positif antara lain *Bacillus subtilis*, *Bacillus megaterium*, dan *Staphylococcus aureus*. Bakteri Gram negatif antara lain *Azotobacter chroococcum*, *Azospirillum* sp., dan *Rhizobium* sp.

Bahan dan Alat :

1. Biakan murni *Azotobacter chroococcum* dan *B. subtilis*
2. Zat warna carbol gentian violet, fuchsin/safranin
3. Larutan lugol (I + KI + air), Alkohol 95%, minyak imersi
4. Gelas objek, Ose, Lampu spiritus, kertas saring
5. Mikroskop

Cara Kerja :

1. Buat film seperti pada praktikum I
2. Tambahkan carbol gentian violet selama 3 menit
3. Cuci dengan air dengan mengalirkan air dari botol semprot
4. Tambahkan larutan lugol selama 1 menit
5. Tambahkan 2–3 tetes alkohol biarkan 30 detik sampai tidak ada zat warna yang larut
6. Cuci dengan air, tambahkan fuchsin/safranin selama 1–2 menit
7. Cuci dengan air, keringkan dengan kertas saring
8. Amati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objek 100x

9. Catat dan gambar morfologi dan warna sel. Bakteri Gram positif akan berwarna ungu sedangkan Gram negatif berwarna merah.

Pengamatan Morfologi Sel

Pengecatan Tunggal	Pengecatan Gram
Genus/spesies bakteri:	Genus/spesies bakteri:
Genus/spesies bakteri:	Genus/spesies bakteri:

PRAKTIKUM II

PENGECATAN SPORA BAKTERI

DENGAN METODE KLEIN DAN METODE WIRTZ

Tujuan :

Praktikum ini bertujuan untuk melihat bentuk spora di dalam sel bakteri.

Link Logbook Tugas dan Video :

<http://labbiotan.faperta.unpad.ac.id/mikrobiologi-pertanian/pengecatan-spora/>

Teori :

Bakteri dapat mengubah dirinya dari bentuk vegetatif menjadi spora apabila keadaan memburuk. Pada bentuk spora ini kegiatan bakteri akan berhenti, tidak bermetabolisme ataupun bereproduksi (dorman). Dalam bentuk ini bakteri sangat resisten dan bisa tahan hidup dalam waktu lama meskipun dalam keadaan lingkungan yang kurang baik karena panas, kekurangan nutrisi, radiasi ultraviolet, atau adanya zat kimia yang toksik.

Sifat spora (endospora) yang demikian itu menyebabkan dibutuhkan perlakuan yang keras untuk mewarnainya. Hanya bila diberi perlakuan panas yang cukup, pewarna yang sesuai dapat menembus endospora. Tetapi, sekali pewarna tersebut memasuki endospora, sukar dihilangkan. Berdasarkan letak sporanya, dikenai tiga macam letak yaitu: (1) sentral, (2) subterminal, dan (3) terminal.

Bahan dan Alat :

1. Biakan murni *Bacillus subtilis* / *Pseudomonas* sp.
2. Zat kimia/warna carbol fuchsin, methylene blue malachite green, safranin
3. Asam sulfat, alkohol.
4. Tabung reaksi, gelas objek, ose
5. Penangas air, termometer
6. Mikroskop

Cara Kerja :

A. Metode Klein II

1. Buat film dari suspensi bakteri
2. Tambahkan carbol fuchsin, panaskan sampai keluar uap (80 °C selama 10 menit).
3. Celupkan ke dalam asam sulfat selama 1–2 detik.
4. Cuci dengan air, tambahkan methylene blue selama 3 menit.
5. Cuci dengan air, keringkan dengan kertas saring.
6. Amati dengan perbesaran 1.000x.
7. Catat dan gambar morfologi dan warna sel. Spora berwarna merah sedangkan bentuk vegetatif berwarna biru.

B. Metode Wirtz

1. Buat film dari suspensi bakteri.
2. Tambahkan malachite green, panaskan sampai menguap kurang lebih selama 2 menit.
3. Cuci dengan air, tambahkan safranin selama 30 detik.
4. Cuci dengan air, keringkan dengan kertas saring.
5. Amati dengan perbesaran kuat.
6. Catat dan gambar morfologi sel. Spora berwarna hijau dan badan vegetatif bakteri berwarna merah muda.

Pengamatan Morfologi Spora

Metode Klein	Metode Wirtz
Genus/spesies bakteri:	Genus/spesies bakteri:
Genus/spesies bakteri:	Genus/spesies bakteri:

PRAKTIKUM III

PENGECATAN KAPSUL BAKTERI DENGAN METODE BURRI-GINS DAN MANEVAL

Tujuan :

Praktikum ini bertujuan untuk melihat adanya kapsul di sekeliling sel bakteri.

Link Logbook Tugas dan Video :

<http://labbiotan.faperta.unpad.ac.id/mikrobiologi-pertanian/pengecatan-kapsul/>

Teori :

Pada bagian sebelah luar dari dinding sel beberapa jenis bakteri, terdapat suatu eksopolisakarida seperti endir (gum). Zat tersebut terdapat mengelilingi bakteri dan menyerupai kapsul, maka struktur demikian disebut kapsul yang melekat kuat di dinding sel.

Struktur kapsul dapat tipis atau tebal tergantung pada jenis bakteri itu sendiri dan jenis bahan makanan yang terkandung dalam media atau substrat. Kapsul merupakan eksresi dari dinding sel bakteri itu sendiri dan berfungsi untuk melindungi dirinya. Adanya kapsul pada bakteri patogen mempunyai hubungan erat dengan virulensi bakteri itu sendiri. Bakteri dengan kapsul yang tebal mempunyai virulensi lebih tinggi daripada bakteri dengan kapsul yang tipis atau dengan yang tidak berkapsul sama sekali.

Pengecatan kapsul bakteri disebut juga pengecatan negatif, karena di sini yang diwarnai adalah latar belakangnya, sedangkan objeknya sendiri (kapsul) tidak diwarnai. Pada metode Burri-Gins dipakai tinta cina untuk mewarnai latar belakangnya, sedangkan untuk mewarnai badan bakteri digunakan larutan fuchsin, sehingga badan bakteri berwarna merah dan kapsulnya tidak berwarna (transparan) pada latar belakang yang hitam. Pada metode Maneval, untuk mewarnai badan bakteri digunakan congo red, sedangkan untuk latar belakangnya digunakan cat Maneval. Badan bakteri akan berwarna merah sedangkan kapsul tidak berwarna pada latar belakang berwarna hijau.

Bahan dan Alat :

1. Biakan murni *Azotobacter chroococcum*
2. Tinta cina, cat Maneval, dan media cair
3. Zat kimia/warna larut fuchsin, congo red
4. Gelas objek, ose, kertas saring, minyak imersi
5. Lampu spiritus, mikroskop

Cara Kerja :

A. Metode Burri-Gins

1. Teteskan satu ose suspensi bakteri di bagian ujung gelas objek.
2. Teteskan 1–2 ose tinta cina di dekatnya, lalu campurkan.
3. Buat preparat hapus dengan cara mendorong ke depan menggunakan gelas objek lain.
4. Keringkan di udara.
5. Tambahkan carbol fuchsin selama 1–2 menit.
6. Keringkan dengan kertas saring.
7. Amati dengan perbesaran kuat.
8. Catat dan amati apa yang Anda lihat. Kapsul tidak berwarna sedangkan badan bakteri berwarna merah dengan latar belakang berwarna hitam.

