

PETUNJUK PRAKTIKUM

M.K. MIKROBIOLOGI PERTANIAN

SEMESTER AGUSTUS 2014 - JANUARI 2015

PROGRAM STUDI AGROTEKNOLOGI

Disusun oleh :

Dosen Kordinator M.K. Mikrobiologi Pertanian 2014 (T & P)

Prof. Dr. Agr. Sc. Ir. Vita Ratri Cahyani, MP.

Dosen Pengampu Kelas:

Kelas A:

Prof.Dr.Agr.Sc.Ir. Vita Ratri Cahyani, MP

Kelas B:

Prof.Dr.Ir. Purwanto, MS

Dr. Ir. Widyatmani Sih Dewi, MP

Kelas C:

Dr. Ir. Sudadi, MP

Kelas D:

Dr. Ir. Widyatmani Sih Dewi, MP

Kelas E:

Dr. Ir. Supriyadi, MP

Kelas Internasional:

Prof.Dr.Agr.Sc.Ir. Vita Ratri Cahyani, MP

Dr. Ir. Sudadi, MP

Laboran:

Darsono

Co-Asisten Praktikum M.K. Mikrobiologi Pertanian:

Kordinator: Muhammad Ardian N

- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| 1. Achmad Adi Surya S | 5. Dewi Rastikawati |
| 2. Nurma Saraswati | 6. Nestri Yuniardi |
| 3. Renita Ratna Prahesti | 7. Trianto Idham Wardono |
| 4. Bramasta Dwi Putra | 8. Arikhna Rizqiya |



LABORATORIUM BIOLOGI DAN BIOTEKNOLOGI TANAH
FAKULTAS PERTANIAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET
SURAKARTA
2014

KATA PENGANTAR

Mikrobiologi Pertanian merupakan dasar pengetahuan yang sangat penting bagi setiap mahasiswa yang mempelajari dunia pertanian, karena ilmu pengetahuan ini mengupas tentang peranan jasad renik pada dunia pertanian, baik yang bersifat menguntungkan maupun merugikan. Kemajuan, perkembangan dan inovasi di dunia pertanian tidak terlepas dari Mikrobiologi Pertanian, oleh karena itu hendaknya kita tidak memandang sebelah mata seluruh cabang ilmu begitu pula Mikrobiologi Pertanian ini.

Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi Pertanian ini disusun sebagai panduan, supaya memperlancar pelaksanaan praktikum, dan membantu mahasiswa lebih memahami dan menghayati praktikum yang sedang dilakukan.

Buku petunjuk praktikum ini senantiasa mengalami perubahan, menyesuaikan dengan perkembangan Ilmu Pengetahuan yang ada. Dengan demikian kami berharap kiranya praktikum Mikrobiologi Pertanian dapat berguna bagi mahasiswa dalam melengkapi pemahaman tentang sistem ilmu pengetahuan secara komprehensif, serta memberikan sumbangan positif bagi perkembangan Ilmu Pengetahuan.

Surakarta, Agustus 2014

Penyusun

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL.....	i
KATA PENGANTAR	ii
DAFTAR ISI	iii
NORMA AKADEMIK DAN TATA TERTIB PRAKTIKUM	iv
SUSUNAN ACARA PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PERTANIAN	vi
ACARA I. PENGENALAN ALAT, BEKERJA ASEPTIK, STERILISASI, DAN PEMBUATAN MEDIA.....	1
ACARA II. ANALISA MIKROBIOLOGI UNTUK BAKTERI DAN FUNGI	10
ACARA III.ANALISA ALGAE DAN PROTOZOA DARI ALAM.....	17
ACARA IV.PENGENALAN MESOFAUNA, MAKROFAUNA, DAN MIKORIZA	22
ACARA V. MIKROBIOLOGI TERAPAN	26
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	
LAMPIRAN 1.DAFTAR CO-ASISTEN PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PERTANIAN 2014	
LAMPIRAN 2.DAFTAR PRAKTIKAN PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PERTANIAN 2014	
LAMPIRAN 3.DAFTAR KELOMPOK SERTA CO-ASISTEN PENDAMPING PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PERTANIAN 2014	

NORMA AKADEMIK DAN TATA TERIB PRAKTIKUM

A. Norma Akademik Praktikum

1. Mahasiswa wajib mengikuti semua acara dan evaluasi
2. Praktikan mengikuti kaidah-kaidah tata tertib praktikum.
3. Praktikan wajib memenuhi semua aspek penilaian yang meliputi *post test*, *pre test*, laporan praktikum, dan responsi (tertulis dan wawancara).

