



BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

- Cheppy Wati, SP., M.Si.
- Sri Hardanti, S.Si., MP.

PUSAT PENDIDIKAN PERTANIAN

Badan Penyuluhan dan Pengembangan SDM Pertanian

KEMENTERIAN PERTANIAN

2019



BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

- Cheppy Wati, SP., M.Si
- Sri Hardanti, S.Si., MP

PUSAT PENDIDIKAN PERTANIAN

Badan Penyuluhan dan Pengembangan SDM Pertanian
KEMENTERIAN PERTANIAN

2019

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM

POLITEKNIK PEMBANGUNAN PERTANIAN

ISBN : 978-602- 6367-45-7

PENANGGUNG JAWAB

Kepala Pusat Pendidikan Pertanian

PENYUSUN

Bioteknologi Pertanian

- Cheppy Wati, SP.,M.Si
- Sri Hardanti, S.Si.,MP

TIM REDAKSI

Ketua : Dr. Ismaya Nita Rianti Parawansa, SP.,M.Si

Sekretaris : Yudi Astoni, S.TP.,M.Sc

Pusat Pendidikan Pertanian
Badan Penyuluhan dan Pengembangan Sumber Daya Manusia Pertanian,
Kantor Pusat Kementerian Pertanian
Gedung D, Lantai 5, Jl. Harsono RM, No. 3 Ragunan, Jakarta Selatan 12550
Telp./Fax : (021) 7827541, 78839234

KATA PENGANTAR

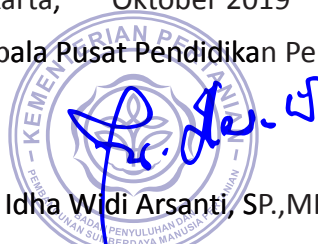
Puji dan syukur kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Kuasa yang telah memberikan rahmat dan karunia-Nya, sehingga penyusunan Buku Petunjuk Praktikum dapat diselesaikan dengan baik. Buku Petunjuk Praktikum ini memuat Pokok Bahasan, Indikator Pencapaian, Teori, Bahan dan Alat serta Prosedur Kerja yang telah melalui beberapa diskusi pembahasan termasuk dengan dunia usaha dunia industri.

Terima kasih kami sampaikan kepada tim penyusun yang telah menyusun Buku Petunjuk Praktikum ini serta semua pihak yang telah turut membantu dalam penyelesaiannya. Buku Petunjuk Praktikum ditujukan untuk memenuhi kebutuhan informasi yang diperlukan oleh para mahasiswa, dosen serta pranata laboratorium pendidikan yang akan terlibat dalam proses kegiatan praktikum. Diharapkan pelaksanaan dan penyelenggaraan praktikum dapat terlaksana lebih baik lagi serta mampu meningkatkan kualitas pembelajaran pada lingkup Pendidikan Tinggi Vokasi Pertanian.

Pada kesempatan ini kami menyampaikan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penyusunan dalam menyelesaikan Buku Petunjuk Praktikum ini. Semoga buku petunjuk praktikum ini dapat memberikan manfaat bagi mahasiswa, dosen serta pranata laboratorium pendidikan pada Pendidikan Tinggi Vokasi Pertanian lingkup Kementerian Pertanian.

Jakarta, Oktober 2019

Kepala Pusat Pendidikan Pertanian



Dr. Idha Widi Arsanti, SP.,MP

NIP. 19730114 199903 2 002

PRAKATA

Dalam usaha melengkapi Buku Petunjuk Praktikum berbahasa Indonesia untuk Ilmu-ilmu Pertanian, maka disusunlah Buku Petunjuk Praktikum Bioteknologi Pertanian ini. Adanya Buku Petunjuk Praktikum ini diharapkan dapat membantu mahasiswa dalam melaksanakan kegiatan praktikum serta sebagai pedoman untuk para dosen dan Pranata Laboratorium Lapangan (PLP) dalam pelaksanaan kegiatan praktikum. Di dalam Buku Petunjuk Praktikum ini berisi tentang acuan praktik pembuatan produk bioteknologi konvensional maupun modern.

Besar harapan kami, Buku Petunjuk Praktikum ini dapat menambah acuan dalam pengkayaan informasi tentang praktik Bioteknologi Pertanian.

Penyusun

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR	i
PRAKATA	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	vi
DAFTAR GAMBAR	vii
Praktikum 1. Pengenalan Alat di Laboratorium Bioteknologi Pertanian	1
1. Pokok Bahasan	1
2. Indikator Pencapaian	1
3. Teori	1
4. Bahan dan Alat	2
5. Organisasi	2
6. Prosedur Kerja	2
7. Tugas dan Pertanyaan	3
8. Pustaka	3
9. Hasil Praktikum	3
Praktikum 2. Sterilisasi / Teknik Aseptik	5
1. Pokok Bahasan	5
2. Indikator Pencapaian	5
3. Teori	5
4. Bahan dan Alat	7
5. Organisasi	7
6. Prosedur Kerja	7
7. Tugas dan Pertanyaan	9
8. Pustaka	10
9. Hasil Praktikum	10
Praktikum 3. Membuat Larutan Stok Unsur Hara dan Media Kultur Jaringan	11
1. Pokok Bahasan	11
2. Indikator Pencapaian	11

3. Teori	11
4. Bahan dan Alat	13
5. Organisasi	15
6. Prosedur Kerja	15
7. Tugas dan Pertanyaan	17
8. Pustaka	17
9. Hasil Praktikum	17
Praktikum 4. Mikropropagasi, Multiplikasi Tanaman Secara Invitro dan Aklimatisasi di Tempat Persemaian	18
1. Pokok Bahasan	18
2. Indikator Pencapaian	18
3. Teori	18
4. Bahan dan Alat	19
5. Organisasi	21
6. Prosedur Kerja	21
7. Tugas dan Pertanyaan	26
8. Pustaka	27
9. Hasil Praktikum	27
Praktikum 5. Biofertilizer	29
1. Pokok Bahasan	29
2. Indikator Pencapaian	29
3. Teori	29
4. Bahan dan Alat	31
5. Organisasi	32
6. Prosedur Kerja	32
7. Tugas dan Pertanyaan	35
8. Pustaka	36
9. Hasil Praktikum	36
Praktikum 6. Biopestisida	37
1. Pokok Bahasan	37
2. Indikator Pencapaian	37

3. Teori	37
4. Bahan dan Alat	39
5. Organisasi	40
6. Prosedur Kerja	40
7. Tugas dan Pertanyaan	44
8. Pustaka	44
9. Hasil Praktikum	45
Praktikum 7. Pestisida Hayati (Entomopatogen)	46
1. Pokok Bahasan	46
2. Indikator Pencapaian	46
3. Teori	46
4. Bahan dan Alat	49
5. Organisasi	49
6. Prosedur Kerja	49
7. Tugas dan Pertanyaan	51
8. Pustaka	52
9. Hasil Praktikum	52
Praktikum 8. <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)</i>	53
1. Pokok Bahasan	53
2. Indikator Pencapaian	53
3. Teori	53
4. Bahan dan Alat	56
5. Organisasi	57
6. Prosedur Kerja	58
7. Tugas dan Pertanyaan	62
8. Pustaka	62
9. Hasil Praktikum	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil Praktikum	3
2. Komponen Media MS	14
3. Komposisi Medium Proliferasi Tunas Pisang	20
4. Komposisi Medium Perakaran Tunas Pisang	20
5. Pengamatan Pertumbuhan Eksplan	28
6. Pengamatan Visual	28
7. Pengamatan Aklimatisasi Pisang	28

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Proses Mendapatkan Eksplan Tanaman Pisang dari Tunas Anakan	22
2. Subkultur Tunas Pucuk Pisang. Masing-masing Propagula dipotong Menjadi 4 Bagian. Kemudian dilakukan 5 Siklus Subkultur Sehingga dihasilkan 4.096 Plantet dari Satu Eksplan Tunas Pucuk	24
3. Tanah Humus	32
4. Campuran Tanah, Daun Bambu Kering, Sekam Padi dan Dedak Padi	33
5. Campuran Tanah, Daun Bambu Kering, Sekam Padi dan Dedak Padi	33
6. Lapisan Serat Putih di Permukaan Campuran	34
7. Pencampuran Molase, Gula Merah dan Air Sumur	34
8. Biofertilizer	35
9. <i>Trichoderma sp.</i> (Biakan Jamur <i>Trichoderma sp.</i> , dan Konidia Jamur <i>Trichoderma sp.</i>)	38
10. Plastik Beras yang telah diisi Beras dimasukkan Biang <i>Trichoderma</i>	42
11. Starter/ Biang <i>Trichoderma sp.</i>	42
12. Pembuatan Tricho-Kompos	43
13. Contoh Serangga-serangga yang Terinfeksi <i>Beauveria Bassiana</i>	47
14. Susunan Spora dan Morfologi <i>B. Bassiana</i>	48
15. Lapisan Tanah yang Mengandung Inokulum <i>B. Bassiana</i>	50
16. Ulat Hongkong yang Terinfeksi Jamur <i>B. Bassiana</i>	50
17. Akar Tanaman yang Bersimbiosis dengan Mikroba Antagonis	54
18. Akar Tanaman	58
19. Perendaman Akar Bambu untuk Pembuatan Biang PGPR	59
20. Cara Perbanyakan PGPR	59
21. Biang PGPR	60
22. <i>Plant Growth Promoting Rhizobakteri</i> (PGPR)	60
23. Perlakuan Perendaman Benih dengan PGPR	61
24. Aplikasi PGPR Pada Bibit Tanaman	61



BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Minggu ke	: (Pertemuan ke 1)
Capaian Pembelajaran Khusus	: Mahasiswa mampu mempersiapkan peralatan yang akan digunakan dalam praktikum bioteknologi pertanian
Waktu	: (1 x 120 menit)
Tempat	: Laboratorium Bioteknologi Pertanian

1. Pokok Bahasan :

Pengenalan Alat di Laboratorium Bioteknologi Pertanian

2. Indikator Pencapaian :

Mahasiswa mampu mengetahui jenis, fungsi dan cara penggunaan beberapa peralatan yang ada di laboratorium bioteknologi pertanian sehingga benar dan aman dalam proses penggunaannya.

3. Teori :

Bioteknologi pertanian adalah kumpulan teknik ilmiah yang digunakan untuk memanfaatkan tanaman, hewan dan mikroorganisme dalam meningkatkan produktivitas pertanian. Melalui pemahaman tentang DNA, bioteknologi memungkinkan improvement yang tidak bisa dilakukan hanya dengan penylangan spesies terkait secara tradisional.

Bioteknologi pertanian memiliki laboratorium yang digunakan untuk proses-proses perakitan, perbaikan serta pembiakan baik mikroorganisme dan tanaman dilakukan. Dalam prosesnya banyak alat dan bahan yang diperlukan yang memiliki spesifikasi dan fungsi tertentu serta cara penggunaan yang beraneka ragam.

Setiap alat yang digunakan di laboratorium bioteknologi pertanian memiliki nama yang menunjukkan kegunaan alat, prinsip kerja atau proses yang berlangsung

ketika alat digunakan. Pengenalan terhadap alat-alat di laboratorium bioteknologi pertanian sangat penting dilakukan untuk keselamatan kerja dalam melakukan proses penelitian.

4. Bahan dan Alat :

Peralatan yang digunakan dalam praktikum ini diantaranya :

- Alat-alat gelas (petridish, erlenmeyer, labu takar, tabung reaksi, beaker glass, botol kultur)
- Alat-alat non gelas (pinset, spatula, gunting, jarum ose)
- Alat ukur (gelas ukur, pipet ukur+rubber bulb filler, Mikropipet)
- Alat sterilisasi (oven, autoclave, incubator)
- Alat pemanas (hot plate, Bunsen burner, water bath)
- Alat sentrifus (centrifuge)
- Alat ukur keasaman (pH meter, indikator lakmus)
- Instrument : (*Shaker Waterbath, Spektrofotometer, Vortex, sentrifus,*)
- Laminar Air Flow cabinet (LAF)
- Timbangan (timbangan, timbangan analitis)
- Mortar dan pestle

5. Organisasi :

Mahasiswa dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kelompok terdiri dari 6 orang.

6. Prosedur Kerja :

Setiap praktikan mencatat dan memperhatikan peralatan serta cara kerja dan fungsinya masing-masing yang terdapat di laboratorium bioteknologi pertanian.

7. Tugas dan Pertanyaan :

1) Tugas :

- a. Gambarkan alat-alat yang digunakan di laboratorium bioteknologi pertanian secara benar dan jelas.
- b. Carilah referensi terkait fungsi serta cara kerja alat-alat yang terdapat di laboratorium bioteknologi pertanian (minimal 3 jurnal)

2) Pertanyaan :

- a. Jelaskan fungsi dan cara kerja alat-alat (minimal 15 alat) yang ada di laboratorium bioteknologi pertanian
- b. Jelaskan cara kerja alat-alat (minimal 10 alat) yang ada di laboratorium bioteknologi pertanian

8. Pustaka :

Dashiell, T.R. (1986). The Department of Defense and Biotechnology. Technology in Society, 8(3), 223-228.

9. Hasil Praktikum :

Tabel 1. Hasil Praktikum

Peralatan Gelas (glassware)				
NO	JENIS ALAT	SPESIFIKASI	FUNGSI	Gambar Alat
1				
2				

Dst.				
Peralatan Non Gelas				
NO	JENIS ALAT	SPESIFIKASI	FUNGSI	Gambar Alat
1				
2				
Dst.				
Alat Ukur				
NO	JENIS ALAT	SPESIFIKASI	FUNGSI	Gambar Alat
1				
2				
Dst.				