B. Metode Maneval

1. Teteskan 5–6 ose congo red pada gelas objek.
2. Satu ose suspensi bakteri dicampurkan dengan congo red tadi. Buat Film setipis mungkin.
3. Keringkan di udara.
4. Tambahkan cat Maneval 1 menit.
5. Cuci dengan air, keringkan dengan kertas saring.
6. Amati dengan perbesaran kuat.
7. Catat dan gambar apa yang Anda lihat. Kapsul tidak berwarna sedangkan badan bakteri berwarna merah dengan latar belakang biru.

Pengamatan Morfologi Kapsul

Metode Burri-Gins	Metode Maneval

PRAKTIKUM IV

IDENTIFIKASI JAMUR DAN ALGAE BERDASARKAN MORFOLOGI

PENGENALAN STRUKTUR MIKROSKOPIS JAMUR

Tujuan :

Praktikum ini bertujuan mengamati atau melihat struktur jamur yaitu bentuk hifa dan spora jamur.

Link Logbook Tugas dan Video :

<http://labbiotan.faperta.unpad.ac.id/mikrobiologi-pertanian/jamur-dan-algae/>

Teori :

Jamur atau kapang atau cendawan adalah mikroorganisme yang sel-selnya berinti sejati (eukariotik), biasanya berbentuk benang, bercabang-cabang, tidak berkhlorofil, dinding selnya mengandung kitin, selulosa atau kedua-duanya, merupakan organisme heterotrof yang mendapatkan nutrisi dengan cara absorpsi dan bereproduksi secara seksual atau aseksual dengan spora.

Sebagian besar jamur memiliki bagian vegetatif yang disebut hifa yaitu berupa benang-benang halus, bersekat atau tidak bersekat, selnya berinti satu (monokariotik) atau berinti dua (dikariotik). Kumpulan dari benang-benang hifa disebut miselium. Jamur tertentu tidak membentuk hifa melainkan sel-sel tunggal yang terkadang membentuk untaian sehingga seperti hifa (pseudohifa), misalnya pada khamir/yeast. Ada beberapa spesies jamur yang mempunyai sifat dimorfisme yaitu dapat berbentuk sel tunggal maupun hifa.

Dalam bidang pertanian, jamur mempunyai peranan yang sangat penting, baik peranan yang menguntungkan maupun yang merugikan. Sebagian besar jamur hidup sebagai saprofit yaitu hidup di sisa-sisa tanaman yang membantu juga dalam proses dekomposisi. Jamur juga dapat dimanfaatkan manusia antara lain untuk pupuk hayati, agens bioremediasi senyawa-senyawa toksik, agens mikotoksin) yang berbahaya bagi manusia misalnya aflatoxin dsb.

Identifikasi suatu genus jamur dapat dilakukan berdasarkan bentuk koloni yang khas, atau berdasarkan karakteristik mikroskopis. Secara mikroskopis, genus jamur tertentu dapat diidentifikasi dari kekhasan dari bentuk konidia misalnya genus *Fusarium* yang mempunyai jenis konidia terdiri dari makrokonidia (bentuknya seperti bulan sabit, bersekat) dan mikrokonidia (bentuknya seperti kapsul). Selain itu, ada juga genus yang mempunyai bentuk organ yang khas misalnya *Rhizopus* yang mempunyai rhizoid (alat melekat dan penyerapan nutrisi yang berbentuk seperti akar). Untuk genus jamur yang tidak mempunyai bentuk konidia atau organ yang khas, maka identifikasi didasarkan pada karakteristik dari bentuk konidiofor (biasanya ada di ujung dari hifa atau cabang hifa) serta pelekatan atau susunan spora/konidia pada kondioforanya. Beberapa genus mungkin mempunyai bentuk konidiofor yang serupa misalnya seperti sapu (penicilliate), sehingga identifikasi lebih ditekankan pada bentuk dan susunan konidianya apakah seperti untaian, atau menggerombol.

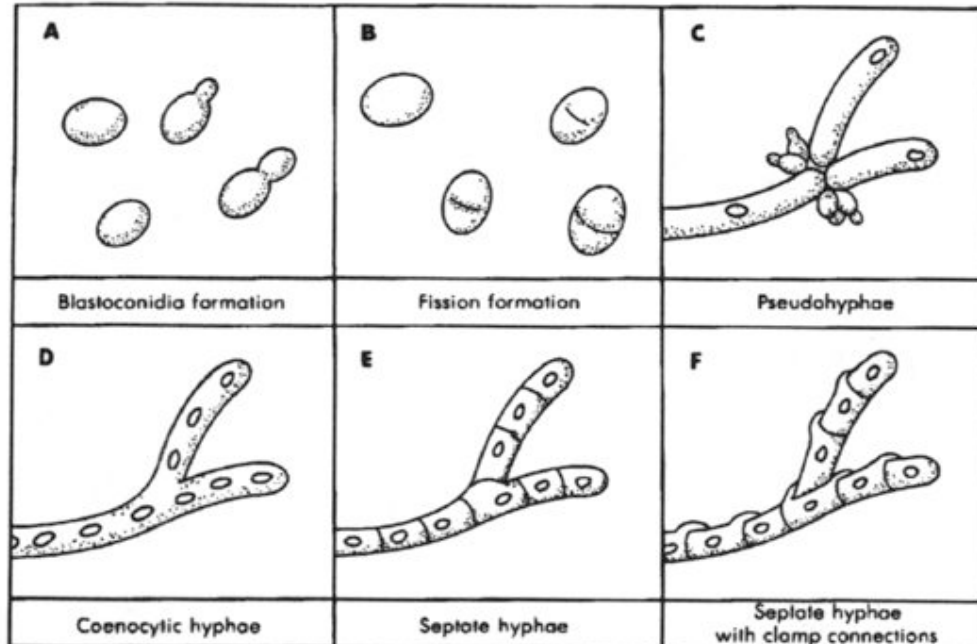
Bahan dan Alat :

1. Beberapa biakan murni jamur dan sampel potongan medium yang telah ditumbuhi jamur (pada gelas objek)
2. Jarum preparat