B. Tata Tertib dan Keamanan Praktikum

1. Praktikan wajib hadir 15 menit sebelum praktikum dimulai.
2. Tas dan perlengkapan lain yang tidak diperlukan harap diletakkan di tempat yang telah di sediakan.
3. Praktikan dan co-ass wajib mengenakan jas praktikum.
4. Praktikan wajib mengikuti pre-test yang diadakan pada setiap awal praktikum. Batas bawah nilai lulus adalah 70.
5. **Praktikan wajib membawa masker, sarung tangan, tissue, serbet kain, pipet drop kaca, sprayer isi alkohol 75%, kertas label, nampan, dan sabun cair (sunlight) serta botol untuk tempatnya pada setiap praktikum.**
6. Praktikan tidak diperkenankan merokok, makan dan minum di dalam laboratorium, serta HP harap disilent.
7. Praktikan dilarang meninggalkan ruangan, kecuali seijin co-assisten.
8. Praktikan bertanggungjawab atas segala kerusakan alat akibat kelalaian praktikan.
9. Praktikan wajib membuat laporan sementara pada **log book** dan harus disahkan oleh co-assisten.
10. Sebelum dan sesudah bekerja, meja praktikum dibersihkan dengan desinfektan.
11. Praktikan berambut panjang harus mengikat rambutnya sedemikian rupasehingga tidak mengganggu kerja dan menghindari dari hal-hal yang tidak diinginkan.
12. Laporkan segera jika terjadi kecelakaan seperti kebakaran, biakan tumpah ada yang menelan bahan kimia, atau biakan kepada asisten
13. Penggunaan semua alat dan bahan harus sesuai dengan prosedur.
14. Sebelum meninggalkan laboratorium disarankan untuk mencuci tangan dengan seksama.
15. **PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PERTANIAN TIDAK MENGADAKAN PRAKTIKUM SUSULAN**

SUSUNAN ACARA PRAKTIKUM MIKROBIOLOGI PERTANIAN

Acara	Pertemuan ke-							
	1	2	3	4	5	6	7	8
1. Pengenalan Alat, Bekerja secara Aseptik, Sterilisasi Alat, dan Pembuatan Media								
2. Analisa Mikrobiologi untuk Bakteri dan Fungi								
3. Analisa Mikrobiologi Algae dan Protozoa								
4. Pengenalan Mesofauna, Makrofauna, dan Mikoriza								
5. Mikrobiologi Terapan								
6. Remediasi								
7. Pengumpulan Laporan								
8. Responsi								

ACARA I

PENGENALAN ALAT, BEKERJA SECARA ASEPTIK, STERILISASI, DAN PEMBUATAN MEDIA

A. Pendahuluan

1. Bekerja Secara Aseptik dan Sterilisasi

Dunia pertanian memiliki berbagai aspek yang dapat dikaji. Salah satunya adalah dalam bidang mikrobiologi. Bekerja secara aseptik adalah prinsip paling utama dalam aktivitas pengamatan yang berhubungan dengan mikrobia. Kesterilan ruangan, pengguna, alat, dan bahan-bahan mutlak dibutuhkan karena mikrobia tersebut berukuran sangat kecil, tidak kasat mata, mudah tersebar, dapat hidup dimana saja sehingga dibutuhkan suatu keadaan yang benar-benar steril. Steril sendiri merupakan syarat mutlak keberhasilan kerja dalam laboratorium mikrobiologi. Teknik-teknik tertentu diperlukan agar sterilisasi dapat dilakukan secara sempurna, dalam arti tidak ada mikroorganisme lain yang mengkontaminasi media.

Sterilisasi dalam mikrobiologi merupakan suatu proses untuk mematikan semua organisme yang terdapat pada atau di dalam suatu benda. Hal-hal yang dilakukan ketika pertama kalinya melakukan pemindahan biakan bakteri secara aseptik, sesungguhnya hal itu telah menggunakan salah satu cara sterilisasi, yaitu pembakaran. Di lain sisi, ada beberapa peralatan dan media yang umum dipakai di dalam pekerjaan mikrobiologi yang menjadi rusak apabila dibakar. Tiga cara utama yang umum dipakai dalam sterilisasi yaitu penggunaan panas, bahan kimia, dan penyaringan atau filtrasi (Hadioetomo 1985)

2. Macam-macam sterilisasi

Prinsip dalam sterilisasi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu secara mekanik, fisik, dan kimiawi.