Tabel 1. Hasil Praktikum

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Minggu ke	: (Pertemuan ke 2)
Capaian Pembelajaran Khusus	: Mahasiswa mampu melakukan sterilisasi alat, bahan dan lingkungan kerja bidang bioteknologi secara baik dan aman
Waktu	: (1 x 120 menit)
Tempat	: Laboratorium Bioteknologi Pertanian

1. Pokok Bahasan :

Sterilisasi/Teknik Aseptik

2. Indikator Pencapaian :

- a. Mahasiswa mampu mengetahui metode sterilisasi dan bahan sterilant yang digunakan untuk sterilisasi
- b. Mahasiswa mampu melakukan (praktek) sterilisasi pada peralatan, media kultur, bahan tanam dan ruangan yang dipergunakan selama praktek bioteknologi pertanian.

3. Teori :

Sterilisasi/teknik aseptik mutlak diperlukan untuk keberhasilan pembentukan dan pemeliharaan sel tanaman, jaringan dan kultur organ. Sterilisasi/teknik aseptik merupakan kegiatan untuk menghilangkan kontaminan yang dapat menyebabkan kontaminasi dan kegagalan kultur jaringan. Sterilisasi dilakukan terhadap ruangan, peralatan, media tanam, bahan tanam, serta personil pelaksana. Peralatan dan media tanam dapat disterilisasi menggunakan metode pemanasan (kering dan basah), bahan kimia, sistem filter, dan ultrafikasi sedangkan lingkungan kerja dapat menggunakan Laminar Air Flow (LAF).

Sterilisasi menggunakan oven dan pembakaran (metode pemanasan kering): Peralatan yang terbuat dari metal, gelas, aluminium foil, dll., dapat disterilasi

dengan cara pengeringan dalam oven pada suhu 1300 C – 170 0C selama 2-4 jam. Semua peralatan tersebut harus dibungkus sebelum di oven, tetapi jangan menggunakan kertas karena akan terdekomposisi pada suhu 170°C. Untuk peralatan diseksi yang akan digunakan pada ruang transfer atau laminar, setelah disterilisasi dalam oven harus direndam dahulu dalam alkohol 96% kemudian dibakar di atas lampu bunsen. Teknik ini disebut sterilisasi pembakaran (flame sterilization). Teknik ini harus dilakukan dengan ekstra hati-hati karena alkohol sangat mudah terbakar. Selain metode di atas terdapat beberapa metode sterilisasi pemanasan kering lainnya yang biasa digunakan seperti: ultrasonic cleaner dan heat sterilization treatment (Misra & Misra)

Sterilisasi menggunakan Autoclave (metode pemanasan basah) : merupakan metode dengan prinsip pemanasan menggunakan uap air pada suhu dan tekanan tinggi yang paling sering digunakan untuk mensterilkan barang tahan panas dan media pertumbuhan mikroorganisme dan eksplan tanaman. Alat dan bahan yang akan disterilkan disimpan di dalam autoclave pada suhu 121°C, dengan tekanan 15 psi selama $\pm$ 15-20 menit . Sterilisasi pada media tidak boleh dilakukan terlalu lama karena akan menyebabkan : a) Penguraian gula. b) Degradasi vitamin dan asam-asam amino. c) Inaktivasi sitokinin zeatin riboside dan d) Perubahan pH yang berakibatkan depolimerisasi agar.

Sterilisasi menggunakan bahan kimia: bahan kimia yang biasanya digunakan untuk sterilisasi berupa senyawa desinfektan antara lain alkohol yang merupakan antiseptik yang sangat efisien dan efektif

Sistem Filter : Beberapa zat pengatur tumbuh (hormon) seperti asam amino dan vitamin sangat labil dalam kondisi panas dan akan rusak jika disterilisasi dengan menggunakan autoklaf. Sterilisasi hormon yang tidak tahan pemanasan atau vitamin dilakukan dengan menggunakan membran filter 0.22 μ m to 0.45 μ m size.

Ultrafiltrasi dilakukan terhadap komponen medium yang tidak tahan panas (thermolabil). Tetapi proses ini lebih lambat dan lebih mahal dibandingkan dengan sterilisasi menggunakan autoclave. Larutan yang akan disterilisasi dilewatkan melalui filter dengan ukuran pori tidak lebih dari 0.45-0,22 μ m di dalam kontainer steril.

Lingkungan kerja (Laminar air flow/LAF) : Laminar Airflow (LAF) adalah alat yang dipakai untuk menipulasi ruangan aseptik. Udara ditarik ke arah kipas elektrik dan melewati filter coarse kemudian melalui filter bakteri halus (HEPA-High Efficiency Particulate Air Filter). Dengan sistem kerja seperti ini, ruang kerja di dalam laminair bebas dari mikroorganisme. Sebelum dipakai ruangan kerja di sterilkan dengan menyemprot alkohol 70%.

4. Bahan dan Alat :

Bahan pakan yang digunakan diantaranya terdiri dari :

- a. Media kultur
- b. Bahan tanam
- c. Alkohol 70 % dan 96 %

Alat yang digunakan dalam praktikum ini diantaranya :

- a. Peralatan berbahan gelas (botol kultur, petri dish, dll)
- b. Peralatan berbahan non gelas (skalpel, pinset, gunting, spatula, dll)
- c. Autoclave
- d. Oven
- e. Laminar Air Flow (LAF)

5. Organisasi :

Mahasiswa dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kelompok terdiri dari 6 orang.

6. Prosedur Kerja :

- 1) Sterilisasi Peralatan dan Medium Kultur dengan Autoklaf
 - a) Peralatan gelas (*glassware*) dicuci dengan bersi, dikeringkan dan dibungkus dengan kertas.
 - b) Aquades dimasukan ke dalam botol, mulut botol ditutup dengan aluminium foil dan dieratkan dengan *plastic seal* (segel plastik).
 - c) Medium kultur dimasukan dalam botol, mulut botol ditutup dengan aluminium foil
 - d) Peralatan logam dibungkus dengan aluminium foil

- e) Glassware dan logam serta media kultur disterilisasi dengan autoclave dilakukan pada suhu 121°C tekanan 15 psi selama 1 jam.
- f) Selama proses sterilisasi berlangsung, autoklaf ditutup rapat sehingga tekanan didalam autoklaf naik
- g) Setelah proses sterilisasi selesai katup dibuka untuk membuang uap air hingga tekanan 0 psi.
- h) Autoklaf dibuka dan peralatan serta media kultur yang disterilisasi diambil.
- i) Setelah selesai di autoclave apabila peralatan tersebut belum akan digunakan, maka dapat disimpan di inkubator dengan suhu 60°C.

2) Sterilisasi Peralatan dengan bahan kimia

Sterilisasi peralatan logam (pinset, sklapel, gunting, jarum ose) yang digunakan pada saat melakukan kegiatan kultur di LAF dilakukan dengan merendam peralatan tersebut dalam alkohol (ethanol) 95% diikuti dengan pembakaran dan pendinginan. Teknik ini dinamakan flame sterilization.

3) Sterilisasi Lingkungan Kerja

- a) Lingkungan kerja termasuk di dalamnya ruang kultur dan ruang transfer harus dibersihkan setiap hari dan setiap saat akan dipergunakan.
- b) Lantai ruangan dipel dengan desinfektan (misal Wipol dsb.)
- c) Dinding dan rak kultur serta perabotan disemprot dengan alkohol atau larutan sodium hipoklorit 2%, kemudian di lap hingga kering.
- d) Laminar air flow (LAF) disterilkan dengan cara : Satu malam sebelum LAF digunakan, nyalakan lampu UV untuk mensterilkan bagian dalam air flow cabinet serta meminimalisir kontaminasi mikroba. Pagi hari, lampu UV dimatikan (jangan lupa mematikan lampu UV, apabila lampu UV menyala pada saat bekerja maka operator dalam kondisi berbahaya karena dapat terkontaminasi radiasi UV yang dapat mengakibatkan iritasi kulit dan selaput mata serta gangguan reproduksi. Setelah lampu UV dimatikan, bagian dalam laminar didesinfeksi dengan alkohol 70% dan laminar siap digunakan.

4) Sterilisasi Bahan Tanam (Eksplan)

- a) Bahan tanam (eksplan) dari lapang dibuang bagian-bagaian yang kotor dan mati kemudian dicuci di bawah air mengalir selama 30 menit – 2 jam
- b) Pencucian Bahan tanam (eksplan) dapat dilakukan dengan sabun untuk mengurangi jumlah pathogen atau membuat pathogen lebih accesible terhadap sterilan.
- c) Bahan tanam (eksplan) dipotong sampai ukuran tertentu dan direndam dalam fungisida atau bakterisida.
- d) Jenis sterilant yang sering digunakan dalam sterilisasi eksplan bermacam-macam : sodium hipoklorit (1-10%), calcium hipoklorit (4-10%), hidrogen peroksida (10-12.5%) dan lain-lain. Sterilant dapat digunakan secara tunggal maupun kombinasi.
- e) Setelah waktu perendaman tercapai, eksplan dicuci bersih dan ditiriskan.
- f) Di dalam LAF eksplan direndam dalam alkohol 70 % selama 1-2 menit dan dibilas dengan aquades steril sekali.
- g) Eksplan direndam dalam byclin 2%+ twen-20 2 tetes selama 10 menit
- h) Setelah waktu perendaman tercapai, eksplan dibilas dengan air steril 3-5 kali selama 5 menit.
- i) Eksplan diletakan di dalam petridish yang dialasi tissue steril.
- j) Sebelum diletakan di medium pertumbuhan, ujung eksplan yang kontak dengan sterilan dibuang.

7. Tugas dan Pertanyaan :

- 1) Tugas :
 - a) Buatlah bagan alir proses sterilisasi Peralatan dan Medium Kultur dengan Autoklaf bandingkan dengan referensi yang ada
 - b) Buatlah bagan alir proses sterilisasi dengan bahan kimia bandingkan dengan referensi yang ada

c) Buatlah bagan alir proses sterilisasi lingkungan kerja bandingkan dengan referensi yang ada.

2) Pertanyaan :

- a) Sebutkan tujuan utama sterilisasi/Teknik aseptik dalam proses bioteknologi?
- b) Jelaskan beberapa metode sterilisasi yang biasa digunakan dalam proses bioteknologi pertanian

8. Pustaka :

Misra, A. N., & Misra, M. Sterilization Techniques in Plant Tissue Culture.

9. Hasil Praktikum :

Gambarkan bagan alir proses sterilisasi peralatan, medium kultur dan lingkungan kerja dibawah ini!

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Minggu ke	: (Pertemuan ke 3 dan 4)
Capaian Pembelajaran Khusus	: Mahasiswa mampu membuat sendiri larutan stok unsur hara dan media tanam kultur jaringan
Waktu	: (2 x 120 menit)
Tempat	: Laboratorium Bioteknologi Pertanian

1. Pokok Bahasan :

Membuat Larutan Stok Unsur Hara dan Media Kultur Jaringan

2. Indikator Pencapaian :

- a. Mahasiswa mampu mengetahui komponen penyusun media kultur jaringan dengan fungsinya masing-masing dalam media kultur jaringan
- b. Mahasiswa mampu mengetahui serta dapat mempraktekkan cara membuat larutan stok yang akan dipergunakan dalam membuat media kultur jaringan sesuai komposisi medium yang diinginkan.

3. Teori :

Larutan stok adalah larutan yang berisi satu atau lebih komponen media yang konsentrasinya lebih tinggi daripada konsentrasi komponen tersebut dalam formulasi media yang akan dibuat. Larutan stok bisa dibuat dengan konsentrasi 10, 100, atau bahkan 1000 kali lebih pekat. Larutan stok dalam media kultur jaringan dikelompokkan dalam: stok makro, stok mikro, stok Fe, stok vitamin dan stok hormon.

Media padat dan cair untuk kultur jaringan dapat disiapkan baik dengan melarutkan bahan yang siap pakai yang tersedia secara komersial atau dengan menggunakan media yang disiapkan sendiri sesuai dengan kebutuhan bagi pertumbuhan eksplan yang ditanam. Media yang digunakan biasanya terdiri

dari garam mineral, vitamin, dan hormon. Selain itu, diperlukan juga bahan tambahan seperti agar, gula, dan lain-lain. Zat pengatur tumbuh (hormon) yang ditambahkan juga bervariasi, baik jenis maupun jumlahnya, tergantung dengan tujuan dari kultur jaringan yang dilakukan. Media kultur jaringan yang biasa digunakan adalah medium Murashige & Skoog (MS) (Murashige dan Skoog, 1962). Gula yang paling sering digunakan adalah sukrosa, umumnya pada konsentrasi 1 – 5% digunakan sebagai sumber karbon. Namun sumber karbon lain seperti glukosa, maltosa, galaktosa dan laktosa juga digunakan. Gula pasir yang digunakan sehari-hari dapat dipakai karena mengandung 99,9% sukrosa.