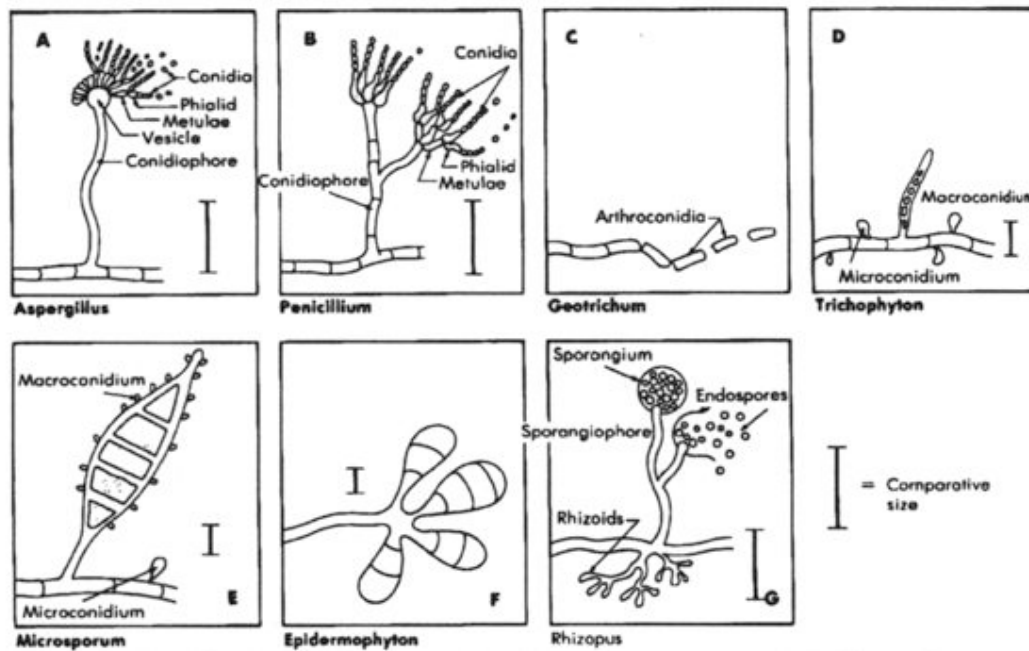
3. Gelas penutup (*cover glass*)
4. Mikroskop

Cara Kerja :

1. Untuk biakan jamur dalam *petridish* atau bahan yang telah dikolonisasi oleh jamur:
 - Dekskripsikan dan dokumentasikan bentuk koloni jamurnya.
 - Ambillah potongan kecil dari biakan murni atau sampel bahan (dengan jarum preparat yang telah disterilkan/dipanaskan dengan api Bunsen) dan letakkan pada gelas objek yang telah diberi satu tetes air.
 - Untuk melihat secara lebih detail bentuk konidiofor dan perlekatan serta susunan konidianya, maka biakan harus ditutup dengan gelas penutup. Tekanlah gelas penutup pada potongan biakan yang ada sehingga memudahkan pengamatan.
 - Atur jarak lensa objek (hati-hati jangan sampai terkena gelas penutup) agar diperoleh focus yang paling baik. Gunakan lensa objek dengan perbesaran 10 x 10. Untuk memperjelas detail dari objek maka dapat digunakan lensa dengan perbesaran 40 x 10.
2. Untuk sampel yang berupa potongan medium yang telah dikolonisasi jamur (pada gelas objek), preparat langsung diamati di bawah mikroskop, dengan perbesaran 10 x 10.
3. Pada pengamatan secara mikroskopis masing-masing sampel, gambarkan karakteristik spora/konidia, ujung konidiofor dan perlekatan antara konidia dengan konidiofor serta susunan spora/konidianya. Bandingkan yang saudara lihat dengan gambar di bawah ini.
4. Tuliskan divisi dan nama genus dari jamur yang diamati.
5. Jelaskan peranan-peranan yang mungkin dilakukan oleh jamur tersebut di bidang pertanian.



Gambar 2. Morfologi dasar sel jamur.



Gambar 3. Morfologi jamur sebagai dasar klasifikasi jamur.
(<http://www.atsu.edu/faculty/chamberlain/Website/Lects/Fungi.htm>)

Pengamatan Morfologi Jamur

Genus/spesies jamur:	Genus/spesies jamur:
Genus/spesies jamur:	Genus/spesies jamur:
Genus/spesies jamur:	Genus/spesies jamur:

PENGENALAN MORFOLOGI MIKROSKOPIS ALGAE

Tujuan Umum :

Mengidentifikasi morfologi berbagai jenis algae mikroskopis yang diisolasi dari tanah.

Link Logbook Tugas dan Video :

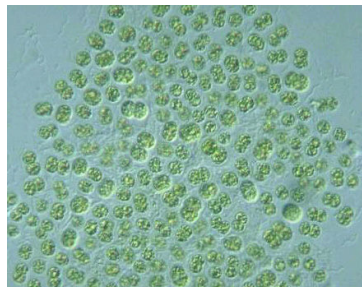
<http://labbiotan.faperta.unpad.ac.id/mikrobiologi-pertanian/jamur-dan-algae/>

Teori :

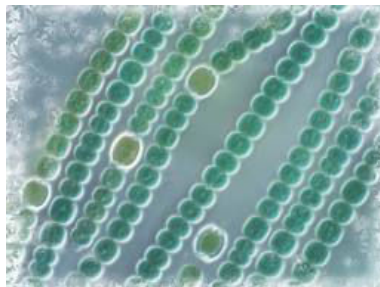
Algae hidup di berbagai lingkungan perairan, meskipun ditemukan pula di lingkungan bersalju, di permukaan tanah atau dalam bentuk asosiasi dengan organisme lain.. Populasi algae tanah terbanyak terdapat di lapisan tanah dekat permukaan tanah lembab karena di tempat itu fotosintesis dapat berlangsung. Algae dianggap penting karena berperan sebagai produsen makanan melalui fotosintesis, dan beberapa spesies dapat memfiksasi nitrogen udara. Algae dalam tanah terdapat dalam bentuk uniseluler atau filamen dan

beberapa spesies dapat berkembang biak dalam keadaan tanpa fotosintesis di tempat yang tidak kena cahaya. Ukuran algae bervariasi dari beberapa meter sampai mikroskopis.

Spesies algae yang paling sering ditemukan dan telah banyak dipelajari adalah algae hijau *Microcystis*, *Anabaena*, *Nodularia*, *Oscillatoria*; serta algae berfilamen *spirulina* dan *spirogyra* (Gambar 4).



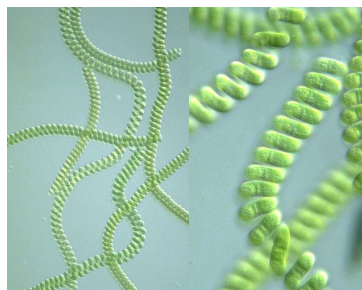
Microcystis



Anabaena



Spirogyra



Spirulina

Gambar 4. Morfologi mikroskopis algae hijau dan algae berfilamen.

Alat dan Bahan :

1. Fronds paku air *Azolla pinnata* L.
2. Gelas objek dan gelas penutup, ose
3. Mikroskop

Cara Kerja :

1. Letakan paku air di atas gelas objek.
2. Hancurkan paku air dengan ujung ose.
3. Tambahkn setetes air dan tutup dengan gelas penutup.
4. Amati morfologi algae pemfiksasi N₂ *Anabaena azollae* di bawah mikroskop dengan pembesaran 400 x.

Pengamatan Morfologi Algae

Gambarkan morfologi algae dan tuliskan spesiesnya jika mungkin.

Preparat 1	Preparat 2

PRAKTIKUM V

ISOLASI DAN PENENTUAN POPULASI BAKTERI DAN JAMUR DARI TANAH, RIZOSFER, FILOSFER DAN SPERMOSFER

Tujuan :

1. Memisahkan bakteri dan jamur yang berasal dari alam seperti udara, air, tanah, rizosfer, filosfer atau spermosfer, ataupun dari suatu suspensi yang mengandung beberapa jenis mikrob.
2. Mengisolasi suatu isolat (genus/spesies) bakteri dan jamur.
3. Mendapatkan biakan murni yaitu suatu kultur murni yang hanya terdiri atas satu jenis/isolat (genus atau spesies) bakteri dan jamur.

