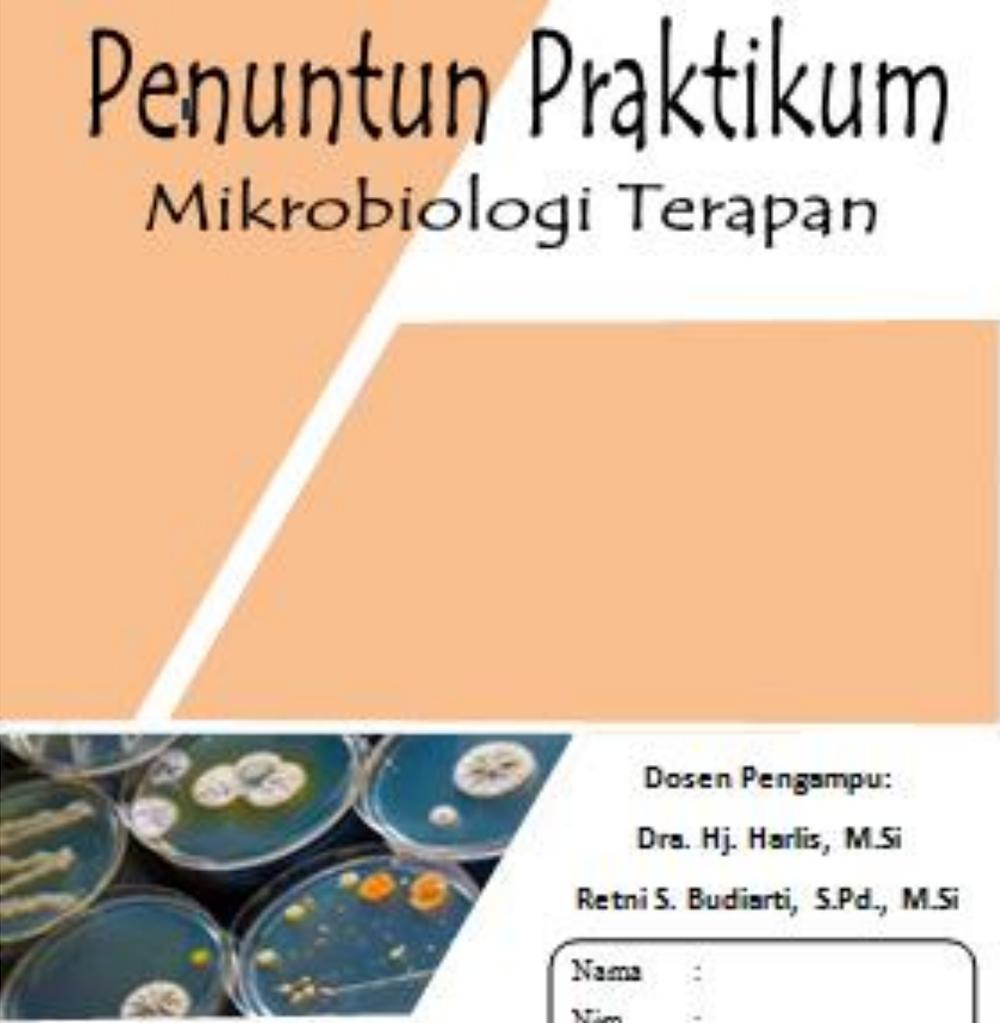


Lampiran 3. Pengayaan Praktikum Mikrobiologi Terapan

Penuntun Praktikum Mikrobiologi Terapan

Dosen Pengampu:
Dra. Hj. Harlis, M.Si
Retni S. Budiarti, S.Pd., M.Si

Nama :
Nim :

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN BIOLOGI
JURUSAN PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAUAN ALAM
FAKULTAS KEGURUAN DAN ILMU PENDIDIKAN
UNIVERSITAS JAMBI
2019

Judul: Identifikasi Bakteri Endofit pada Akar Tanaman Kaktus (Cereus Repandus Mill)

- A. Tujuan:** a. Untuk mengetahui cara mengisolasi mikroba
b. Untuk membuat preparat mikroba