Umumnya jaringan dikulturkan pada media padat yang dibuat seperti gel dengan menggunakan agar atau pengganti agar seperti, Gelrite atau Phytigel. Pada konsentrasi tinggi agar menjadi sangat keras, sedikit sekali air yang tersedia, sehingga difusi hara ke tanaman sangat buruk. Agar dengan kualitas tinggi mahal harganya tapi lebih murni, tidak mengandung bahan lain yang mungkin mengganggu pertumbuhan. Gel sintetis diketahui dapat menyebabkan hyperhidration (vitrifikasi) yang merupakan problem fisiologis yang terjadi pada kultur. Untuk mengatasi masalah ini, produk baru bernama Agar gel telah diproduksi yang merupakan campuran agar dan gel sintetis dan menawarkan kelebihan kedua produk sekaligus mengurangi problem vitrifikasi. Produk ini dapat dibuat di lab dengan mencampurkan 1 g Gelrite (Phytigel) dengan 4 g agar sebagai agen pengental untuk 1 L media.

pH media biasanya diatur pada kisaran 5.6 – 5.8 tapi tanaman yang berbeda mungkin memerlukan pH yang berbeda untuk pertumbuhan optimum. Jika pH lebih tinggi dari 6.0, media mungkin menjadi terlalu keras dan jika pH kurang dari 5.2, agar tidak dapat memadat.

Salah satu komponen media yang menentukan keberhasilan kultur jaringan adalah jenis dan konsentrasi ZPT yang digunakan. Jenis dan konsentrasi ZPT tergantung pada tujuan dan tahap pengkulturan. ZPT untuk menumbuhkan dan menggandakan tunas aksilar atau merangsang tumbuhnya tunas adventif adalah sitokinin atau kombinasi sitokinin dan auksin dalam konsentrasi rendah.

ZPT untuk merangsang pembentukan akar pada tunas, biasanya menggunakan auksin. Apabila tujuan untuk pembentukan kalus, ZPT auksin dan sitokinin digunakan dengan konsentrasi tertentu yang akan menstimulasi pengkalusan.

4. Bahan dan Alat :

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari :

- a. Media MS (Murashige & Skoog)
- b. Alkohol 70% dan 96%,
- c. Aquades
- d. Agar- agar.

Jenis peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya :

- a. Autoclave
- b. Aluminium foil
- c. Plastic wrap
- d. Gelas ukur
- e. Erlenmeyer
- f. Beaker glass
- g. Magnetic stirrer
- h. Mikro pipet
- i. Timbangan analitik
- j. Botol kultur
- k. Spatula,
- l. pH meter

Tabel 2. Komponen Media MS (Murashige dan Skoog, 1962)

Senyawa	Konsentrasi dalam media MS (mg/L)	Nama Stok	Konsentrasi dalam larutan stok (g/L)	Jumlah yang dibutuhkan (g/L) untuk masing-masing 500 ml dan 100 ml larutan stok	Volume Larutan stok yang dibutuhkan per liter media (ml)
Kalsium klorida anhidrat (CaCl2.2H2O)	440	Stok A (X 10)	4.4	2.2	100
Potasium nitrat(KNO3)	1900		19	9.5	
Amonium nitrat (NH4NO3)	1650		16.5	8.25	
Potasium fosfat monobasa (KH2PO4)	170		1.7	0.85	
Magnesium sulfat (MgSO47H2O)	370	Stok B (X10)	3.7	1.85	100
Mangan sulfat (MnSO4.4H2O)	22.3		0.223	0.1115	
Seng sulfat (ZnSO4.7H2O)	8.6	Stok C (X100)	0.86	0.086	10
Asam borak (H3BO3)	6.2		0.62	0.062	
Potassium iodat (KI)	0.83		0.083	0.0083	
Tembaga sulfat (CuSO4.5H2O)	0.025		0.0025	0.00025	
Asam molibdat (Na2MoO4.2H2O)	0.25		0.025	0.0025	
kobalt klorida (CoCl2.6H2O)	0.025		0.0025	0.00025	

Senyawa	Konsentrasi dalam media MS (mg/L)	Nama Stok	Konsentrasi dalam larutan stok (g/L)	Jumlah yang dibutuhkan (g/L) untuk masing-masing 500 ml dan 100 ml larutan stok	Volume Larutan stok yang dibutuhkan per liter media (ml)
Na2EDTA.2H2O	37.3	Stok D (X100)	3.73	0.373	10
Besi sulfat (FeSO4.7H2O)	27.8		2.78	0.278	
Glycine	2.0	Stok E (X100)	0.2	0.02	10
Nicotinic Acid	0.5		0.05	0.005	
Thiamine-HCl	0.1		0.01	0.001	
Pyridoxine-HCl	0.5		0.05	0.005	
Myo-inositol (langsung ditambahkan ke dalam medium)	100				0.1 g

5. Organisasi :

Mahasiswa dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kelompok terdiri dari 6 orang.

6. Prosedur Kerja :

1) Membuat Larutan Stok

- Menimbang bahan-bahan kimia dengan menggunakan timbangan analitik dengan komposisi seperti yang tertera pada tabel 3.
- Melarutkan bahan-bahan kimia tersebut ke dalam aquadest dengan volume tertentu
- Volume larutan stok A dan B disiapkan dalam 500 ml
- Volume larutan stok C,D dan E disiapkan dalam 100 ml.
- Saring setiap larutan stok dan masukan ke dalam botol steril

- f) Simpan pada suhu 4 °C

2) Membuat media MS 1 liter

- a) Dari larutan stok diambil dengan volume sesuai dengan tabel, masukkan dalam erlenmeyer 1 liter.
- b) Sukrosa sebanyak yang diperlukan (misal 30 gr untuk 1 L) serta zpt dengan konsentrasi sesuai perlakuan, misalnya: untuk membuat media 1 L dengan konsentrasi BAP 2 ppm, maka volume larutan stok yang diambil adalah:

$$\begin{aligned} V_1 \times M_1 &= V_2 \times M_2 \\ V_1 \times 100 \text{ ppm} &= 1000 \text{ ml} \times 2 \text{ ppm} \\ V_1 &= 20 \text{ ml/L} \end{aligned}$$

- c) kemudian aquades ditambahkan sampai volume 1000 ml.
- d) Kemasaman media diukur (pH) dengan pH meter atau kertas lakmus. pH medium antara 5,5-5,8. Jika pH terlalu rendah ditambahkan NaOH sampai pH naik, apabila pH terlalu tinggi maka diturunkan dengan meneteskan HCl.
- e) Tambahkan agar sebanyak 7 g/l, masukan ke dalam labu takar dan larutan ditambahkan aquades sampai volume tepat 1 liter.
- f) Panaskan medium sambil diaduk sesekali untuk melarutkan gula dan agar sampai medium mendidih yang ditandai dengan larutan menjadi jernih. Kemudian masukan ke dalam botol kultur steril sebanyak 20-25 ml, tutup rapat dengan alumunium foil atau plastik. Beri label yan bertuliskan jenis media dan konsentrasi zpt yang ditambahkan.
- g) Sterilkan medium dengan autoclave pada suhu 121°C, tekanan 1.5 atm (15 lbs) selama 20 menit.
- h) Biarkan media mendingin hingga 55°C sebelum menambhakan bahan-bahan yang tidak tahan panas (acetosyringone, claforan, kanamycin) apabila bahan-bahan tersebut akan ditambahkan dalam media.

7. Tugas dan Pertanyaan :

1) Tugas :

- a) Carilah komposisi medium B5 (Gamborg et. al., 1968), medium Schenk dan Hildebrandt, medium WPM (Woody Plant medium) dan medium N6
- b) Bandingkan komposisi medium MS dengan medium B5, medium Schenk dan Hildebrandt, medium WPM dan medium N6

2) Pertanyaan :

- a) Sebutkan dan jelaskan fungsi masing-masing komponen dalam media MS
- b) Berapa jumlah masing-masing komponen media MS yang dibutuhkan (g/L) untuk membuat 250 ml larutan stok.

8. Pustaka :

Fauzy, E. (2016). Pengaruh penggunaan media murashige dan skoog (MS) dan vitamin terhadap tekstur, warna dan berat kalus rumput gajah (*Pennisetum purpureum*) CV. Hawaii pasca radiasi sinar gamma pada dosis LD50 (in vitro). *Students e-Journal*, 5(4).

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. *Physiologia plantarum*, 15(3), 473-497.

Puad, N. I. M., & Wai, T. C. A Simple and Easy Method for Preparing Solid and Liquid Media for Plant Culture.

9. Hasil Praktikum :

HASIL PENGAMATAN

Buatlah laporan praktik yang telah dilakukan dan dikumpulkan 1 minggu setelah semua tahapan pelaksanaan praktikum selesai (data dapat disajikan dalam bentuk gambar, uraian dan penjelasan).

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Minggu ke	: (Pertemuan ke 5, 6, dan 7)
Capaian Pembelajaran Khusus	: Mahasiswa mampu mengetahui cara perbanyak tanaman pisang mini secara invitro yang memiliki daya jual
Waktu	: (3 x 120 menit)
Tempat	: Lahan Praktek, Laboratorium Bioteknologi Pertanian, dan Green House

1. Pokok Bahasan :

Mikropropagasi, Multiplikasi Tanaman Secara Invitro dan Aklimatisasi di Tempat Persemaian.

2. Indikator Pencapaian :

- a. Mahasiswa mampu mengetahui dan melakukan proses mikropropagasi tanaman pisang secara Invitro
- b. Mahasiswa mampu mengetahui dan melakukan proses multiplikasi tanaman pisang secara Invitro
- c. Mahasiswa mampu mengetahui dan melakukan proses aklimatisasi tanaman pisang di tempat persemaian (*greenhouse*)

3. Teori :

Kultur jaringan tanaman memiliki dampak yang sangat positif pada bidang pertanian saat ini. Hal ini dimungkinkan karena mampu menyediakan perbanyak tanaman secara masal dalam waktu yang relative singkat serta tidak memerlukan lahan yang luas. Saat ini beberapa laboratorium bersama di dunia mampu memproduksi lebih dari 500 juta tanaman setiap tahunnya.

Pisang merupakan buah yang sangat penting di Indonesia, Thailand, Bangladesh, Vietnam, Filipina, juga India dan menempati posisi penting dalam perekonomian

Australia, Malaysia, Taiwan, Srilanka dan Cina Selatan. Taiwan dan Filipina memperoleh penghasilan besar dari ekspor pisang mereka, sedangkan di Indonesia, sebagian besar diperdagangkan dan dikonsumsi di pasar domestik (Al-Amin et al., 2009).

Pisang biasanya diperbanyak secara vegetatif, kemudian kultur jaringan hadir sebagai teknik perbanyakan menyediakan cara mudah perbanyakan pisang sekaligus menghadirkan bibit yang bebas penyakit. Berdasarkan hasil penelitian di lapangan menunjukan bahwa tanaman pisang yang diperbanyak melalui kultur jaringan tumbuh normal dan lebih baik dibandingkan dengan yang diperbanyak secara konvensional.

Teknik kultur jaringan untuk pisang meliputi kultur pucuk dan meristem, kultur kalus, embryogenesis somatic, suspense sel, dan kultur protoplas.

4. Bahan dan Alat :

Bahan yang digunakan diantaranya :

- a. Bahan tanaman (eksplan) :Tunas-tunas muda yang tumbuh pada bonggol (batang dalam tanah) pisang
- b. Media padat dalam botol kultur (Tabel 4.1 dan 4.2)
- c. Sterilant (Alkohol, Larutan sublimat dan Bayclin)
- d. Aquadest steril

Peralatan yang digunakan diantaranya :

- a. Laminar flow cabinet
- b. Pisau scalpel
- c. Kantong plastik.
- d. Pulpen marker
- e. Sekop tanah,
- f. Pinset,
- g. Botol kultur
- h. Bunsen

- i. Gunting
- j. Petridish
- k. hand sprayer
- l. Tisu
- m. Label

(Semua peralatan sudah disterilkan).

Tabel 3. Komposisi Medium Proliferasi Tunas Pisang

Larutan Stok	Konsentrasi Larutan Stok	Volume untuk 1 L medium kultur
MS makronutrien (0,5x)	25x	20 ml
MS mikronutrien (0,5x)	100x	5 ml
MS vitamin (1x)	100x	10 ml
Fe-EDTA (1x)	200x	5 ml
Gula (sukrosa)		30 gr
BAP	100 mg/L	50 ml (5 mg)
Air kelapa (optional)		100 ml
Agar		6 gr

Sumber: (Cruz, et al., 2005)

Tabel 4. Komposisi Medium Perakaran Tunas Pisang

Larutan Stok	Konsentrasi Larutan Stok	Volume untuk 1 L medium kultur
MS makronutrien (0,5x)	25x	20 ml
MS mikronutrien (0,5x)	100x	5 ml
MS vitamin (1x)	100x	10 ml
Gula (sukrosa)		30 gr
BAP	100 mg/L	50 ml (5 mg)
Air kelapa (optional)		100 ml
Agar		6 gr

Sumber: (Cruz ,et al., 2005)

5. Organisasi :

Mahasiswa dibagi menjadi 5 kelompok, 1 kelompok terdiri dari 6 orang.

6. Prosedur Kerja :

1) Pengumpulan Tunas Anakan (Sucker)

- a) Beberapa jenis anakan /sucker pisang (*peeper sucker, sword, atau maiden suckers*) dengan ukuran tinggi kira-kira 40-100 cm dan bebas dari penyakit BBTV (*Banana Bunchy Top Virus*) atau biasa disebut virus kerdil pisang bisa digunakan sebagai sumber eksplan yang akan digunakan pada kultur jaringan pisang.
- b) Pisahkan tunas anakan (*sucker*) dari batang utama tanpa meretakan umbi anakan. Kumpulkan sekurangnya dua tunas anakan dari masing-masing sumber tanaman, satu untuk mikropropagasi dan yang satu lagi untuk kebun pembibitan.
- c) Eksplan diisolasi dari tunas anakan dengan cara mengupas pelepahnya hingga terlihat jaringan kuncup apikal berwarna putih, kemudian dibelah dua secara membujur untuk mendapatkan sekitar 4 inci (10 cm) jaringan bagian dalam pseudostem yang mengandung jaringan meristem pisang seperti dijelaskan pada Gambar 1. , kemudian masukan ke dalam plastik.