Link Logbook Tugas dan Video :

<http://labbiotan.faperta.unpad.ac.id/mikrobiologi-pertanian/isolasi-dan-penentuan-populasi-mikroba/>

Teori :

Tanah dan juga bagian tanaman tertentu merupakan habitat bagi mikroorganisme. Hubungan mikroorganisme dengan tanaman dapat menguntungkan maupun merugikan tanaman. Bagian tanaman yang berasosiasi spesifik dengan mikroorganisme adalah rizosfer, filosfer, dan spermosfer.

Rizosfer adalah zona kontak antara akar dan tanah yang langsung mempengaruhi metabolisme akar. Zone ini mengandung mikroorganisme lebih banyak daripada zone di luarnya karena mengandung sejumlah eksudat akar sebagai sumber nutrisi mikroorganisme. Filosfer adalah daerah permukaan tanaman yang berhubungan langsung dengan udara atmosfer; yang meliputi daun, pucuk daun, helai bunga, dan kuntum bunga. Spermosfer adalah daerah yang melingkupi permukaan biji (benih) yang sedang bergerminasi.

Isolasi mikrob dapat dilakukan dengan tiga metode yaitu:

1. Metode gores (*streak plate method*)

Pada metode ini, satu ose suspensi sumber isolat digoreskan ke atas permukaan plat agar. Penggoresan dilakukan beberapa kali dalam satu plat agar dengan tujuan mendapatkan koloni terpisah. Plat agar tersebut diinkubasikan satu sampai dua hari untuk memberikan kesempatan pada mikrob membentuk koloni. Setiap satu koloni dianggap berasal dari satu sel mikrob.

Setelah masa inkubasi satu atau dua hari, plat agar akan ditumbuhi berbagai jenis koloni dengan pola pertumbuhan koloni sesuai dengan alur goresan kultur. Setelah kita beda-bedakan koloni yang tumbuh berdasarkan sifat-sifat koloninya (warna, konfigurasi/bentuk, margin/tepi dan elevasi). Dengan metode ini, koloni yang terpisah pindahkan ke media agar miring untuk dimurnikan dan memperoleh biakan murni. Metode ini tidak dapat menghitung populasi mikrob dalam suatu substrat.

2. Metode tuang (*pour method*) atau metode pengenceran plat (*dilution plate method*)

Pada metode ini media agar steril yang belum membeku (temperatur tidak lebih dari 45 °C) ke dalam cawan petri steril yang mengandung suspensi mikrob pada volume dan pengenceran tertentu. Pada suhu ini agar belum membeku dan mikrob tidak mati. Cawan petri yang berisi suspensi mikrob dan media agar digerakkan ke kiri, ke kanan dan diputar beberapa kali agar suspensi bakteri tersebar merata dalam media biakan membeku, kemudian inkubasikan selama 1–2 hari dengan *petridish* diletakkan terbalik.

Setelah inkubasi akan terlihat beberapa jenis koloni mikrob yang tumbuh menyebar. Populasi mikrob dihitung berdasarkan jumlah koloni yang terbentuk. Koloni yang terpisah dapat dimurnikan untuk memperoleh biakan murni.

Pengenceran suatu sumber isolat dilakukan untuk menurunkan konsentrasi sel mikroorganisme di dalam substrat/sumber isolat sehingga dengan metode tuang akan didapatkan koloni terpisah di atas plat agar dengan jumlah antara 30–300 per plat agar.

3. Metode replika bahan tanaman

Pada metode ini kita menempelkan bahan tanaman seperti daun, batang, atau benih ke atas plat agar selama 5 menit. Mikrob yang menempel di atas plat akan tumbuh setelah masa inkubasi 1–3 hari.

ISOLASI DAN PENENTUAN POPULASI BAKTERI DAN JAMUR TANAH DENGAN METODE TUANG

Tujuan :

Mengisolasi dan menentukan bakteri dan jamur dari rizosfer beberapa tanaman.

Teori :

Metode penghitungan ini adalah metode tidak langsung yang banyak digunakan untuk menentukan populasi mikrob di dalam tanah. Langkahnya diawali dengan pengenceran suspensi tanah, lalu menumbuhkan mikrob yang ada dalam suspensi tanah di dalam media plat agar. Jumlah koloni yang tumbuh menggambarkan jumlah mikrob yang terdapat di dalam suspensi sehingga satuan dalam penghitungan ini adalah *colony forming unit* (cfu).

Dengan metode ini diasumsikan bahwa satu koloni berasal dari satu sel mikrob. Jumlah mikrob dalam satu gram tanah contoh (cfu/g) dihitung dengan membagi jumlah koloni yang tumbuh dengan faktor pengenceran. Metode ini hanya menghitung bakteri hidup, dan tidak selamanya satu koloni berasal dari satu sel bakteri. Selain itu, tidak semua mikrob tanah dapat tumbuh pada media yang dipakai.

Bahan dan Alat :

1. Tanah rizosfer tanaman pangan/sayuran
2. Akuades steril
3. Pipet steril ukuran 1,0 dan 10 ml, tabung reaksi steril 18 ml, cawan petri steril, kuas
4. Media agar nutrisi (3 g *beef extract*, 5 g pepton, 15 g agar, 1 L akuades)
5. Media *potato dextrose agar* (PDA) (200 g kentang, 10 g dekstrosa, 15 g agar-agar, 0,2 g CaCO_3 , 0,2 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 L akuades)

Cara Kerja :

1. Koleksi tanah rizosfer dengan cara mengambil tanah yang menempel di perakaran dengan bantuan kuas. Tanah nonrizosfer diambil dari tanah di luar perakaran.
2. Suspensikan 1 g tanah ke dalam 9 ml akuades sehingga didapat suspensi tanah dengan pengenceran 10^{-1} . Kocok selama lima menit dan biarkan selama 15 detik.
3. Dengan pipet steril, ambil 1 ml suspensi tanah 10^{-1} dan pindahkan ke tabung berisi 9 ml akuades steril (10^{-2}). Kocok sampai merata.
4. Dengan cara yang sama dengan poin 2 di atas, lanjutkan pengenceran sampai 10^{-7} .
5. Dari pengenceran 10^{-6} , 10^{-7} ambil masing-masing 0,5 ml suspensi masukkan ke dalam dua cawan petri steril. Tuangkan 15 ml media agar nutrisi untuk penghitungan bakteri. Goyangkan cawan petri supaya suspensi dan media tercampur homogen.