B. Kajian Teoritik

Bakteri berasal dari kata “Bakterion” (bahasa Yunani) yang berarti tongkat atau batang. Sel-selnya khas : berbentuk bola, batang dan spiral. Ukuran diameter 0,5-1,0 μm panjang 1,5-2,5 μm . Bakteri hidup pada suhu 0° dan 90° . bakteri menimbulkan beberapa perubahan kimiawi pada substansi yang ditumbuhinya, mereka mampu menghancurkan banyak zat. Beberapa bakteri menimbulkan penyakit pada binatang termasuk manusia, tumbuhan dan protista lainnya. Cara hidup bakteri ada yang dapat hidup bebas, parasitik, saprofitik, patogen pada manusia, hewan, dan tumbuhan. Habitatnya tersebar luas di alam, dalam tanah, atmosfer(sampai \pm 10 km diatas bumi), didalam lumpur dan dilaut (Hartati, 2017:62).

Dalam seperempat abad belakangan ini, informasi mengenai peranan mikroba endofit di alam telah berkembang sangat pesat. Kemampuannya untuk melakukan kolonisasi pada jaringan internal tanaman menyebabkan endofit mempunyai nilai bagi perkembangan penampakan tanaman tersebut. Istilah tersebut diambil dari kata “endo” yang berarti didalam dan “phyte” yang berarti tumbuhan, yakni mikroba (jamur dan bakteri) yang hidup dalam tumbuhan baik pada daun, dahan dan batang, akar dan tidak menyebabkan kerusakan pada inangnya yang belakangan diketahui sangat bermanfaat dalam melindungi tanaman terhadap serangan hama dan patogen.

Istilah endofit pertama kali diperkenalkan oleh De Bary pada tahun 1866 untuk membedakan jamur yang berada pada jaringan tanaman inang dan jamur epifit, yaitu jamur yang hidup pada permukaan tanaman inang. Pada tahun 1980-an, istilah tersebut dikhususkan untuk mikroba yang hidup didalam jaringan tanaman inang yang infeksiya tidak menunjukkan adanya gejala dan bukan untuk jamur patogenetik dan mutualistik seperti mikoriza. Beberapa mikroba endofit mempunyai peranan penting dalam meningkatkan pertumbuhan tanaman karena kemampuannya dalam mengikat nitrogen udara, meningkatkan ketahanan terhadap patogen, menghilangkan kontaminan dan meningkatkan ketersediaan fosfat (Sastrahidayat,2014:50-51).

Menurut Purwanto, dkk (2014) dalam Zulkifli, dkk (2016:80-93) bakteri endofit dapat masuk ke jaringan tanaman umumnya melalui akar, namun bagian tanaman yang terpapar udara langsung seperti bunga, batang, daun (melalui stomata) dan kotiledon, juga dapat menjadi jalur masuk bakteri endofit. Bakteri endofit yang telah masuk kedalam tanaman dapat tumbuh hanya di satu titik tertentu atau menyebar ke seluruh tanaman, contohnya pada tanaman Kaktus.

Kaktus merupakan tanaman sekulen sehingga mampu bertahan hidup dalam kekeringan yang cukup lama dan dalam kondisi miskin air sekalipun sehingga habitat kaktus berada pada tanah yang kering. Ciri-ciri tanaman sekulen adalah mampu menyimpan air karena bagian-bagian tubuh kaktus bisa berkembang menjadi gemuk, mengembang, menebal dan berdaging sehingga terbentuk ruang penyimpanan air (Endah, 2005:3-5).

C. Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan adalah;

- tabung reaksi
- rak tabung reaksi
- objek *glass*
- cawan petri
- tabung durham
- pipet tetes
- erlenmeyer
- beker *glass*
- gelas ukur
- batang pengaduk
- jarum ose
- lampu spritus
- autoklaf
- mikroskop
- kompor listrik
- kawat kasa
- lemari pendingin
- inkes
- inkubator
- botol semprot
- kamera

b. Bahan

Bahan yang diperlukan yaitu:

- akar tanaman kaktus 1 gram
- tisu
- kertas label
- kapas
- kain kassa
- benang
- korek api
- *aluminium foil*
- spiritus
- alkohol 70%
- alkohol 95%
- *Nutrient Agar (NA)*
- *nutrient gelatin*
- *starch agar*
- *Sulfide Indol Motility (SIM)*
agar
- *simmons citrate agar*
- *Trypticase Soy Agar (TSA)*
- *MR-VP brot*
- *laktosa broth*
- Akuades
- larutan NaCl 0,85%
- larutan NaOCl 3%
- safranin
- kristalviolet
- *hidrogen peroksida 3%*
- reagen *erlich*
- reagen *barrit a* dan *barrit b*
- *methyl red*
- iodin.

D. Prosedur Kerja

1. Akar tanaman kaktus dicuci bersih dan dikeringkan selama 30menit
2. Disterilkan sebanyak 1 gram secara bertahap dengan alkohol 70% selama 30 detik, NaOCl 3% selama 2 menit, dan dengan aquades steril bertahap sampai 3 kali
3. akar dipindahkan ke dalam mortal yang sudah disterilisasi menggunakan autoclave pada suhu 121°C selama 30 menit, kemudian digerus dan ditambahkan 9 ml aquades steril
4. Sebanyak 1 ml ekstrak akar dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 9 ml larutan NaCl
5. Diambil 1 ml ekstrak dan diencerkan secara seri hingga pengenceran 10^{-4}
6. Dimasukkan seri pengenceran ke dalam masing-masing 4 cawan petri yang telah berisi media NA dengan metode *pour plate* (metode tuang)
7. Diinkubasikan selama 24-48 jam dengan suhu ruangan
8. Dibuat biakan murni sebanyak jumlah koloni berbeda yang tumbuh
9. Dilakukan pewarnaan gram bakteri yang telah didapatkan pada biakan murni dengan dibuat apusan dengan menempatkan setetes akuades diatas kaca objek lalu bakteri dipindahkan ke kaca objek tersebut dengan menggunakan ose kemudian difiksasi. Selanjutnya ditetes dengan kristal violet selama 1 menit, setelah itu dibilas dengan akuades. Selanjutnya, diberi larutan iodium dan dibiarkan selama 1 menit. Setelah 1 menit maka bilas dengan akuades, lalu pucatkan warna dengan

meneteskan alkohol 95% dengan setetes demi setetes selama 10 detik sampai aliran alkohol yang menetes hampir jernih. Kemudian, dibilas dengan akuades lalu diberi pewarna safranin selama 45 detik. Selanjutnya dibilas dengan alkohol dan diamati dengan menggunakan mikroskop

10. Dibuat media *Nutrient Agar* (NA), *Nutrient Gelatin*, *Starch Agar*, *Sulfide Indol Motility* (SIM) Agar, *Simmons Citrate Agar*, *Trypticase Soy Agar*, *MR-VP Broth*, *Laktosa Broth*

11. Dilakukan uji biokimia, yaitu:

a. Hidrolisis amilum

1. Diinokulasi bakteri dengan cara gores (*streak inoculation*) pada medium *starch* agar
2. Diinkubasikan selama 24-48 jam pada suhu ruangan
3. Dituangkan iodium pada medium dan diamkan selama 30 detik
4. Diamati perubahan yang terjadi. Jika terbentuk zona bening yang mengelilingi koloni bakteri maka reaksi positif, sedangkan jika tidak terbentuk zona bening yang mengelilingi koloni bakteri maka reaksi negatif (Cappuccino dan Sherman, 2013:151).

b. Hidrolisis Gelatin

1. Diinokulasi bakteri dengan cara ditusuk (*stab inoculation*) pada medium nutrien gelatin
2. Diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruangan
3. Dimasukkan ke dalam lemari pendingin selama 30 menit pada suhu 4°C

4. Diamati perubahan yang terjadi pada medium. Jika medium tetap berada dalam keadaan cair maka reaksi positif karena biakan menghasilkan gelatinase dan menunjukkan hidrolisis gelatin yang cepat, sedangkan jika medium dalam keadaan membeku maka reaksi negatif (Cappuccino dan Sherman, 2013:153).