Gambar. 1 Proses Mendapatkan Eksplan Tanaman Pisang dari Tunas Anakan
 sumber : ([https://cms.ctahr.hawaii.edu/wangk/h/Research-and Extension/Banana IPM/ Guidebook/CHPT8-TissueCulture](https://cms.ctahr.hawaii.edu/wangk/h/Research-and%20Extension/Banana%20IPM/Guidebook/CHPT8-TissueCulture))

2) Disinfeksi Propagula

- Cuci eksplan yang dikumpulkan dari lapangan dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran yang menempel
- Benamkan eksplan yang telah dipotong dalam bayclin yang diencerkan (5,25%NaOCl) selama 30-45 menit
- Simpan eksplan yang sudah disterilkan pada wadah

3) Inokulasi-Inisiasi

- Media inisiasi pertunasan yang digunakan adalah media modifikasi dari MS (Murashige & Skoog, 1962) seperti yang tersaji pada tabel 2.

- b) Seluruh proses inokulasi dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) yang sudah melalui proses sterilisasi.
- c) Pangkas eksplan (permukaan pseudostem) yang sudah disterilkan menjadi bagian yang lebih kecil.
- d) Hilangkan selubung daun luar yang bersentuhan dengan bayclin.
- e) Pindahkan ke petridish yang bersih
- f) Potonglah eksplan sampai berukuran 1 x 1 cm, dengan jaringan umbi setipis mungkin.
- g) Pindahkan ujung pucuk ke petridish baru dan potong menjadi empat bagian secara longitudinal, melalui bagian tengah
- h) Tanamlah pada media kultur padat.

4) Pemeliharaan kultur tunas pucuk

- a) Simpan kultur di ruangan ber-AC bersuhu 25 ± 2 °C di bawah cahaya lampu TL dengan intensitas cahaya sekitar 20 $\mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ detik}^{-1}$ (setara dengan sekitar 1000 lux), dan fotoperiodisitas 16 jam per hari
- b) Amati kontaminasi yang terjadi pada kultur tunas dan segera buang kultur yang telah terkontaminasi.
- c) Amati timbulnya browning dan tonjolan jaringan umbi, munculnya warna hijau dari jaringan daun, dan tumbuhnya tunas pucuk baru selama bulan pertama kultur.
- d) Setelah tumbuh tunas pucuk kurang lebih 2 cm, ujung pucuk siap untuk disubkultur

5) Proliferasi tunas pucuk (Subkultur)

- a) Seluruh proses subkultur dilakukan di dalam *Laminar Air Flow* (LAF) yang sudah melalui proses sterilisasi.
- b) pindahkan tunas pucuk ke media kultur baru setiap propagulnya tumbuh sekitar 2 cm

- c) Subkultur dilakukan menggunakan setengah media MS yang disuplementasi dengan 5 mg/l BAP dan 100 ml/l air kelapa. Medium yang dipakai tidak memakai auksin untuk menghindari pembentukan nodul terlalu cepat.
- d) Subkultur dilakukan sekitar 3-4 minggu sampai diperoleh jumlah tunas yang diinginkan.
- e) Catat jumlah tunas yang berproliferasi
- f) Ulangi proses subkultur (Gambar 2) tidak lebih dari 5 siklus untuk menghindari mutasi yang dapat menyebabkan abnormalitas seperti kekerdilan, dll

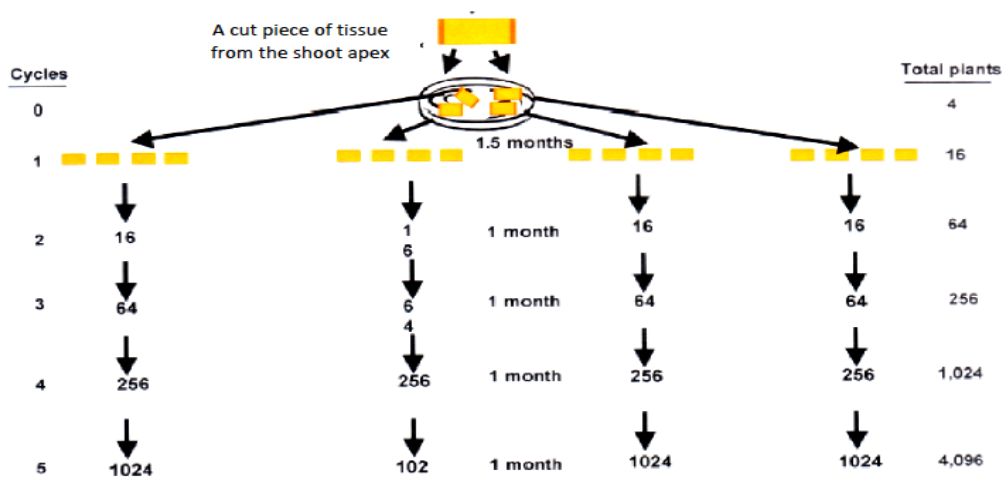


Fig. 8-3. Subculturing of banana shoot apex. Each propagule is cut into four pieces. Thus, 5 cycles of subculturing will generate 4,096 plantlets from one mother shoot apex.

Gambar. 2. Subkultur Tunas Pucuk Pisang. Masing-masing Propagula dipotong Menjadi 4 bagian. Kemudian dilakukan 5 siklus Subkultur Sehingga dihasilkan 4.096 Plantet dari Satu Eksplan Tunas Pucuk

sumber : (<https://cms.ctahr.hawaii.edu/wangkh/Research-and-Extension/Banana-IPM/Guidebook/CHPT8-TissueCulture>)

6) Perakaran Tunas Pucuk Pisang

- a) Media perakaran tunas pucuk pisang yang digunakan adalah media modifikasi dari MS (Murashige & Skoog, 1962) seperti yang tersaji pada tabel 4.2.
- b) Simpan tunas pucuk di atas 3-4 minggu siklus proliferasi sampai plantet kecil terbentuk

- c) Pisahkan masing-masing tunas dari kumpulan tunas dan inokulasikan ke medium perakaran.
- d) Diperkirakan tunas akan membentuk perakaran dalam 3-4 minggu
- e) Tanam pisang di tanah ketika sudah memiliki 3-4 daun yang lebih besar dan berakar dengan baik.

7) Aklimatisasi

- a) Media tanam yang akan digunakan dicuci hingga bersih terlebih dahulu kemudian direndam dalam fungisida 1 g/l selama 5 menit kemudian ditiriskan. Setelah itu masing-masing media dimasukkan ke dalam pot. Bibit yang akan digunakan dikeluarkan dari botol. Buka tutup botol, kemudian isi dengan air. Kemudian satu persatu bibit ditarik dengan kawat yang ujungnya dibentuk U dan diusahakan akar keluar dulu. Apabila sulit dikeluarkan, pecahkan saja botolnya.
- b) Bibit dicuci bersih sampai tidak ada lagi media yang menempel, kemudian direndam beberapa menit dalam wadah yang berisi fungisida, selanjutnya diangkat dan ditiriskan di atas nampan yang dialasi kertas atau tisu bersih.

c) Penanaman

Compot (Pot komunitas) yang akan dijadikan tempat tanam diisi pecahan batu bata sebanyak 1/3 bagian bawah, arang pada lapisan tengah, dan lapisan atas diisi pakis. Bibit ditanam sedalam 1- 2 cm. Dalam satu compot (Ø15 cm) jumlah yang ditanam tidak lebih dari 20 bibit.

d) Pemeliharaan

Pot diletakkan pada tempat yang terkena sinar matahari pagi dan diberi naungan (bisa dengan paranet 35 %) (Iswanto, 2002). Pemeliharaan dilakukan dengan penyiraman 2 kali sehari, pemupukan menggunakan pupuk daun Vitabloom (30-10-10) 2 g/l satu kali seminggu dengan cara disemprotkan ke daun dan pencegahan cendawan menggunakan Dithane M-45 berbahan aktif Mancozeb 80% sebanyak 3 g/l 2 minggu sekali.

e) Pemindahan Tanaman dari Compot ke Single Pot

Setelah tanaman mencapai ketinggian 5 cm atau lebih sebaiknya bibit dipindahkan satu per satu ke single pot. Cara pengisian media dan penanaman bibit sama seperti pada compot.

f) Pemupukan

Pemupukan dilakukan melalui daun, caranya dengan penyemprotan. Pemupukan sebaiknya dilakukan pada pagi hari, antara pukul 07.00- 09.00. Sehingga pupuk yang diberikan tidak cepat menguap. Jika pupuk diberikan lewat media, yang diambil oleh tanaman hanya yang larut dalam air saja dan yang langsung kontak dengan ujung akar. Sisanya akan terus berada dalam pot.

7. Tugas dan Pertanyaan :

1) Tugas :

- a) Hitunglah presentasi pertumbuhan eksplan saat proses inokulasi-inisiasi.
- b) Hitunglah jumlah tunas, panjang tunas, jumlah daun, jumlah akar dari setiap plantet yang dilakukan pada akhir penelitian
- c) Hitunglah jumlah daun saat telah membuka sempurna
- d) Hitunglah jumlah akar saat mencapai 2 mm
- e) Ukurlah tinggi tunas dari pangkal tunas hingga titik pertemuan antara dua daun paling atas saat akhir pengamatan
- f) Ukurlah panjang daun pada daun terpanjang dari pangkal hingga ujung daun saat akhir pengamatan
- g) Ukurlah lebar daun pada daun terlebar dibagian tengah daun saat akhir pengamatan
- h) Ukurlah panjang akar pada akar terpanjang dari pangkal hingga ujung akar saat akhir pengamatan

2) Pertanyaan :

- a) Berapa jenis kontaminan yang dominan terdapat pada medium serta kalus pisang saat proses inisiasi?
- b) Apa factor utama keberhasilan proses mikropropagasi tanaman pisang?

8. Pustaka :

Al-Amin, M. D., Karim, M. R., Amin, M. R., Rahman, S., & Mamun, A. N. M. (2009).
In vitro micropropagation of banana. Bangladesh Journal of Agricultural
Research, 34(4), 645-659.

Dela Cruz, F. S., Van den Bergh, I., De Waele, D., Hautea, D. M., & Molina, A. B.
(2005). Towards management of Musa nematodes in Asia and the Pacific:
Technical manual.

Sukendah, I., Nugrahani, Pangesti, Makhziah (2017) . PENUNTUN PRAKTIKUM
DASAR BIOTEKNOLOGI TANAMAN. Laboratorium Bioteknologi Fakultas
Pertanian Universitas Pembangunan Nasional "Veteran" Jawa Timur.

[https://cms.ctahr.hawaii.edu/wangkh/Research-and-Extension/Banana-IPM/
Guidebook/CHPT8-TissueCulture](https://cms.ctahr.hawaii.edu/wangkh/Research-and-Extension/Banana-IPM/Guidebook/CHPT8-TissueCulture) [diakses tanggal 8 November 2019]

9. Hasil Praktikum :

- 1) Setiap kelompok melakukan percobaan dengan satu jenis tanaman, dan setiap mahasiswa menanam eksplan dalam 5 botol kultur (5 ulangan)
- 2) Setiap mahasiswa melakukan pemeliharaan dan pengamatan pada tanaman masing-masing dan tanaman kelompoknya.
- 3) Membuat catatan pengamatan mingguan.
- 4) Melaporkan hasil kegiatan praktikum pada akhir praktikum.

Tabel 5. Pengamatan Pertumbuhan Eksplan

Tanggal	Perlakuan/ Ulangan	Jenis Medium	Kontaminasi			% eksplan berbentuk kalus	% eksplan membentuk tunas	ΣTunas per eksplan
			Waktu munculnya kontami- nan	Macam kontami- nan	% eksplan mati dan terkontam- inasi			

Tabel 6. Pengamatan Visual

Perlakuan	Ulangan	Tanggal						

Tabel 7. Pengamatan Aklimatisasi Pisang

Σpisang setelah transplanting				Σ daun				Tinggi tanaman				Panjang daun			
Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-				Minggu ke-			
1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Minggu ke	: (Pertemuan ke 9 -10)
Capaian Pembelajaran Khusus	: Mampu membuat Biofertilizer
Waktu	: (2 x 120 menit)
Tempat	: Rumah Kompos

1. Pokok Bahasan :

Biofertilizer

2. Indikator Pencapaian :

Mahasiswa mampu membuat bio-fertilizer

3. Teori :

Pupuk ialah bahan yang diberikan ke dalam tanah, baik organik, anorganik, pembenah tanah, kapur pertanian, mulsa, maupun tepung belerang, untuk memperbaiki kondisi fisik, kimia dan biologi tanah dan meningkatkan produksi tanaman (Kartika *et al.*, 2017). Pupuk hayati (Biofertilizer) didefinisikan sebagai zat yang mengandung mikroorganisme hidup dan bila diterapkan pada benih, permukaan tanaman, atau tanah, dapat berkolonisasi dengan rhizosfer atau bagian dalam tanaman dan mendorong pertumbuhan tanaman dengan meningkatkan pasokan atau ketersediaan nutrisi utama bagi tanaman inang (Vessey, 2003).