6. Dari pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} ambil masing-masing 0,5 ml suspensi masukkan ke dalam dua cawan petri steril. Tuangkan 15 ml media PDA untuk penghitungan jamur. Goyangkan cawan petri supaya suspensi dan media tercampur homogen.
7. Inkubasikan 24 jam di dalam inkubator pada suhu 30°C .
8. Tentukan isolat bakteri/jamur yang tumbuh berdasarkan karakteristik koloni.
9. Hitung koloni bakteri/jamur di permukaan atau sedikit di bawah permukaan media. Jumlah koloni yang memenuhi syarat adalah 30–300 cfu/plat agar.
10. Jumlah bakteri/jamur per g tanah adalah:

Rata-rata koloni

Pengenceran

Contoh: Jika pada pengenceran 10^{-6} terdapat 150 koloni maka jumlah bakteri per g tanah adalah $150 : 10^{-6} = 15 \times 10^6 \text{ cfu/g}$

Pengamatan 1 - Populasi bakteri dan jamur

Mikrob	cfu/g tanah pada pengenceran				Populasi total (cfu/g)
	10^{-3}	10^{-4}	10^{-6}	10^{-7}	
Bakteri					
Jamur					

Pengamatan 2 - Lakukan karakterisasi koloni bakteri dan jamur berdasarkan karakteristik koloni pada Lampiran 1

Isolat bakteri berdasarkan karakteristik koloni	
Isolat 1	Isolat 2
Isolat 3	Isolat 4
Isolat jamur berdasarkan karakteristik koloni	
Isolat 1	Isolat 2
Isolat 3	Isolat 4

ISOLASI BAKTERI DAN JAMUR DARI TANAH DENGAN METODE GORES

Tujuan :

Mengisolasi dan memperoleh biakan murni bakteri dan jamur dari rizosfer beberapa jenis tanaman.

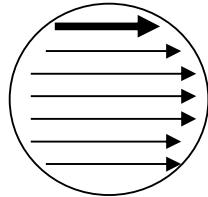
Bahan dan Alat :

1. Suspensi tanah dengan pengenceran 10^{-2}
2. Media *nutrient agar* (NA) dan *potato dextrose agar* (PDA) steril

- Ose, *petridish* steril, lampu spiritus
- Media agar miring NA dan PDA

Cara Kerja :

- Tuangkan 10 ml media NA steril yang masih panas/mencair ke dalam *petridish* steril secara aseptik. Biarkan membeku.
- Lakukan prosedur yang sama dengan media PDA.
- Ambil satu ose suspensi tanah, lalu buatlah goresan-goresan pada permukaan plat agar NA dengan cara *simple streak*. Lakukan prosedur pada poin 3 ke permukaan plat agar PDA.

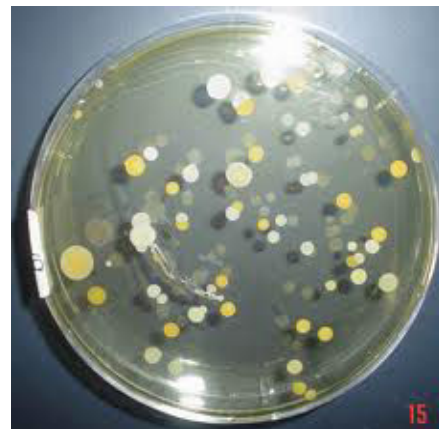


Goresan pertama dilakukan berulang-ulang sehingga volume suspensi di dalam ose berkurang banyak pada goresan selanjutnya

- Inkubasikan selama 24–48 jam sampai koloni bakteri dan jamur tumbuh. Amati koloni yang tumbuh. Setiap koloni yang terpisah adalah satu isolat. Pertumbuhan koloni akan seperti pada Gambar 5.



Metode gores



Metode tuang

Gambar 5. Pertumbuhan koloni pada isolasi cara gores dan tuang.

- Amati karakterisasi koloni bakteri dan jamur berdasarkan karakteristik koloni pada Lampiran 1.

Isolat	Karakteristik koloni bakteri
1	
2	
Isolat	Karakteristik koloni jamur
1	
2	

- Ambil koloni bebas dengan menggunakan ose, tanamkan pada agar miring NA untuk bakteri dan pada agar miring PDA untuk jamur. Penanaman dilakukan dengan membuat goresan sebanyak mungkin di permukaan agar miring.

7. Inkubasikan paling sedikit 24 jam, hasilnya adalah biakan murni bakteri dan jamur.

ISOLASI BAKTERI DAN JAMUR DARI FILOSFER DAN SPERMOSFER DENGAN METODE REPLIKA

Tujuan :

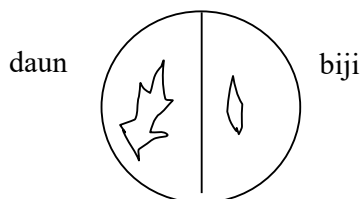
Untuk membuat atau memperoleh biakan murni bakteri dan jamur dari filosfer (daun) dan spermosfer beberapa jenis tanaman.

Bahan dan Alat :

1. Daun dan biji tanaman yang masih segar
2. Media NA dan PDA steril
3. Pinset steril, cawan petri steril, ose steril, lampu spiritus

Cara Kerja :

1. Tuangkan 10 ml media NA steril yang masih panas/cair ke dalam cawan petri steril secara aseptik. Biarkan membeku.
2. Ambil satu lembar daun atau satu potongan daun dan satu biji benih, dan letakkan berdampingan di permukaan agar.



3. Tekan permukaan daun dan biji, tutup kembali cawan petri dan biarkan selama 5 menit.
4. Angkat daun dan biji. Tutup kembali cawan petri.
5. Kultur diinkubasi selama 1–2 hari dengan posisi tutup cawan di bagian bawah.
6. Amati pertumbuhan bakteri di permukaan agar, isolat bakteri diisolasi dari koloni yang terpisah
7. Lakukan langkah 1–5 dengan menggunakan media PDA untuk isolasi jamur.
8. Pengamatan:
 - Gambarkan penyebaran koloni bakteri dan jamur dari filosfer dan spermosfer di atas media agar.
 - Tentukan jenis koloni yang ada berdasarkan karakteristik koloni pada Lampiran 1.

Koloni Jamur	Koloni Bakteri

PRAKTIKUM VI

IDENTIFIKASI BAKTERI BERDASARKAN KARAKTERISTIK FISILOGIS

Tujuan :

Memperlihatkan kemampuan bakteri dalam menggunakan berbagai nutrisi/substrat sebagai sumber energi.

Link Logbook Tugas dan Video :

<http://labbiotan.faperta.unpad.ac.id/mikrobiologi-pertanian/identifikasi-bakteri-karakteristik-fisiologis/>

Teori :

Setiap mikrob memiliki tipe metabolisme tertentu. Secara umum mikrob menggunakan metabolit primer yaitu karbohidrat, protein dan lemak untuk menghasilkan energi yang disimpan dalam bentuk adenosin trifosfat (ATP) melalui reaksi enzimatik. Energi kimia ini digunakan untuk melangsungkan metabolisme yang berkaitan dengan proliferasi dan memperathankan keadaan *steady state* (tunak) mikrob.

Metabolisme karbohidrat adalah metabolisme sentral berupa oksidasi glukosa yang menghasilkan piruvat. Molekul ini memasuki siklus Krebs yang menghasilkan NAD sebagai pembawa H^+ pada rantai pernafasan yang menghasilkan energi. Beberapa mikrob heterotrof melakukan metabolisme karbohidrat melalui fermentasi yang menghasilkan senyawa organik sederhana yang biasanya berupa alkohol dan asam organik seperti asam format, asetat, laktat dan suksinat. Beberapa bakteri, seperti *Bacillus* dan *Serratia* serta ragi *Sachharomyces cerevisiae* menghasilkan gas CO_2 .