c. Fermentasi Karbohidrat

1. Dimasukkan *lactose broth* pada tabung reaksi yang didalamnya telah ditempatkan tabung durham secara terbalik

2. Diinkubasi bakteri selama 24–48 jam pada suhu 37°C

3. Diamati yang terjadi didalam tabung durham serta perubahan warna medium.

Jika terdapat gelembung gas pada tabung durham dan warna menjadi keruh maka reaksi positif, sedangkan jika tidak terbentuk gelembung gas pada tabung durham maka reaksi negatif (Cappuccino dan Sherman, 2013:157-159).

d. Produksi Indol

1. Diinokulasikan bakteri pada medium *Sulfide Indol Motility* (SIM) agar dengan cara ditusuk

2. Diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruangan

3. Ditetaskan *reagen ehrlich* sebanyak 10 tetes

4. Digoyang-goyang secara perlahan serta diamati perubahan yang terjadi pada medium. Jika setelah ditambahkan *reagen erlich* terbentuk lapisan merah maka reaksi positif, sedangkan jika tidak terbentuk lapisan merah maka reaksi negatif (Cappuccino dan Sherman, 2013:168).

e. Uji Katalase

1. Digoreskan bakteri pada medium *Trypticase Soy Agar*

2. Diinkubasikan selama 24–48 jam pada suhu ruangan
3. Diteteskan *Hidrogen peroksida* 3% sebanyak 4 tetes
4. Diamati yang terjadi pada medium. Jika setelah ditetesi *Hidrogen peroksida* 3% terbentuk buih atau gelembung maka reaksi positif, sedangkan jika tidak terbentuknya buih atau gelembung maka reaksi negatif.

f. Uji Metil Merah

1. Diisolasi bakteri di medium MR-VP *Broth*
2. Diinkubasikan selama 24-48 jam pada suhu ruangan
3. Diteteskan indikator *methyl red* sebanyak 5 tetes
4. Diamati perubahan yang terjadi pada medium. Jika terbentuk warna merah maka reaksi positif, sedangkan jika tidak terbentuk warna merah atau kuning maka reaksi negatif (Cappuccino dan Sherman, 2013:168-169).

g. Uji *Voges Proskauer*

1. Diisolasikan bakteri pada medium MR-VP *Broth*
2. Diinkubasikan selama 24–48 jam pada suhu ruangan
3. Diteteskan reagen *barrit A* sebanyak 10 tetes lalu dikocok perlahan
4. Ditambahkan reagen *barrit B* sebanyak 10 tetes dan dikocok perlahan
5. Ditunggu selama 30 menit dan amati perubahan yang terjadi. Jika terbentuk lapisan warna merah pada medium maka reaksi positif, sedangkan jika tidak terbentuk lapisan warna merah pada medium maka reaksi negatif (Cappuccino dan Sherman, 2013:170).

h. Uji Pemanfaatan Sitrat

1. Digoreskan bakteri pada medium *Simmons Citrate Agar*

DAFTAR PUSTAKA

- Cappuccino, J., dan Sherman, S. 2013. *Manual Laboratorium Mikrobiologi*. Jakarta: EGC.
- Endah, J.H., dan Tim Lentera. 2002. *Mempercantik Kaktus dan Meningkatkan Nilai Jualnya*. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Hartati, T.W., dan Lestari, P.B. 2017. *Mikrobiologi Berbasis Inkuiry*. Malang: penerbit gunung samudera.
- Sastrahidayat, R. 2014. *Mikroba Bagi Kesehatan Dan Kelestarian Lingkungan*. Malang: UB Press.
- Zulkifli dkk. 2016. Isolasi Bakteri Endofit dari Sea Grass Yang Tumbuh Di Kawasan Pantai Pulau Lombok dan Potensinya Sebagai Sumber Antimikroba Terhadap Bakteri Patogen. *Jurnal Biologi Tropis* 16 (2):80-93.