Pupuk Hayati berbeda dengan Pupuk Organik. Pupuk hayati adalah produk biologi aktif terdiri dari mikroorganisme yang dapat meningkatkan efisiensi pemupukan, kesuburan dan kesehatan tanah, sedangkan komposisi mikroorganisme/ mikrofauna dan bahan pembawa penyusun pupuk hayati merupakan formula pupuk hayati (PERMENTAN No. 28/Permentan/SR.130/5/2009).

Mikroorganisme tersebut diperoleh dari perakaran tanaman atau dari tanah disekitar zona perakaran (Rhizosphere). Sedangkan pupuk organik adalah pupuk

yang terdiri dari unsur-unsur kimia organik yang bisa langsung diserap oleh tanaman. Namun dengan cara yang sederhana, keduanya bisa dikombinasikan sehingga menghasilkan pupuk tanaman yang berkualitas tinggi untuk meningkatkan pertumbuhan tanaman dan hasil panen.

Pupuk hayati organik ini lebih menguntungkan dari segi pembiayaan, ketahanan terhadap penyebab penyakit tanaman, bebas dari mikroorganisme patogen, dan dari segi keramahan terhadap lingkungan, dibandingkan dengan pupuk kimiawi buatan. Pupuk hayati berperan menjaga lingkungan tanah melalui fiksasi N pada tanah yang kaya jenis mikro dan makro-nutrisi, pelarutan P dan kalium atau mineralisasi, pelepasan zat pengatur tumbuh tanaman, serta produksi antibiotik dan biodegradasi bahan organik (Sinha *et al.*, 2014). Ketika pupuk hayati diaplikasikan pada benih atau tanah, mikroorganisme yang terkandung di dalamnya akan berkembang biak dan berperan aktif dalam pemberian nutrisi dan meningkatkan produktivitas tanaman (Singh *et al.*, 2011).

Terdapat dua peran utama pupuk hayati dalam budidaya tanaman, yakni sebagai pembangkit kehidupan tanah (*soil regenerator*), penyubur tanah kemudian tanah dan penyedia nutrisi tanaman (*Feeding the soil that feed the plant*). Mikroorganisme yang terdapat dalam pupuk bekerja dengan cara:

- Penambat zat hara yang berguna bagi tanaman. Beberapa mikroorganisme berfungsi sebagai penambat N, tanpa bantuan mikroorganisme tanaman tidak bisa menyerap nitrogen dari udara. Beberapa berperan sebagai pelarut fosfat dan penambat kalium
- Aktivitas mikroorganisme membantu memperbaiki kondisi tanah baik secara fisik, kimia maupun biologi.
- Menguraikan sisa-sisa zat organik untuk dijadikan nutrisi tanaman.
- Mengeluarkan zat pengatur tumbuh yang diperlukan tanaman seperti beberapa jenis hormon tumbuh.
- Menekan pertumbuhan organisme parasit tanaman. Pertumbuhan mikroorganisme baik akan berkompetisi dengan organisme patogen, sehingga kemungkinan tumbuh dan berkembangnya organisme patogen semakin kecil.

Berdasarkan Kementerian Pertanian, kualitas pupuk hayati bisa dilihat dari parameter berikut:

- Jumlah populasi mikroorganisme, jumlah mikroorganisme hidup yang terdapat dalam pupuk harus terukur. Bila jumlahnya kurang maka aktivitas mikroorganisme tersebut tidak akan memberikan pengaruh pada pertumbuhan tanaman.
- Efektifitas mikroorganisme, tidak semua mikroorganisme memberikan pengaruh positif pada tanaman. Bahkan beberapa diantaranya bisa menjadi parasit. Hanya mikroorganisme tertentu yang bisa dijadikan sebagai pupuk hayati. Sebagai contoh, jenis *Rhizobium* yang bisa menambat nitrogen, atau *Aspergillus niger* sebagai pelarut fosfat.
- Bahan pembawa, fungsinya sebagai media tempat mikroorganisme tersebut hidup. Bahan pembawa harus memungkinkan organisme tetap hidup dan tumbuh selama proses produksi, penyimpanan, distribusi, hingga pupuk siap digunakan.
- Masa kadaluarsa, sebagai mana makhluk hidup lainnya mikroorganisme tersebut memiliki siklus hidup. Apabila mikroorganisme dalam pupuk telah mati, pupuk tersebut tidak bisa dikatakan sebagai pupuk hayati. Untuk memperpanjang siklus hidup tersebut, produsen pupuk biasanya mengemas mikroorganisme tersebut dalam keadaan dorman. Sehingga perlu aktivasi kembali sebelum pupuk diaplikasikan pada tanaman. Pupuk yang benar seharusnya mencantumkan tanggal kadaluarsa dalam kemasannya.

4. Bahan dan Alat :

Alat dan bahan yang diperlukan dalam praktikum ini antara lain:

- Tanah
- Daun bambu kering
- Sekam padi
- Dedak padi
- Wadah berdiameter 50 cm
- Jaring plastik

- Molase
- Gula merah
- Air sumur
- Drum plastik

5. Organisasi :

- 1) Kegiatan praktik dilakukan mahasiswa berkelompok
- 2) Pembuatan biofertilizer dilakukan pada waktu pelaksanaan jam praktikum, sedangkan perlakuan terhadap proses fermentasinya dilakukan diluar jam praktek.
- 3) Setiap kegiatan yang dilakukan selama praktikum dicatat sebagai suatu data, selanjutnya ditulis sebagai laporan praktikum per mahasiswa.

6. Prosedur Kerja :

Tahap Pengisolasian Mikroorganisme menurut Koto (2013), antara lain:

- a) Mengambil satu kg tanah yang berasal dari kedalaman 10-15 cm dari permukaan tanah. Pilih lokasi tanah subur yang bebas dari gangguan manusia, jauh dari pemukiman misalnya dari tanah perkebunan yang terawat dengan baik atau dari hutan yang lebat.



Gambar 3. Tanah Humus

(sumber: Koto, 2013)

- b) Tanah tersebut dicampur dengan satu kg daun bambu kering, 5 kg sekam padi dan 2 kg dedak padi, diaduk rata sambil menuangkan air secukupnya, sekitar 5 liter



Gambar 4. Campuran Tanah, Daun Bambu Kering, Sekam Padi, dan Dedak Padi

(sumber: Koto, 2013)

- c) Masukkan campuran tersebut ke dalam wadah berdiameter 50 cm dengan ketinggian 30 cm. Buat lobang berdiameter 10 cm di tengah-tengah campuran



Gambar 5. Campuran Tanah, Daun Bambu Kering, Sekam Padi, dan Dedak Padi

(sumber: Koto, 2013)

- d) Tutup campuran tersebut dan letakkan di tempat yang teduh selama satu bulan. Aduk campuran tersebut 4 hari sekali dan membuat lobang ventilasi baru.

- e) Proses selesai setelah terbentuknya lapisan serat putih di permukaan campuran.



Gambar 6. Lapisan Serat Putih di Permukaan Campuran

(sumber: Koto, 2013)

Tahap Peningkatan Jumlah Mikroorganisme :

- a) Campuran kering mikroorganisme diaduk rata, kemudian diambil sebanyak 500 gram dan dimasukkan ke dalam jaring plastik.
- b) Campur 15 liter molase (produk sampingan dari hasil pengolahan gula tebu) atau 15 kg gula merah cair ke dalam wadah berisi 75 liter air tanah atau sumur yang bersih.



Gambar 7. Pencampuran Molase, Gula Merah dan Air Sumur

(sumber: Koto, 2013)

- c) Masukkan jaring plastik berisi campuran mikroorganisme tersebut ke dalam wadah.
- d) Aduk merata secara searah.
- e) Tutup wadah dan biarkan selama satu bulan di tempat yang teduh.
- f) Indikator kesuksesan tahap ini adalah larutannya berbau harum, jika berbau busuk berarti prosesnya gagal.



Gambar 8. Biofertilizer
(sumber: Koto, 2013)

7. Tugas dan Pertanyaan :

- 1) Tugas :
 - a) Lakukan tahapan isolasi dan pembuatan pupuk di jam praktikum. Pengamatan prosesnya dilakukan diluar jam praktikum.
 - b) Buatlah Biofertilizer tersebut menjadi pupuk yang dapat dimanfaatkan untuk tanaman agar tumbuh baik
- 2) Pertanyaan :
 - a) Jelaskan pengertian Biofertilizer!
 - b) Jelaskan manfaat penggunaan biofertilizer bagi tanaman!
 - c) Jelaskan bagaimana cara agar tanaman kita tumbuh subur dan terbebas dari serangan hama dan penyakit!

8. Pustaka :

- Kartikawati A, Trisilawati O, Darwati I. 2017. Pemanfaatan Pupuk Hayati (Biofertilizer) pada Tanaman Rempah dan Obat. *Perspektif* Vol. 16 No. 1. Hlm 33-43.
- Koto RA. 2013. Cara Sederhana Membuat Pupuk Hayati Organik (Organic Biofertilizer), <https://www.kompasiana.com/ajuskoto/552ac79af17e61563ed623ce/cara-sederhana-membuat-pupuk-hayati-organik-organic-biofertilizer?page=all>, diakses tanggal 05 November 2019.
- Permentan. 2009. Permentan No. 28 th. 2009: Pupuk organik, pupuk hayati dan pembenah tanah. Bab I. Ketentuan Umum, Pasal 1 ayat 2 dan 5. Hlm. 3.
- Singh, J.S, V.C. Pandey, D.P. Singh. 2011. Efficient soil microorganisms: a new dimension for sustainable agriculture and environmental development. *Agric Ecosyst Environ* 140:339–353.
- Sinha, R.K., D. Valani, K. Chauhan, S. Agarwal. 2014. Embarking on a second green revolution for sustainable agriculture by vermiculture biotechnology using earthworms: reviving the dreams of Sir Charles Darwin. *Int J Agric Health Saf.* 1:50–64.
- Vessey, J. K. 2003. Plant Growth Promoting Rhizobacteria as biofertilizers. *Plant Soil* 255: 571-586.

9. Hasil Praktikum :

HASIL PENGAMATAN :

Buatlah laporan praktik yang telah dilakukan dan dikumpulkan 1 minggu setelah semua pekerjaan selesai dilaksanakan (data dapat disajikan dalam bentuk tabel, gambar, uraian dan penjelasan, disesuaikan dengan data yang ada).

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Minggu ke	: (Pertemuan ke 11 -12)
Capaian Pembelajaran Khusus	: Mahasiswa mampu membuat Biopestisida dari jamur <i>Trichoderma</i> sp.
Waktu	: (2 x 120 menit)
Tempat	: Laboratorium Bioteknologi dan lahan praktek

1. Pokok Bahasan :

Biopestisida

2. Indikator Pencapaian :

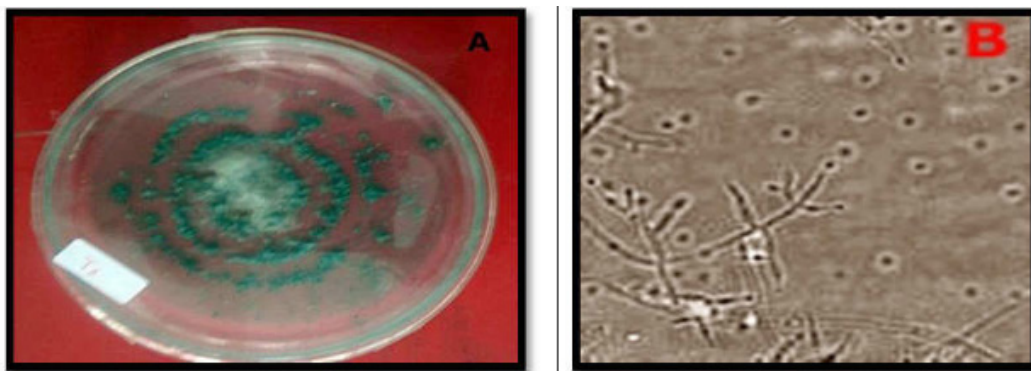
- a. Mahasiswa mampu mengisolasi biang *Trichoderma* sp. dari rumpun bambu (F_0)
- b. Mahasiswa mampu melakukan perbanyakan mikroba (membuat starter *Trichoderma* sp.) (F_1)
- c. Mahasiswa mampu mempraktekkan cara aplikasi biopestisida dari jamur *Trichoderma* sp. di lapangan.

3. Teori :

Penyakit tanaman yang disebabkan oleh jamur patogen sampai saat ini masih merupakan masalah utama di bidang pertanian. Produksi pertanian secara kualitas maupun kuantitas mengalami penurunan yang sangat tinggi, sehingga perlu dilakukan penanggulangan dan pengendalian yang tepat. Dalam pengendalian hama dan penyakit tanaman selain memperhatikan efektivitas dan segi ekonomisnya juga harus mempertimbangkan masalah kelestarian lingkungan.