Metabolisme protein adalah metabolisme senyawa nitrogen karena komponen utama protein adalah asam amino yang tersusun dari nitrogen. Oleh karena itu, protein akan didegradasi menjadi asam amino. Bakteri, ragi dan kapang memerlukan senyawa nitrogen dalam bentuk asam amino, asam nukleat dan pirimidin. Mikrob lainnya dapat menggunakan amonium atau nitrat untuk sintesis senyawa nitrogen organik terutama asam amino, purin dan pirimidin. Kemampuan pemecahan ini sangat bervariasi untuk tiap jenis mikrob. Pemecahan protein (peptonisasi) dapat melibatkan sumber protein kasein, gelatin dan Kasein adalah protein pokok pada susu yang merupakan suspensi koloidal yang menyebabkan susu terlihat putih mengkilat. Kelompok enzim yang bekerja mendegradasi protein adalah proteolitik.

UJI FERMENTASI GULA

Tujuan :

Untuk menguji apakah bakteri dapat merombak menjadi asam dan gas atau tidak

Bahan dan Alat :

1. Sederet media cair (lima tabung) yang ditambah gula (karbohidrat yang berbeda)
2. Tabung Durham diletakkan terbalik di dalam media
3. Biakan murni dan bakteri yang akan diuji
4. Ose dan lampu spiritus atau bunsen

Cara Kerja :

1. Sediakan sederet media gula-gula steril yang ditambah indikator phenol red (berwarna merah dalam suasana basa dan berwarna kuning dalam suasana asam).

2. Tanamkan bakteri yang akan diuji ke dalam lima tabung tersebut sebanyak satu ose secara aseptik.
3. Inkubasikan pada temperatur kamar 1–2 x 24 jam.
4. Amati hasilnya; Bila media berwarna orange sampai kuning berarti pH menjadi asam, artinya bahwa bakteri dapat merombak gula menjadi asam organik, tabung yang demikian diberi tanda (+). Apabila media tetap berwarna merah berarti bakteri tidak dapat merombak gula, dan diberi tanda (-). Apabila dalam tabung Durham terdapat gelembung gas, maka beri tanda (+) g sedang bila tidak ada gelembung tidak diberi tanda.
5. Susunlah tanda-tanda tersebut berurutan sehingga diperoleh susunan, misalnya: + - - +g +g untuk *Proteus vulgaris*. Reaksi gula-gula ini selalu tetap bagi setiap jenis bakteri.

Pengamatan

Tabung 1	Tabung 2	Tabung 3	Tabung 4	Tabung 5

UJI HIDROLISIS KASEIN

Tujuan :

Untuk mengetahui kemampuan bakteri menghidrolisa kasein yang menunjukkan aktivitas enzim kaseinase dalam bakteri tersebut.

Bahan dan Alat :

1. Medium agar susu skim
2. Cawan petri steril, ose
3. Biakan murni yang akan diuji

Cara Kerja :

1. Cairkan media agar susu skim, tuangkan ke dalam cawan petri steril, biarkan membeku.
2. Satu ose suspensi bakteri uji dan inokulasikan ke dalam plat agar tadi secara *streak* atau titik.
3. Inkubasikan pada suhu 37 °C selama 3–7 hari.
4. Amati dan catat yang terjadi, apabila bakteri mampu menghidrolisis kasein dalam susu tersebut, maka akan terbentuk zona bening koloni yang tumbuh.

Pengamatan

Nama Mikrob	Gambar Koloni dengan Zona Bening

PRAKTIKUM VII

PENGENDALIAN MIKROB KONTAMINAN

SECARA FISIKA DAN KIMIA

PENGENDALIAN PERTUMBUHAN MIKROB

SECARA FISIKA

Tujuan :

Praktikum ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh fisika menggunakan suhu penyimpanan yang berbeda terhadap pertumbuhan bakteri.

Teori :

Keadaan lingkungan sangat berpengaruh terhadap aktivitas mikrob. Mikrob akan tumbuh dan berkembang secara maksimal pada keadaan optimal. Apabila terdapat perubahan lingkungan, maka akan terjadi perubahan dalam morfologi dan fisiologi dari organisme tersebut. Meskipun demikian, mikrob mempunyai kemampuan untuk beradaptasi terhadap lingkungannya yang baru, sehingga mikrob tersebut akan bertahan hidup dalam beberapa jenis keadaan.

Faktor-faktor lingkungan, terutama faktor fisika, sangat besar pengaruhnya terhadap kehidupan mikrob. Faktor fisika yang mempengaruhi kehidupan mikrob dapat kita ringkas sebagai berikut.

1. Kelembapan; Sel bakteri mengandung 83% air, semua aktivitas bakteri tergantung dari kelembapan, misalnya bila makanannya tidak larut dalam air maka makanan itu tidak dapat masuk dalam sel hingga bakteri tersebut dapat mati. Hal ini penting terutama untuk sel-sel vegetatif.
2. Tekanan Osmotik; Apabila sel bakteri dikelilingi oleh larutan garam yang tinggi, maka bakteri mengalami dehidrasi sehingga akan dapat mematikan. Bakteri-bakteri pembusuk sangat sensitif terhadap keadaan ini. Pada konsentrasi NaCl 5–10% saja organisme itu akan berhenti tumbuh. Oleh karena itu penggaraman dipakai untuk mengawetkan makanan.
3. Temperatur; Sehubungan dengan temperatur ini dikenal mikroorganisme: (1) *Psychrophilic*, yaitu mikroorganisme yang tumbuh baik pada temperatur 6 °C sampai 10 °C, (2) *Mesophilic*, yaitu organisme yang tumbuh baik pada temperatur 20 °C sampai 35 °C, dan (3) *Thermophilic*, yaitu organisme yang tumbuh optimum pada temperatur 50 °C sampai 60 °C. Umumnya bakteri pembusuk berhenti tumbuh pada temperatur rendah. Mereka tidak memperbanyak diri tetapi juga tidak mati. Cara ini dipakai sebagai salah satu cara pengawetan makanan. Temperatur tinggi sangat merusak mikroorganisme. Isi sel bakteri pada temperatur tinggi akan menyebabkan semua enzim menjadi tidak aktif. Pada temperatur 80 °C sampai 100 °C semua organisme dalam bentuk vegetatif akan mati.
4. Cahaya; Sinar matahari langsung dan sinar-sinar lainnya, seperti sinar X dan sinar ultra violet, sangat mematikan mikroorganisme. Pemakaian sinar ultraviolet telah dikembangkan dalam proses pengawetan makanan.

Bahan dan Alat :

1. Yoghurt plain (sebagai biakan)
2. Susu UHT plain 250 ml
3. Botol plastik/wadah lain yang serupa untuk menyimpan yoghurt
4. Sendok
5. Panci

Cara Kerja :

1. Panaskan susu UHT dengan api kecil sambil diaduk-aduk. Jangan sampai mendidih.
2. Angkat susu kemudian dinginkan hingga hangat pada suhu ruangan.

3. Masukkan yoghurt plain (biakan), kemudian aduk menggunakan sendok yang telah disterilkan menggunakan air panas.
4. Masukkan campuran susu dan yoghurt ke dalam 3 botol plastik/kaca sama banyak kemudian tutup. Botol dan tutupnya harus sudah dibilas dengan air panas sebelum digunakan.
5. Simpan botol pertama di dalam refrigerator/kulkas (suhu 4 °C), botol ke dua disimpan pada suhu ruangan, dan botol ke tiga disimpan dengan dibalut menggunakan kain/serbet untuk menciptakan kondisi gelap dan hangat.
6. Inkubasikan selama 48 jam.
7. Amati dan catat perbedaan (rasa, bau, warna) yang terjadi pada ketiga botol tersebut.
8. Catatan: Mahasiswa dapat memodifikasi percobaan di atas selama masih menggunakan biakan mikrob terhadap produk makanan atau produk yang lain.
9. Pengamatan:

Botol ke-1 Suhu kulkas	Botol ke-2 Suhu ruangan	Botol ke-3 Suhu hangat dan kondisi gelap
Gambar dan catatan:	Gambar dan catatan:	Gambar dan catatan:

PENGENDALIAN PERTUMBUHAN MIKROB OLEH ANTIBIOTIK

Tujuan :

Praktikum ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh antibiotik terhadap pertumbuhan bakteri.

Teori :

Dalam produksi tanaman, pengendalian patogen secara konvensional menggunakan bahan kimia (pestisida sintetis). Efek negatif yang ditimbulkannya seperti resistensi dan matinya musuh alami menyebabkan pengendalian patogen tanaman beralih ke penggunaan pestisida alami.

Perlakuan terhadap penyakit dengan menggunakan bahan-bahan kimia dikenal dengan istilah *chemotherapy*, sedangkan bahan/zat kimianya disebut *chemotherapeutic agent* yang merupakan bahan kimia yang digunakan untuk membunuh atau menghambat pertumbuhan patogen (mikroorganisme yang menyebabkan penyakit). Antibiotik adalah salah satu *chemotherapeutic agent* yang merupakan produk metabolik dari suatu mikroorganisme. Setiap antibiotik mempunyai daya bunuh/hambat terhadap mikroorganisme yang berbeda-beda.

Daya bunuh antibiotik terhadap mikroorganisme yaitu dapat melalui:

1. Menghambat sintesis dinding sel
2. Merusak membran sitoplasma
3. Menghambat sintesis asam nukleat dan protein
4. Menghambat sistem enzim yang spesifik

Bahan dan Alat :

1. Biakan murni *Bacillus subtilis*
2. Antibiotika (penicilin atau streptomycin) dengan kandungan 250 mg dan 500 mg
3. *Nutrient agar* (NA)

4. Cakram kertas saring
5. *Petridish* steril dan pinset

Cara Kerja :

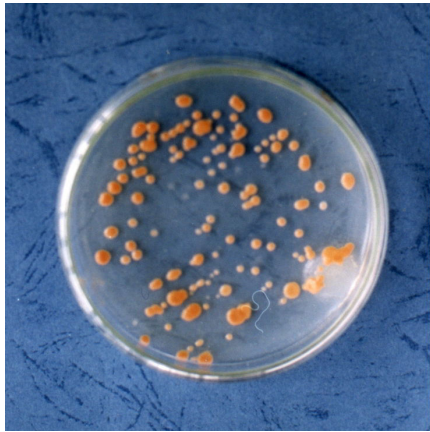
1. Larutkan antibiotika dengan akuades steril masing-masing dengan konsentrasi yang sama dalam *petridish* steril.
2. Masukkan cakram kertas saring ke dalam *petridish* yang berisi larutan antibiotika dan rendam selama 5 menit.
3. Masukkan 1 ml biakan murni bakteri ke dalam *petridish* steril secara aseptik.
4. Tambahkan NA 45 °C ke dalam *petridish* yang telah berisi biakan murni bakteri, goyang-goyangkan ke kiri dan ke kanan secara simetris, selanjutnya diamkan sampai beku.
5. Simpan cakram kertas saring yang telah direndam antibiotika di permukaan NA yang telah membeku.
6. Inkubasikan selama 48 jam pada pada temperatur 37 °C, dan
7. Amati dan catat pertumbuhan yang terjadi serta bandingkan daya hambat antibiotika 250 mg dengan 500 mg terhadap pertumbuhan bakteri. Ukur diameter koloni.
8. Pengamatan:

Diameter koloni dengan 250 mg antibiotika	Diameter koloni dengan 500 mg antibiotika	Diameter koloni pada kontrol (tanpa antibiotika)
Gambar dan catatan:	Gambar dan catatan:	Gambar dan catatan:

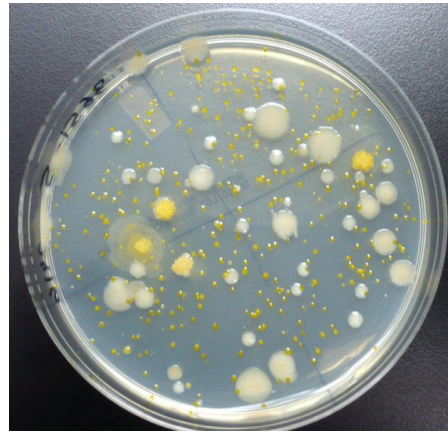
DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J., C.W. Mims, and M. Blackwell. 1996. *Introductory Mycology*. John Wiley and Sons, New York.
- Barnett, H.L. and B.B. Hunter. 1979. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. Fourth Edition. Macmillan Publishing Company, New York. 218 p.
- Carlile, M.J. and S.C. Watkinson. 1994. *The Fungi*. Academic Press, London.
- Davet, P. and F. Rouxel. 2000. *Detection and Isolation of Soil Fungi*. Science Publishers, Inc., Einfeld.
- Istifadah, N. 2007. *Bahan Ajar: Mikologi Tumbuhan*. Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan, Fakultas Pertanian Universitas Padjadjaran, Bandung.
- Istifadah, N., P. Suryatmana, dan B.N. Fitriatin. 2014. *Pengembangan Formulasi Konsorsium Mikroba untuk Pupuk Hayati dan Biopestisida pada Tanaman Cabai*. Laporan Penelitian PUPT Unpad.
- Schinner, F., R. Ohlinger, E. Kandeler, and R. Margesin. 1995. *Methods in Soil Biology*. Springer, Berlin.
- Sullivan, T. 2004. *Interactions Between Soil Microbial Communities and Plant Roots: A Minireview*. Soil and Crop Sciences, Colorado State University.
- Werner, D. 1992. *Symbiosis of Plants and Microbes*. Chapman & Hall, London.
- .

Lampiran 1. Karakteristik Koloni Bakteri.