Saat ini diketahui bahwa *Trichoderma* sp. dapat dipakai untuk mengendalikan berbagai penyakit bawaan pada tanah, sehingga diharapkan dengan penggunaan

agens hayati ini, diharapkan pertanian yang sustainable atau berkelanjutan yang berorientasi kepada kelestarian lingkungan dan meningkatkan hasil produksi pertanian dengan cara menekan input sekecil mungkin. *Trichoderma* sp. adalah cendawan antagonis yang digunakan dalam pengendalian beberapa patogen tular tanah seperti *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopercii* (FOL) (Ambar, 2013), *Sclerotium*, *Rhizoctonia* (Papavizas, 1985), dan *Aspergillus flavus* karena selain mempunyai daya kompetisi yang tinggi, memiliki daya tahan hidup lama dan *Trichoderma* sp. juga bersifat sebagai mikoparasit pada hifa dan tubuh patogen tumbuhan.



Gambar 9: *Trichoderma* sp. (Biakan Jamur *Trichoderma* sp., dan Konidia Jamur *Trichoderma* sp.)

(sumber: Simbololon, 2016)

Trichoderma sp. terlihat sebagian besar berwarna hijau ada di tengah koloni dikelilingi miselium yang masih berwarna putih dan pada akhirnya seluruh medium akan berwarna hijau (Umrah, 1995 dalam Nurhayati, 2001). Penampakan secara mikroskopis isolat ini berwarna hijau, tangkai fialid pendek, konidia berwarna hijau muda (Gambar 3B). Menurut Semangun (2000), *Trichoderma* sp. memiliki konidia bercabang-cabang teratur, bersel satu, dalam kelompok-kelompok kecil terminal, kelompok konidium berwarna hijau biru.

Umumnya *Trichoderma* sp. hidup pada daerah yang agak lembab, sedangkan pada kondisi tanah yang kering populasi *Trichoderma* sp. akan menurun setelah beberapa waktu yang cukup lama. Jamur ini juga menyukai kondisi tanah yang asam dan termasuk peka terhadap sinar atau cahaya langsung (Anggri, 2001).

Trichoderma spp ini bermanfaat sebagai biopestisida, membantu tanaman dalam mendapatkan unsur hara yang dibutuhkan tanaman, membantu dalam memperbaiki struktur tanah, sehingga begitu besar agens hayati ini dalam tanah yang tentunya berguna bagi tanaman.

Trichoderma merupakan genus cendawan yang mampu dijadikan sebagai agens pengendali patogen secara hayati. Mekanisme antagonis yang dilakukan *Trichoderma* sp. dalam menghambat pertumbuhan patogen antara lain kompetisi, parasitisme, antibiosis, dan lisis (Purwantisari & Rini 2009). Menurut Talancaet *et al.* (1998) mekanisme antagonisme *Trichoderma* sp. terhadap cendawan patogen dilakukan dengan mengeluarkan toksin berupa enzim β -1,3 glukonase, kitinase, dan selulase yang dapat menghambat pertumbuhan bahkan dapat membunuh patogen. Sifat antagonis *Trichoderma* sp. dapat dimanfaatkan sebagai alternatif dalam pengendalian patogen yang bersifat ramah lingkungan.

4. Bahan dan Alat :

Alat dan bahan yang digunakan untuk mengisolasi *Trichoderma* dari rumpun bambu, yaitu:

- Nasi basi 1-2 mangkuk (ukuran dapat disesuaikan dengan kebutuhan).
- Bambu 3 ruas (lebih bagus yang baru di tebang)
- Tali / karet untuk pengikat
- Kain bersih
- Sendok bersih
- Toples bersih

Alat dan bahan yang digunakan dalam membuat starter *Trichoderma*, yaitu:

- a) Isolat murni *Trichoderma*
- b) Beras
- c) Air murni
- d) Alkohol
- e) Kantong Plastik bening transaran tebal, ukuran 0,5 kg
- f) Kantong Plastik bening transaran ukuran 3 kg

- g) baki/nampan
- h) dandang
- i) sendok makan
- j) Jarum ose
- k) Laminar air flow

5. Organisasi :

- 1) Kegiatan praktik dilakukan per mahasiswa dari isolasi jamur *Trichoderma* dan perbanyak *Trichoderma*.
- 2) Kegiatan Aplikasi di lahan praktek dilakukan secara kelompok
- 3) Setiap kegiatan yang dilakukan selama praktikum dan hasil kerja dicatat dan dikomentasikan sebagai suatu hasil, selanjutnya ditulis sebagai laporan praktikum per mahasiswa.

6. Prosedur Kerja :

- a. Cara Membuat Biang Jamur *Trichoderma* (F_0), antara lain:
 - Siapkan bambu sepanjang 3 ruas, dari 3 ruas ini hanya ruas tengah nanti yang akan diisi nasi. Sedangkan ruas kanan dan kiri disisakan masing-masing sepanjang 10 cm.
 - Belah bambu menjadi 2 bagian.
 - Buat lubang sebesar jari kelingking diantara batas ruas bambu bagian kanan dan dikiri.
 - Bersihkan bagian dalam bambu sampai benar-benar bersih menggunakan air mengalir (jangan menggunakan air PDAM).
 - Isi 1 bagian belahan bambu dengan nasi yang sudah basi atau nasi yang sudah dibiarkan 1 hari 1 malam (yang diisi adalah bagian ruas tengahnya).
 - Satukan belahan bambu tersebut dan ikat dengan tali plastik atau karet sampai rapat

- Kubur di hutan atau di bawah pohon bambu atau di tanah yang subur/humus sedalam 10-20 cm, tutup kembali dengan tanah dan beri tanda untuk memudahkan pengambilan.
 - Biarkan kurang lebih 10 hari, kemudian ambil dan jika terdapat jamur berwarna putih seperti kapas maka kita sudah mendapatkan miselium *Trichoderma*. Miselium ini nanti akan tumbuh menjadi jamur berwarna hijau.
 - Masukkan isi bambu ke dalam toples yang bersih menggunakan sendok yang juga harus bersih. Tutup toples rapat-rapat dan biarkan miselium berubah menjadi hijau dan kita sudah mendapatkan *Trichoderma* F0 atau bibit *trichoderma sp.*
 - Selanjutnya bibit trichoderma tinggal dibiakkan sampai F1, F2, dan F3.
- b. Cara kerja memperbanyak biang *Trichoderma sp.*, (F1), antarlain:
- Beras dimasak 1/2 masak lebih kurang 30 menit
 - Menghamparkan beras jagung yang telah dikukus di atas nampan/baki sampai dingin. Untuk mempercepat pendinginan dapat digunakan kipas angin
 - Memasukkan masing-masing 100 gram ke dalam kantong plastik, hasil kemasan tersebut dimasukkan lagi ke dalam kantong plastik yang lebih besar, misalnya kapasitas 3 kg
 - Mensterilkan bahan tadi di dalam otoklaf pada temperatur 121°C, tekanan 15 psi dan menjaga konstan selama 60 menit
 - Pada media beras jagung yang steril tersebut dilakukan inokulasi isolat murni agen hayati dengan menggunakan jarum ose. Pelaksanaan dilakukan di dalam boks isolasi secara aseptis
 - Tangan dan sendok yang akan digunakan disterilkan dengan menggunakan alcohol.
 - Plastik beras yang telah diisi beras dimasukan biang *trichoderma* 1/3 sendok
 - Selanjutnya plastik dihektet dan dikocok agar spora jamur dapat tersebar merata pada media jagung

- Menginkubasikan pada suhu kamar selama $\pm$ 2 minggu.
(Purnama *et al.*, 2015).



Gambar 10. Plastik Beras yang Telah diisi Beras dimasukan Biang *Trichoderma*
(Sumber: 8villages-dashboard.s3.amazonaws.com)

Proses pembuatan biang trichoderma ini dikatakan berhasil apabila beras tersebut berubah warna menjadi hijau merata.



Gambar 11. Starter/ Biang *Trichoderma* sp.
(Sumber:indonesiabertanam.com)

Catatan: Proses ini akan menghasilkan *Trichoderma* biang pertama (F1) dan sudah bisa digunakan.

c. Cara Aplikasi *Trichoderma* di lapangan antara lain:

- Membuka tanah sekeliling leher akar sedalam 10 – 15 cm dan radius 20 cm dari pangkal batang, misalnya tanaman tomat.
- Menyebarkan formulasi *Trichoderma* sp ke sekeliling akar. Dapat juga dioleskan pada batang tomat yang terserang penyakit layu *Fusarium*.
- Menutup kembali leher akar dengan tanah bongkaran
- Tanah harus dalam kondisi basah agar jamur berkembang dengan sempurna.
- Dosis yang digunakan adalah 50 gram/ pohon untuk tanaman pada polybag, 100 gram / pohon untuk tanaman yang belum menghasilkan, dan 150 gram / pohon untuk tanaman yang sudah menghasilkan.

Menurut BLH Grobogan (2011), menyebutkan pelaksanaan penggunaan *Trichoderma* sbb. :

- a) Untuk aplikasi *Trichoderma* sp. pada pesemaian dilakukan dengan cara mencampur *Trichoderma* : tanah : pupuk kandang (Tricho-pukan)/kompos (Tricho-kompos) dengan perbandingan 1 : 2 : 1.



Gambar 12. Pembuatan Tricho-kompos

(Sumber: Wati, Cheppy. 2017)

- b) Aplikasi pada pertanaman di lapangan dilakukan dengan cara bersamaan dengan pupuk dasar atau dicampur dengan pupuk kandang dengan dosis 10 – 20 gr jamur *Trichoderma* sp. per lubang atau 140 kg per hektar.

- c) Cara aplikasi pada tanaman tahunan (jeruk, mangga, durian, alpukat dll) dilakukan dengan cara mencampur *Trichoderma* sp dengan pupuk kandang lalu ditaburkan pada lubang di sekitar perakaran dengan dosis 1 – 4 kg per tanaman.

7. Tugas dan Pertanyaan :

1) Tugas :

- a) Lakukan cara kerja pembuatan biang F_0 terlebih dahulu, dilanjutkan dengan perbanyak biang *Trichoderma* (F_1) setelah itu bisa langsung aplikasikan ke tanaman atau dibuat pupuk Tricho-pukan dan Tricho-kompos untuk aplikasi ketanaman sebagai pupuk dasar.
- b) Amati terhadap pertumbuhan mikroba (warna)
- c) Catat waktu pertumbuhan koloni spora pada media tersebut.
- d) Dokumentasikan hasil yang didapat.

2) Pertanyaan :

- a) Jelaskan pengertian mikroba, serta sebutkan jenis mikroba yang bermanfaat!
- b) Jelaskan manfaat dari penggunaan mikroba pada tanaman!
- c) Jelaskan cara perbanyak mikroba yang efektif untuk mikroba jenis jamur!

8. Pustaka :

Ambar, A. A. 2013. Efektivitas waktu inokulasi *Trichoderma viridae* dalam mencegah penyakit layu fusarium tomat (*Lycopersicon esculentum* Mill.) di rumah kaca. Jurnal Fitopatologi Indonesia 7.(1) : 7-11.

Anggri. 2001. Biological of *Trichoderma* spp. CRC. Press Inc. Boca Raton, Florida.

BLH Grobogan, 2011, Kelebihan dan kekurangan agen hayati, <http://blh.grobogan.go.id/artikel/377-kelbihan-dan-kekurangan-agen-hayati.html>, diakses 12 Oktober 2019.

Nurhayati, H. 2001. Pengaruh pemberian *Trichoderma* sp. terhadap daya infeksi dan ketahanan hidup *Sclerotium rofsii* pada akar bibit cabai. Skripsi. Fakultas Pertanian UNTAD, Palu.

- Papavizas, G.G. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, ecology and potential for biocontrol. *Phytopathol.* 23(1): 23 - 54.
- Purnama H, Hidayati N, dan Setyowati E. 2015. Pengembangan produksi pestisida alami dari *Beauveria bassiana* dan *Trichoderma* sp. menuju pertanian organik. *Warta*, Vol .18, No.1: 1 – 9.
- Purwantisari, S & Rini, BH 2009, Uji antagonisme jamur patogen *Phytophthora* infestans penyebab penyakit busuk daun dan umbi tanaman kentang dengan menggunakan *Trichoderma* spp. isolat lokal', *BIOMA*, vol. 11, no. 1, pp. 24-32.
- Semangun, H. 2000. Penyakit-Penyakit Tanaman Pangan di Indonesia. Gajah Mada University Press. Yogyakarta. Hal : 449.
- Simbolob B. 2016. Aplikasi *Trichoderma* sp. Untuk mengendalikan serangan *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopercii* pada Tanaman Tomat Cung (*Lycopersicum esculentum* Mill.). Skripsi. Fakultas Pertanian Universitas Bengkulu. Bengkulu.
- Talanca, AH, Soenartiningih & Wakman W, 1998, 'Daya hambat jamur *Trichoderma* spp. pada beberapa jenis jamur patogen', Risalah Seminar Ilmiah dan Pertemuan Tahunan XI PEI, PFI, dan HPTI, Sulawesi Selatan, Maros, pp. 317-22.
- Wati Cheppy. 2017. Penggunaan pupuk tricho-kompos dan plant growth promoting *rhizobakteria* (PGPR) untuk mengendalikan penyakit rebah kecambah pada tanaman cabai. Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian (STPP) Manokwari. Manokwari.

9. Hasil Praktikum :

HASIL PENGAMATAN

Buatlah laporan praktik yang telah dilakukan dan dikumpulkan 1 minggu setelah semua tahapan pelaksanaan praktikum selesai (data dapat disajikan dalam bentuk gambar, uraian dan penjelasan).