Koloni bakteri *Azotobacter*



Koloni bakteri yang diisolasi dengan metode pengenceran plat



Koloni dari satu jenis jamur diisolasi dengan metode pengenceran plat



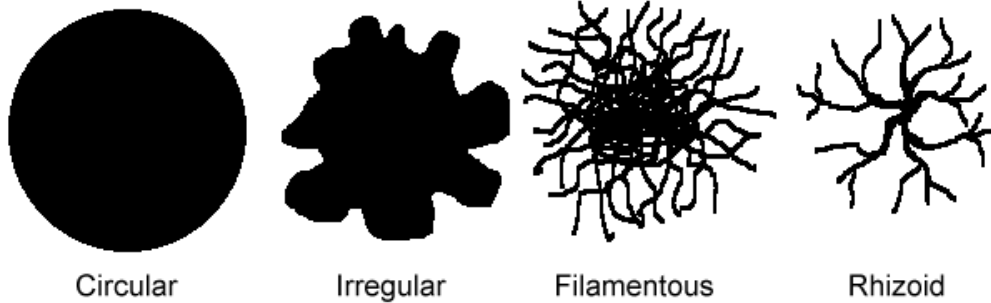
Koloni jamur yang diisolasi dengan metode pengenceran plat

Pembedaan koloni berdasarkan karakteristik koloni yang meliputi:

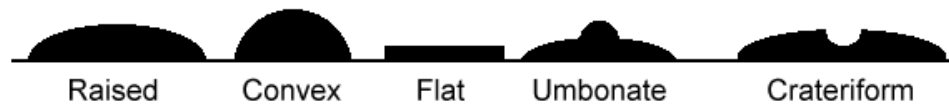
1. Bentuk koloni; Bentuk koloni bervariasi dari bulat sampai tidak beraturan atau berfilamen dan seperti berakar.
2. Ukuran koloni; Dapat bervariasi dari koloni yang besar sampai sangat kecil kurang dari 1 mm (seperti titik), diukur menggunakan penggaris (milimeter).
3. Margin/tepi koloni; Gunakan mikroskop (loop) untuk melihat margin dengan lebih baik.
4. Warna (*chromogenesis*); Warna koloni atau pigmentasi dapat putih, merah, ungu, hitam dll. Warna dapat merata di seluruh bagian koloni tetapi dapat pula hanya di tengah koloni.
5. Kegelapan (*opacity*) koloni; Koloni dapat transparan, *opaque* (tidak transparan), *translucent* (agak terang) atau *iridescent* (warna berubah karena refleksi cahaya).
6. Elevasi koloni; Ketinggian koloni.
7. Permukaan koloni; Halus, kasar, mengkilap (seperti kaca), kusam atau berkerut.
8. Konsistensi (tekstur) koloni; Lembut (seperti mentega), lengket, rapuh atau berlendir.

Lampiran 1. Karakteristik Koloni Bakteri (Lanjutan).

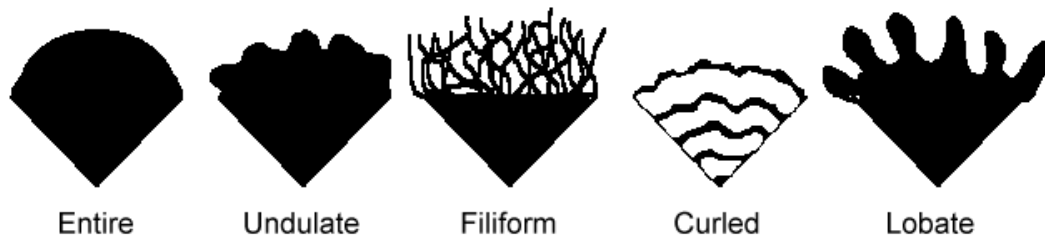
Form



Elevation



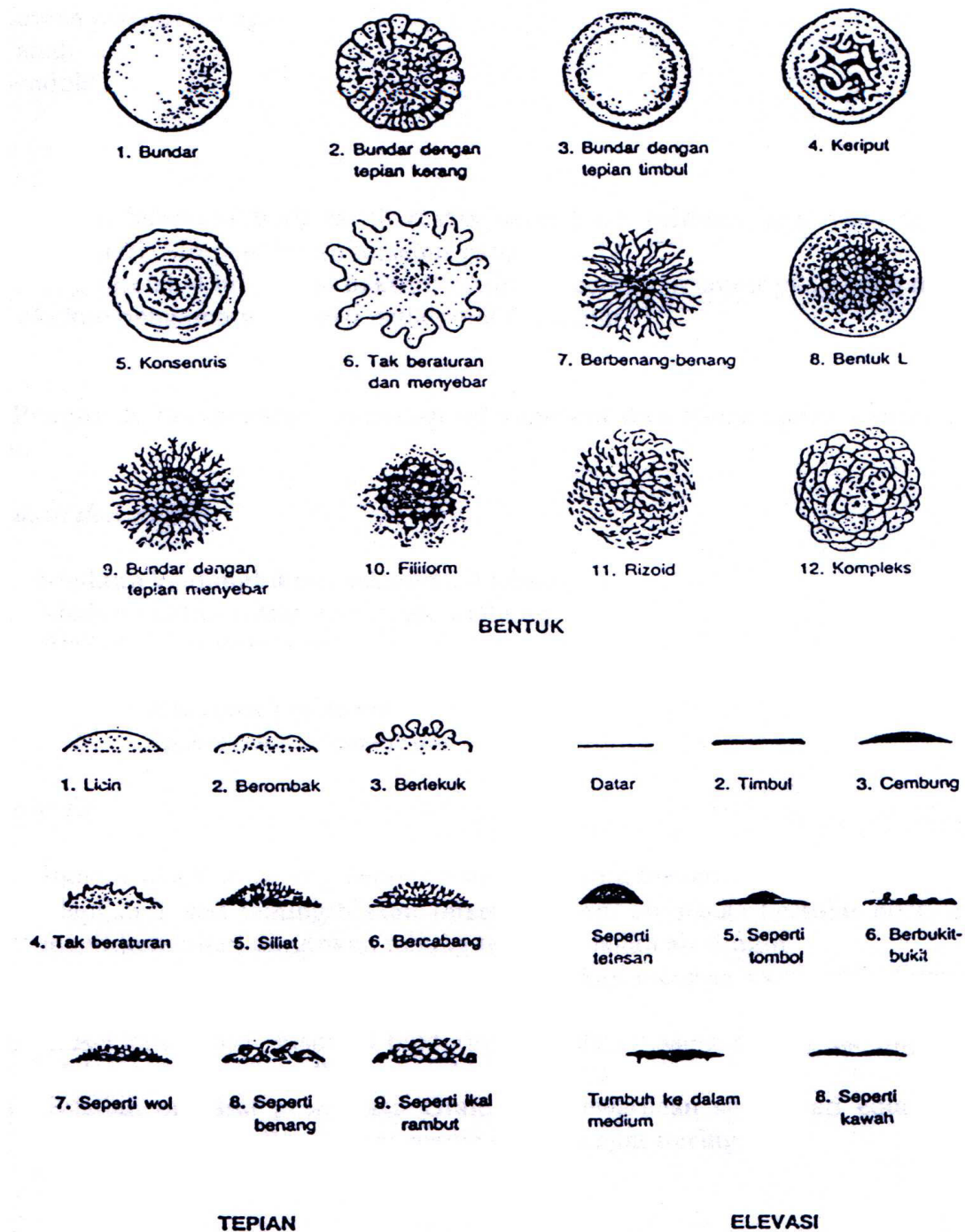
Margin



Elemen dasar untuk identifikasi koloni.

http://www.sciencebuddies.org/science-fair-projects/project_ideas/MicroBio_Interpreting_Plates.shtml

Lampiran 1. Karakteristik Koloni Bakteri (Lanjutan).



Berbagai morfologi koloni berdasarkan bentuk, tepian, dan elevasi.