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM

BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Minggu ke	: (Pertemuan ke 13)
Capaian Pembelajaran Khusus	: Mahasiswa mampu membuat Pestisida Hayati (<i>Entomopatogen</i>) dari <i>Beauveria bassiana</i> untuk mengendalikan serangga
Waktu	: (1 x 120 menit)
Tempat	: Laboratorium Bioteknologi

1. Pokok Bahasan :

Pestisida Hayati (*Entomopatogen*)

2. Indikator Pencapaian :

Mahasiswa mampu membuat Pestisida Hayati dari jamur *Beauveria bassiana* sebagai *entomopatogen* serangga.

3. Teori :

Jamur *Beauveria bassiana* merupakan cendawan entomopatogen, yaitu cendawan yang dapat menimbulkan penyakit pada serangga. Jamur ini bersifat saprofit, atau bisa disebut tidak bisa memproduksi makanannya sendiri, maka dari itu jamur *B. bassiana* menjadi parasit dan hidup dari mengambil nutrisi inangnya.

Inang jamur *B. bassiana* adalah serangga. Hampir semua serangga bisa terinfeksi olehnya. *B. bassiana* masuk ke tubuh serangga inang melalui kulit, saluran pencernaan, spirakel dan lubang lainnya. Inokulum jamur yang menempel pada tubuh serangga inang akan berkecambah dan berkembang membentuk tabung kecambah, kemudian masuk menembus kulit tubuh. Penembusan dilakukan secara mekanis dan kimiawi dengan mengeluarkan enzim atau toksin. Pada proses selanjutnya, jamur akan bereproduksi di dalam tubuh inang. Jamur akan

berkembang dalam tubuh inang dan menyerang seluruh jaringan tubuh, sehingga serangga mati (Anonim, 2017).

Miselium jamur menembus ke luar tubuh inang, tumbuh menutupi tubuh inang dan memproduksi konidia. Dalam hitungan hari, serangga akan mati. Serangga yang terserang jamur *B. bassiana* akan mati dengan tubuh mengeras seperti mumi dan jamur menutupi tubuh inang dengan warna putih. Karena cara kerjanya yang cukup efektif dan cepat, *B. bassiana* banyak digunakan sebagai agen hayati pembasmi hama wereng coklat, walang sangit, hama penggerek batang dll.

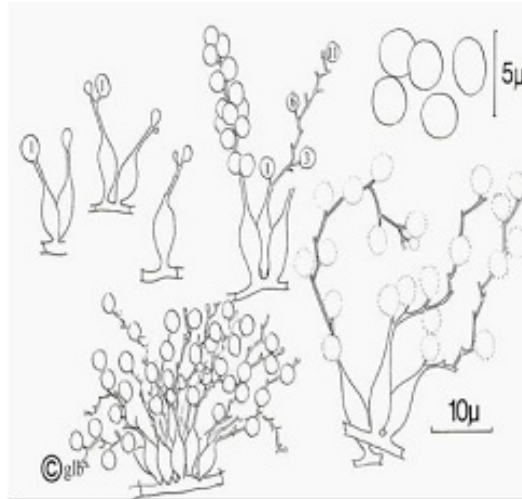
Beauveria bassiana merupakan parasit agresif untuk berbagai jenis serangga dan menyerang baik dalam tahapan larva maupun usia serangga dewasa. Spora *B. bassiana* sangat kecil, hanya beberapa micron. Hifa dan spora tidak berpigmen sehingga koloni tampak berwarna putih (Roberto *et al.*, 1990).



Gambar 13. Contoh Serangga-Serangga yang Terinfeksi *Beauveria bassiana*

(sumber: Suwahyono dan Wahyudi, 2008).

Secara alami, *B. bassiana* terdapat di dalam tanah sebagai jamur saprofit. Kondisi tanah seperti kandungan bahan organik, suhu, kelembaban, dan pola makan serangga dapat mempengaruhi pertumbuhan jamur di dalam tanah. Karena sifat-sifat inilah maka isolat *B. bassiana* dikenal sebagai biofungisida alami.



Gambar 14. Susunan Spora dan Morfologi *B. bassiana*

sumber : (University of Guelph, 2013)

Agen hayati memiliki banyak kelebihan, yaitu:

- ✓ Bersifat selektif. Artinya agen hayati hanya akan menyerang hama penyakit sasaran dan mikroba dalam agen hayati tidak akan menyerang organisme yang bermanfaat bagi tanaman.
- ✓ Mampu mencari sasaran sendiri. Agen hayati adalah makhluk hidup yang bersifat patogen bagi organisme pengganggu sehingga agen hayati mampu secara alami menemukan hama dan penyakit sasarannya.
- ✓ Tersedia di alam. Secara alami agen hayati sudah tersedia di alam, namun karena penggunaan pestisida yang tidak sesuai menyebabkan keseimbangan ekosistem mulai goyah dan populasinya terganggu.
- ✓ Tidak ada efek samping. Produk tanaman yang dihasilkan tidak terkontaminasi bahan kimia.
- ✓ Relatif murah.

Namun selain kelebihan-kelebihan di atas, agen hayati juga memiliki kekurangan-kekurangan, yaitu:

- 1) Bekerja lambat. Kondisi ini seringkali menyebabkan petani tidak sabar menunggu hasilnya dan menganggap agen hayati tidak manjur sehingga petani kembali beralih ke pestisida kimiawi.

- 2) Sulit diprediksi hasilnya.
- 3) Perkembangbiakan agen hayati setelah diaplikasikan sangat dipengaruhi oleh ekosistem pada saat pengaplikasian. Jika kondisinya mendukung, maka pertumbuhan agen hayati akan maksimal.
- 4) Kurang cocok digunakan untuk usaha kuratif, apalagi saat terjadi ledakan hama karena agen hayati bekerja lambat. Agen hayati lebih optimal jika digunakan untuk usaha preventif karena membutuhkan waktu untuk pertumbuhannya.
- 5) Sulit dikembangkan secara missal untuk jenis agen hayati tertentu.
- 6) Penggunaan agen hayati harus sesering mungkin.

4. Bahan dan Alat :

Alat dan Bahan yang dibutuhkan untuk mendapatkan jamur *Beauveria bassiana*, antara lain:

- Cangkul
- Toples ukuran 1kg
- Ayakan
- Kain hitam
- Ulat hongkong/larva *T. molitor*
- Tanah lembab di sekitar pohon pisang

5. Organisasi :

- 1) Kegiatan praktik dilakukan per mahasiswa
- 2) Setiap kegiatan yang dilakukan selama praktikum dicatat sebagai suatu data, selanjutnya ditulis sebagai laporan praktikum per mahasiswa.

6. Prosedur Kerja :

- a. Cara membuat isolat (F_0):
 - Cangkul dan bersihkan permukaan tanah di sekitar pohon pisang sekitar 0-5 cm.

- Gali dan ambil sekitar 500 gr dari lapisan 5-20 cm permukaan tanah karena pada horizon ini diperkirakan banyak terdapat inokulum *B. bassiana*.



Gambar 15. Lapisan Tanah yang Mengandung Inokulum *B. bassiana*.

sumber : (Anonim, 2017)

- Ayak tanah agar kerikil dan sampah lain tidak terikut. Lalu tanah hasil ayakan dimasukkan ke dalam toples. Jangan padatkan tanah yang di dalam toples agar ulat dapat bergerak bebas di dalam. Pastikan bahwa kelembaban tanah tidak berkurang
- Masukkan ulat hongkong ke dalam toples, kemudian tutup toples dengan kain hitam. Tunggu hingga 3-4 hari, lalu keluarkan ulat dari tanah. Di hari ke 6-7 akan terlihat jamur *B. bassiana* berwarna putih di permukaan ulat.



Gambar 16. Ulat Hongkong yang Terinfeksi Jamur *B. bassiana*.

sumber : (Anonim, 2017)

- Ulat digunakan sebagai isolat jamur.

Catatan: cara memperbanyak jamur *B. bassiana* (F_1) sama dengan cara kerja untuk memperbanyak jamur *Trichoderma* sp. (lihat bab sebelumnya).

b. Cara Aplikasi *B. bassiana* di lapangan antara lain:

- Ambil salah satu beras dalam plastik yang telah ditumbuhi meselium *Beauveria bassiana*
- Cuci dengan air 1 liter dengan cara diremas-remas sampai bersih
- Saring dengan kain, ambil air cuciannya.
- Campurkan air tersebut dengan air 14 - 17 liter dan masukkan kedalam tangki sprayer.
- Semprotkan ke tanaman dengan frekuensi 1 minggu sekali. Jika serangan berat bisa seminggu 2 kali.
- Jangan lupa nyemprotnya sore hari ya, karena kalau siang hari jamur *Beauveria bassiana* akan mati kepanasan. (Aji, 2017).

7. Tugas dan Pertanyaan :

1) Tugas :

- Lakukan carakerja isolasi *Beauveria bassiana* F_0 terlebih dahulu, dilanjutkan dengan perbanyakkan biang *Beauveria bassiana* (F_1) setelah itu bisa langsung aplikasikan ke tanaman.
- Amati terhadap pertumbuhan mikroba (warna)
- Catat waktu pertumbuhan koloni spora pada media tersebut.
- Dokumentasikan hasil yang didapat.

2) Pertanyaan:

- Jelaskan perbedaan antara jamur *Beauveria bassiana* dengan *Trichoderma* sp.
- Jelaskan manfaat penggunaan jamur *Beauveria bassiana* bagi tanaman!

- c) Jelaskan bagaimana cara pengaplikasian jamur *Beauveria bassiana* sebagai biopestisida bagi tanaman!

8. Pustaka :

Aji W. 2017. Cara sederhana mengembangkan Insektisida biologi dari jamur *Beauveria bassiana*, <https://kabartani.com/cara-sederhana-mengembangkan-insektisida-biologi-dari-jamur-beauveria-bassiana.html>, diakses Tanggal: 05 Oktober 2019.

Anonim. 2017. Insektisida Bernama Jamur *Beauveria bassiana*. <https://8villages.com/full/petani/article/id/5981941ad8734be45995e8e4>, diakses Tanggal: 05 Oktober 2019.

Carpenter MA, Ridgway HJ, Stringer AM, Hay AJ, Stewart A. 2008. Characterisation of a *Trichoderma hamatum* monooxygenase gene involved in antagonistic activity against fungal plant pathogens. *Curr Genet* 53:193-205.

Roberto, M.P. dan W.R. Donald.1990. Dray Mycelium Praparation of Entomophatogenic Fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*, *J. Invertebrate Phatology*, 56, 39-46, Academic Press, Inc.

Suwahyono, U., dan P. Wahyudi. 2008. Produksi dan Formulasi Bioinsektisida dari Propagul Aktif Jamur *Beauveria bassiana*, *J. Tek. Ling*, 9(1), 85-91.

University of Guelph, Canada. 2013. *Beauveria bassiana*, <http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/nov01.htm>, diakses 15 oktober 2019.

9. Hasil Praktikum :

HASIL PENGAMATAN

Buatlah laporan praktik yang telah dilakukan dan dikumpulkan 1 minggu setelah semua tahapan pelaksanaan praktikum selesai (data dapat disajikan dalam bentuk gambar, uraian dan penjelasan).

BUKU PETUNJUK PRAKTIKUM BIOTEKNOLOGI PERTANIAN

Minggu ke	: (Pertemuan ke 14-15)
Capaian Pembelajaran Khusus	: Mampu Membuat dan memperbanyak <i>Plant Growth Promoting Rhizobacteria</i> (PGPR)
Waktu	: (2 x 120 menit)
Tempat	: Laboratorium Bioteknologi

1. Pokok Bahasan :

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR)

2. Indikator Pencapaian :

- a. Mahasiswa mampu membuat Biang *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR)
- b. Mahasiswa mampu memperbanyak *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR)

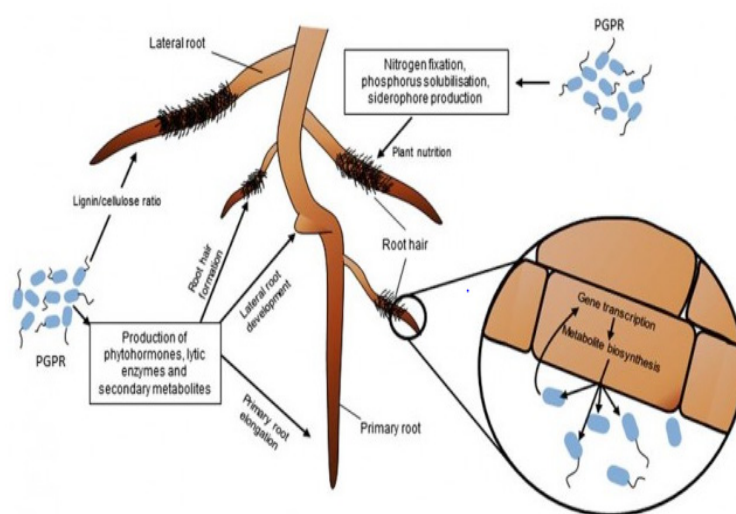
3. Teori :

Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) adalah sejenis bakteri yang menguntungkan yang hidup di sekitar perakaran tanaman dimana bakteri ini memberi keuntungan dalam proses fisiologi tanaman dan pertumbuhannya. Jika di daerah perakaran suatu tanaman kekurangan mikroorganisme menguntungkan maka akan menyebabkan tanaman menjadi terserang berbagai macam penyakit akar seperti layu dan busuk akar. Selain itu tanaman juga akan mengalami hambatan dalam pertumbuhannya (kurang subur).

Bakteri pemacu pertumbuhan tanaman atau *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) adalah bakteri yang mengkoloni perakaran tanaman dan bermanfaat bagi pertumbuhan tanaman. bakteri ini hidup dan berkembang dengan memanfaatkan eksudat yang dikeluarkan oleh perakaran tanaman. jika di

lahan sedang tidak ada tanaman, bakteri ini mampu memanfaatkan bahan-bahan organik yang berada di dalam tanah untuk bertahan hidup (Nawas, 2017).

PGPR ini pertama kali diteliti oleh Kloepper dan Schroth tahun 1978, dimana mereka menemukan bahwa keberadaan bakteri yang hidup di sekitar akar ini mampu memacu pertumbuhan tanaman jika diaplikasikan pada bibit/benih. Tidak hanya itu, tanaman nantinya akan beradaptasi terhadap hama dan penyakit. Beberapa jenis mikroba yang termasuk dalam kelompok PGPR adalah *Azotobacter sp.*, *Azospirillum sp.*, *Pseudomonas sp.*, *Bacillus sp.*, dan *Acetobacter sp* (Singh, 2013).



Gambar 17. Akar Tanaman yang Bersimbiosis dengan Mikroba Antagonis
(sumber: organichcs.com)

Mekanisme PGPR dalam meningkatkan kesuburan tanaman dapat terjadi melalui 3 cara (Amalia, 2007), yaitu:

- a. Menekan perkembangan hama/penyakit (*bioprotectant*): mempunyai pengaruh langsung pada tanaman dalam menghadapi hama dan penyakit;
- b. Memproduksi fitohormon (*biostimulant*): **IAA (*Indole Acetic Acid*); Sitokinin; Giberellin; dan penghambat produksi etilen: dapat menambah luas permukaan akar-akar halus;**
- c. Meningkatkan ketersediaan nutrisi bagi tanaman (*biofertilizer*).

Bila penyerapan unsur hara dan air yang lebih baik dan nutrisi tercukupi, maka menyebabkan kebugaran tanaman juga semakin baik, sehingga akan semakin meningkatkan ketahanan tanaman terhadap tekanan-tekanan, baik tekanan biologis (OPT) maupun non biologis (Iklim).

Aplikasi PGPR dapat dilakukan melalui pelapisan benih dan perendaman benih dalam suspensi. Bakteri PGPR merupakan bakteri tanah yang masa hidupnya tidak panjang karena itu perlu mengembalikan populasinya setiap akan menebar benih. Menurut Bowen and Rovira (1999), media perkecambah yang digunakan harus memiliki kemampuan untuk menahan air, bersih dan bebas dari benih lain, cendawan, bakteri atau zat beracun yang dapat mempengaruhi perkecambahan benih dan pertumbuhan kecambah, untuk media tanah dan pasir harus dalam keadaan yang cukup seragam dan sebelum digunakan perlu dicuci dan disterilisasi.

Bibit akan tumbuh dengan baik di lapang jika kecambah tumbuh dengan baik pada fase perkecambahan. Penggunaan media perkecambahan yang tepat akan memudahkan kecambah untuk menembus permukaan media. Pada pengujian daya berkecambah benih maka akan dihitung persentase daya berkecambahnya (Raybum, 1993).

Berikut kelebihan dari PGPR (Desmawati, 2008), diantaranya :

- 1) Menambah fiksasi nitrogen di tanaman kacang – kacangan
- 2) Memacu pertumbuhan bakteri fiksasi nitrogen bebas

- 3) Meningkatkan ketersediaan nutrisi lain seperti fosfat, belerang, besi dan tembaga
- 4) Memproduksi hormon tanaman
- 5) Menambah bakteri dan cendawan yang menguntungkan
- 5) Mengontrol hama dan penyakit tumbuhan

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Cheppy Wati (2017). *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) mampu menekan pertumbuhan penyakit rebah pada tanaman cabai 100%; dan dapat meningkatkan pertumbuhan vegetative tanaman, seperti tinggi tanaman, lebar daun dan jumlah daun tanaman cabai. Ada beberapa kekurangan dalam produksi PGPR ini, (Desmawati, 2008), diantaranya:

- a) Kekonsistenan pengaruh bakteri PGPR di laboratorium dengan di lapangan kadang –kadang berbeda.
- b) Bakteri ini harus dapat diperbanyak dan diproduksi dalam bentuk yang optimum baik vialibilas maupun biologinya selama diaplikasikan di lapangan. Beberapa bakteri PGPR harus dilakukan re-inokulasi setelah diaplikasikan di lapangan seperti *Rhizobia*
- c) Tantangan lainnya berkaitan dengan regulasi / kebijakan suatu negara. Di beberapa negara kontrol terhadap produksi agens antagonis ini sangat ketat. Walaupun produk tersebut tidak berefek negatif pada manusia.

4. Bahan dan Alat :

Alat dan bahan untuk membuat biang PGPR, antara lain:

- Akar tumbuhan (akar bambu, akar rumput gajah, akar rumput putri malu, akar kacang-kacangan, dll) masing-masing sebanyak 2 ons
- Air sumur 1 liter
- Plastik penutup
- Mortar untuk menumbuk
- Karet gelang untuk menutup toples

- Alat pencacah/ parang,
- Cangkul
- Baskom,
- Timbangan
- Toples kaca.

Alat dan bahan untuk memperbanyak PGPR, antara lain:

- Biang PGPR 1 Gelas
- Air sumur 10 liter
- Dedak 6 gelas
- Gula pasir 3 sendok makan
- Kapur sirih seujung sendok teh
- Terasi 1 ibu jari
- Kompor
- Wajan besar ukuran 10 liter air
- Ember ukuran 15 liter
- Corong
- Karet ban untuk menutup ember
- Plastik penutup
- Saringan
- Derigen ukuran 15 liter
- Pengaduk

5. Organisasi :

- 1) Kegiatan praktik dilakukan mahasiswa Perkelompok, setiap kelompok terdiri dari 5-6 orang.
- 2) Masing-masing kelompok mencari bahan dari akar tanaman yang berbeda (akar bambu, akar rumput gajah, akar rumput putri malu, akar kacang-kacangan, dll).

- 3) Setiap kelompok mengerjakan praktikum sesuai dengan cara kerja dengan bahan akar tanaman sesuai dengan pembagian masing-masing kelompok
- 4) Setiap kegiatan yang dilakukan selama praktikum dicatat sebagai suatu data, selanjutnya ditulis sebagai laporan praktikum per mahasiswa.

6. Prosedur Kerja :

a. Cara kerja praktikum untuk pembuatan biang PGPR antara lain:

- 1) Ambil akar bambu yang pohon bambunya masih hidup
- 2) Cuci akar dengan air mengalir sampai bersih



Gambar 18. Akar tanaman

(sumber: lsmorganik.files.wordpress.com)

- 3) Rebus air hingga mendidih lebih kurang 1 liter (pada saat mendidih volume air 1 liter)
- 4) Dinginkan air rebusan
- 5) Masukkan air yang telah dingin kedalam toples
- 6) Akar ditumbuk hingga akarnya pecah dan getah dari akar keluar
- 7) Masukkan akar pohon bambu ke dalam toples yang telah berisi air 1 liter, tutup rapat



Gambar 19. Perendaman Akar Bambu untuk Pembuatan Biang PGPR

(Sumber: Wati Cheppy, 2017)

- 8) Tunggu 3 x 24 jam atau 3 hari untuk mendapatkan biang PGPR (amati setiap hari jika timbul gelembung pada air maka PGPR berhasil dibiakan)
 - 9) Simpan pada suhu ruang (terhindar dari sinar matahari)
- b. Cara kerja praktikum untuk pengembangbiakan PGPR, antara lain:
- 1) Rebus air masukan semua bahan yang ada (dedak, terasi, gula, kapur sirih).



Gambar 20. Cara perbanyak PGPR

(Sumber: Wati Cheppy, 2017)

- 2) Selama direbus sambil diaduk agar bahan tidak mengendap
- 3) Setelah mendidih air rebusan diangin-anginkan/ didinginkan
- 4) Biang PGPR disaring



Gambar 21. Biang PGPR
(Sumber: Wati Cheppy, 2017)

- 5) air rebusan disaring dan diperas sisa bahan yang ada
- 6) air rebusan dimasukkan kedalam ember
- 7) tambahkan 1 gelas biang PGPR kedalam air rebusan sambil diaduk
- 8) tutup dengan plastik hingga rapat
- 9) fermentasikan selama 1 minggu
- 10) PGPR siap diaplikasikan ke tanaman (PGPR yang sudah jadi berbau tape)



Gambar 22. *Plant Growth Promoting Rhizobakteria* (PGPR)
(Sumber: Wati Cheppy, 2017)

Catatan: Adapun cara aplikasi PGPR adalah sebagai berikut:

- ✓ PGPR Untuk perlakuan benih. Benih yang dibeli dari toko dan diduga mengandung pestisida cuci dulu sampai bersih hingga 3 – 4 kali. Rendam benih dalam larutan PGPR dengan konsentrasi 10 ml per liter air selama 10 menit hingga 8 jam tergantung jenis benihnya. Kemudian kering anginkan di tempat yang teduh sebelum dilakukan penanaman.



Gambar 23. Perlakuan Perendaman Benih dengan PGPR

(Sumber: Wati Cheppy, 2017)

- ✓ PGPR Untuk perlakuan bibit. Jika untuk perlakuan bibit dan stek atau biakan vegetatif lain tinggal direndam beberapa saat saja lalu langsung ditanam. Konsentrasi yang diperlukan adalah 10 ml per liter air.



Gambar 24. Aplikasi PGPR pada Bibit Tanaman

(Sumber: Wati Cheppy, 2017)

PGPR Untuk perlakuan pada tanaman. 1.) Untuk Tanaman Padi : gunakan PGPR sebanyak 12 ml/liter pada 3 hari sebelum tanam , 15 hst, 30 hst dan 45 hst dengan cara disemprotkan dengan volume semprot rendah (boros/tidak berkabut), 2.) Untuk tanam hortikultura : kocorkan PGPR sebanyak 12 ml/l air setiap 7- 10 hari sekali. 3.) Untuk tanam keras : kocorkan PGPR sebanyak 17 ml/l air tiap 1 bulan sekali. 4.) Aplikasi dianjurkan pada sore hari setelah pukul 15.00 WIB atau pada pagi hari sebelum pukul 09.00 WIB (<http://media-pgpr.blogspot.com/2017/03/panduan-cara-membuat-bakteri-pgpr.html>).

7. Tugas dan Pertanyaan :

- 1) Tugas :
 - a) Lakukan praktek sesuai dengan cara kerja yang tertulis di atas.
 - b) masing-masing kelompok mencari bahan berupa akar dari tanaman yang berbeda
 - c) Catat dan dokumentasikan semua kegiatan yang telah dilakukan sebagai suatu data yang akan di buat ke dalam laporan.
- 2) Pertanyaan :
 - a) Apa itu *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR)!
 - b) Jelaskan manfaat dari *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) bagi tanaman!
 - c) Jelaskan bagaimana cara aplikasi *Plant Growth Promoting Rhizobacteria* (PGPR) pada benih tanaman!

8. Pustaka :

- Amalia, R. 2007. Pengaruh Perlakuan Benih Menggunakan Rizobakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman (RPPT) dan Pemupukan P terhadap Pengendalian Penyakit Antraknosa, serta Pertumbuhan Cabai Merah (*Capsicum annuum* L.). Skripsi. Fakultas Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor. 45 hal.
- Anonim. 2017. Panduan cara membuat PGPR. (<http://media-pgpr.blogspot.com/2017/03/panduan-cara-membuat-bakteri-pgpr.html>), diakses tanggal 10 Oktober 2019.

- Bowen, G. D., and Rovira, A. D. 1999. The rhizosphere and its management to improve plant growth. *Adv. Agron.* Desmawati, 2008. Pemanfaatan Plant Growth Promoting Rhizobacter (PGPR) prospek yang menjanjikan dalam berusaha tani tanaman hortikultura. <http://ditlin.hortikultura.go.id/tulisan/desmawati.htm>, diakses tanggal: 06 oktober 2019.
- Kloepper, J.W., & Schroth, M.N. 1978. Plant Growth Promoting Rhizobacteria on radish. 879-882. Dalam. *Proc. 4th into Conf. PlantPathogenic Bact.* Gibert-Clairey, Tours, Franco Rayburn, E.B. 1993. Plant Growth and Development as the Basis of Forage. <http://saktiofti.blogspot.co.id/2014/04/pembuatan-pgpr-plant-growth-promoting.html>, diakses tanggal: 06 oktober 2019.
- Nawas, Abu. 2017. PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria), Bakteri Pemacu Pertumbuhan Tanaman. <http://agrogreenland.blogspot.co.id/2014/03/pgpr-plant-growth-promoting.html>. Diakses tanggal 12 oktober 2019.
- Singh, Jay Shankar. 2013. Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR); Potential Microbes for Sustainable Agriculture. *Resonance*.
- Wati Cheppy. 2017. Penggunaan pupuk tricho-kompos dan plant growth promoting rhizobakteria (PGPR) untuk mengendalikan penyakit rebah kecambah pada tanaman cabai. Sekolah Tinggi Penyuluhan Pertanian (STPP) Manokawari. Manokwari.

9. Hasil Praktikum :

HASIL PENGAMATAN

Buatlah laporan praktik yang telah dilakukan dan dikumpulkan 1 minggu setelah semua tahapan pelaksanaan praktikum selesai (data dapat disajikan dalam bentuk gambar, uraian dan penjelasan).