- a. Sterilisasi secara mekanik (filtrasi) menggunakan suatu saringan yang berpori sangat kecil (0.22 mikron atau 0.45 mikron) sehingga mikroba tertahan pada saringan tersebut. Proses ini ditujukan untuk sterilisasi bahan yang peka panas, misalnya larutan enzim dan antibiotik.

b. Sterilisasi secara fisik dapat dilakukan dengan pemanasan & penyinaran.

1) Pemanasan

- a) Pemijaran (dengan api langsung): membakar alat pada api secara langsung, contoh alat jarum inokulum, pinset, batang L, dll.
- b) Panas kering: sterilisasi dengan oven kira-kira 60-180⁰C. Sterilisasi panas kering cocok untuk alat yang terbuat dari kaca misalnya erlenmeyer, tabung reaksi, dll.
- c) Uap air panas: konsep ini mirip dengan mengukus. Bahan yang mengandung air lebih tepat menggunakan metode ini supaya tidak terjadi dehidrasi.
- d) Uap air panas bertekanan: menggunakan autoklaf

2) Radiasi

- a) Sinar Ultra Violet (UV) juga dapat digunakan untuk proses sterilisasi, misalnya untuk membunuh mikroba yang menempel pada permukaan interior *Biological Safety Cabinet (BSC)* atau *Laminar Air Flow (LAF)* dengan disinari lampu UV.
- b) Gamma bersumber dari C_u60 dan C_s137 dengan aktivitas sebesar 50-500 kilo curie serta memiliki daya tembus sangat tinggi. Dosis efektifitasnya adalah 2,5 MRad. Gamma digunakan untuk mensterilkan alat-alat yang terbuat dari logam, karet serta bahan sintesis seperti polietilen (Hadioetomo 1985).
- c. Sterilisasi secara kimiawi biasanya menggunakan senyawa desinfektan. Desinfektan adalah suatu bahan kimia yang dapat membunuh sel-sel vegetatif dan jasad renik, bersifat merusak jaringan. Prosesnya disebut desinfeksi. Contoh: alkohol, fenol, halogen.

3. Pembuatan Media

Medium merupakan suatu bahan yang terdiri atas campuran zat makanan (*nutrient*) yang berfungsi sebagai tempat tumbuh mikrobia. Selain untuk menumbuhkan mikrobia, medium dapat digunakan juga untuk isolasi, memperbanyak, pengujian sifat-sifat fisiologi, dan perhitungan jumlah mikrobia. Syarat-syarat suatu medium harus memenuhi hal-hal sebagai berikut: mengandung nutrisi yang diperlukan mikrobia, memiliki tekanan osmosis, pH, tegangan permukaan yang sesuai, tidak mengandung zat penghambat (*inhibitor*), dan steril.

Media dapat digolongkan berdasarkan bentuk, susunan kimia, dan fungsinya. Berdasarkan bentuk atau konsistensinya media terdiri dari:

- a. Media padat (*solid medium*) berbentuk padat, tidak mengandung agen cair.
- b. Media cair (*liquid medium*) berbentuk cair, media ini dapat berupa bahan organik alamiah (yang dibuat dari kentang, wortel), atau dapat juga berupa bahan anorganik (misal silica gel).
- c. Media semi padat (*semi solid medium*), media padat yang dapat dicairkan, apabila dalam keadaan panas berbentuk cair, sedangkan dalam keadaan dingin berbentuk padat, misalnya media agar.

Berdasarkan susunan bahan kimianya, media dapat digolongkan menjadi:

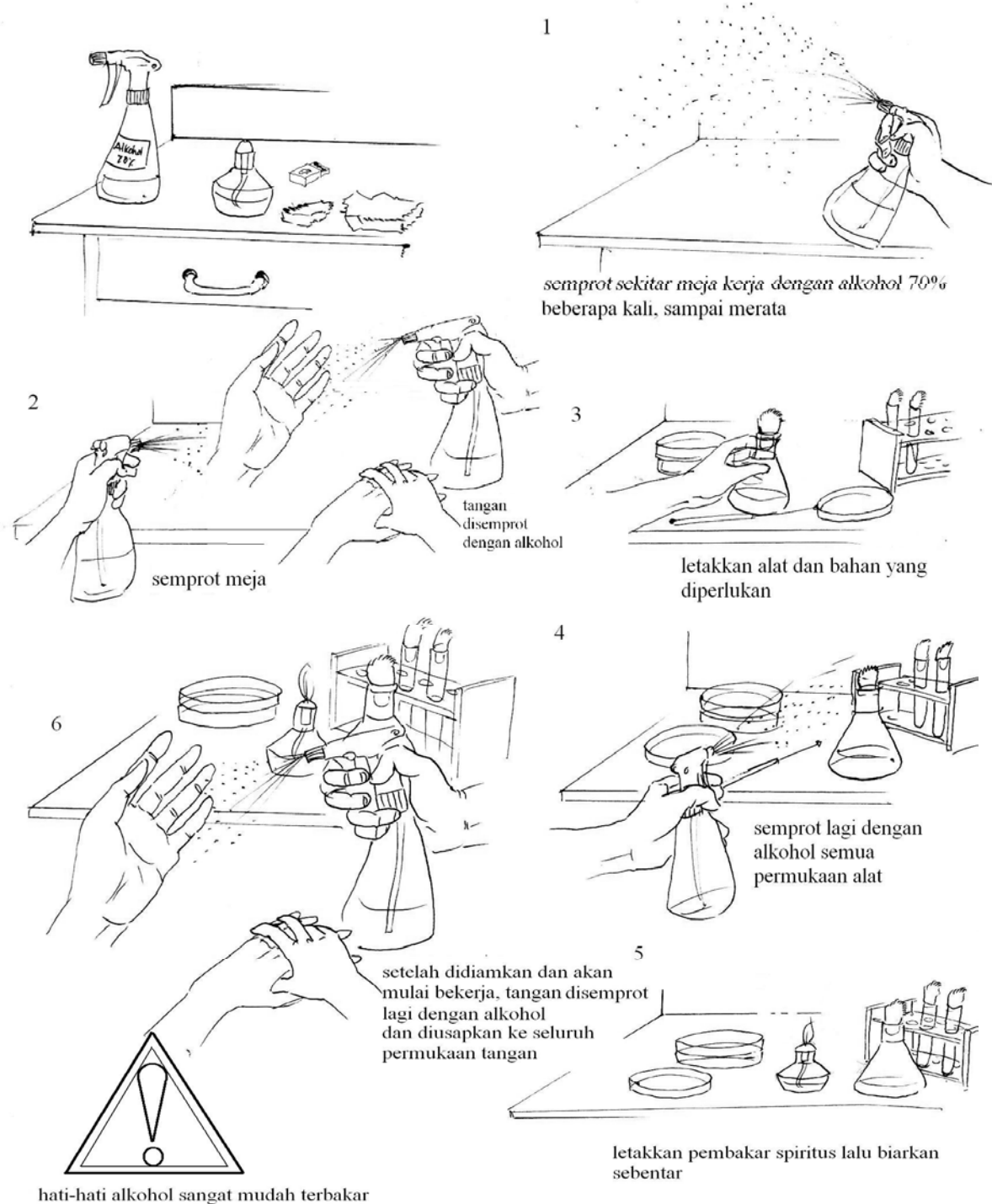
- a. Media sintetik: media yang dibuat dari bahan-bahan yang susunan kimianya diketahui dengan pasti, media ini diproduksi dan dibuat oleh pabrik atau industri seperti: Difco, oxoid, dan merck.
- b. Media kompleks: adalah bahan yang dibuat dari bahan-bahan yang susunan kimianya belum diketahui secara pasti, misalnya bahan-bahan alami seperti, daging, kentang, taugé, dll.

Berdasarkan fungsinya, media terdiri dari beberapa jenis, yaitu:

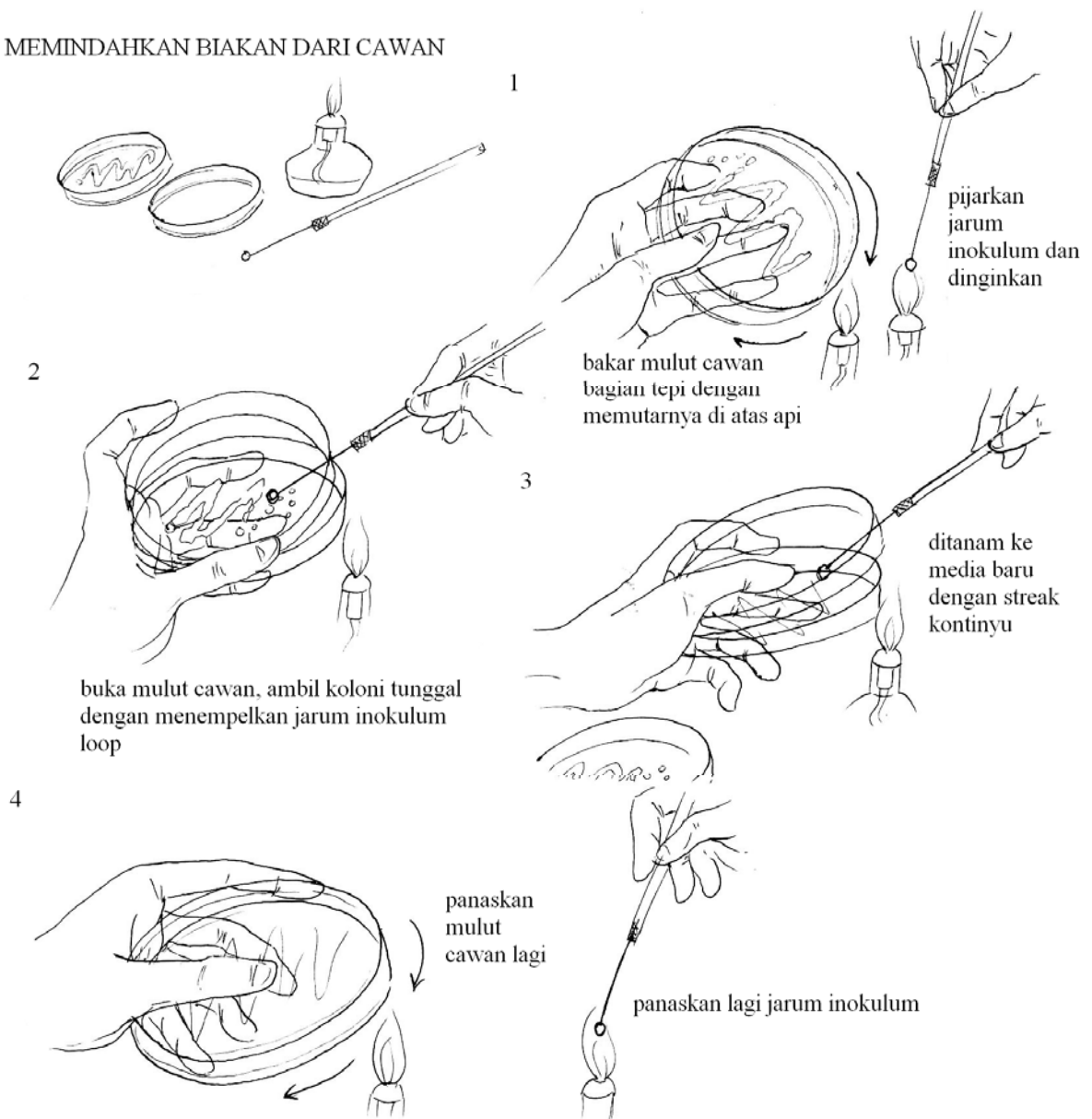
- a. Media Pengaya: media yang ditambah zat-zat tertentu (misalnya: serum, darah, ekstrak tanaman) sehingga dapat digunakan untuk menumbuhkan mikroba heterotrof tertentu.
- b. Media Khusus: media untuk menentukan tipe pertumbuhan mikroba dan kemampuannya untuk mengadakan perubahan kimia tertentu.
- c. Media Penguji: media dengan susunan tertentu yang digunakan untuk pengujian vitamin-vitamin, asam amino, antibiotik dan sebagainya .
- d. Media Selektif: media yang ditambah zat-zat tertentu yang bersifat selektif untuk mencegah pertumbuhan mikroba lain. Misal: media yang mengandung kristal violet pada kadar tertentu dapat mencegah pertumbuhan bakteri gram positif tanpa mempengaruhi pertumbuhan bakteri gram negatif.
- e. Media Differensial: media yang ditambah zat kimia (bahan) tertentu yang menyebabkan suatu mikroba membentuk pertumbuhan atau mengadakan perubahan tertentu sehingga dapat dibedakan tipe-tipenya. Misal: media darah agar dapat membedakan bakteri hemolitik dan bakteri non hemolitik.

- f. Media Perhitungan Mikroba: media yang spesifik untuk perhitungan jumlah mikroba.
- g. **Berbagai Prosedur Umum Kerja dalam Mikrobiologi yang Membutuhkan Teknik Aseptis**

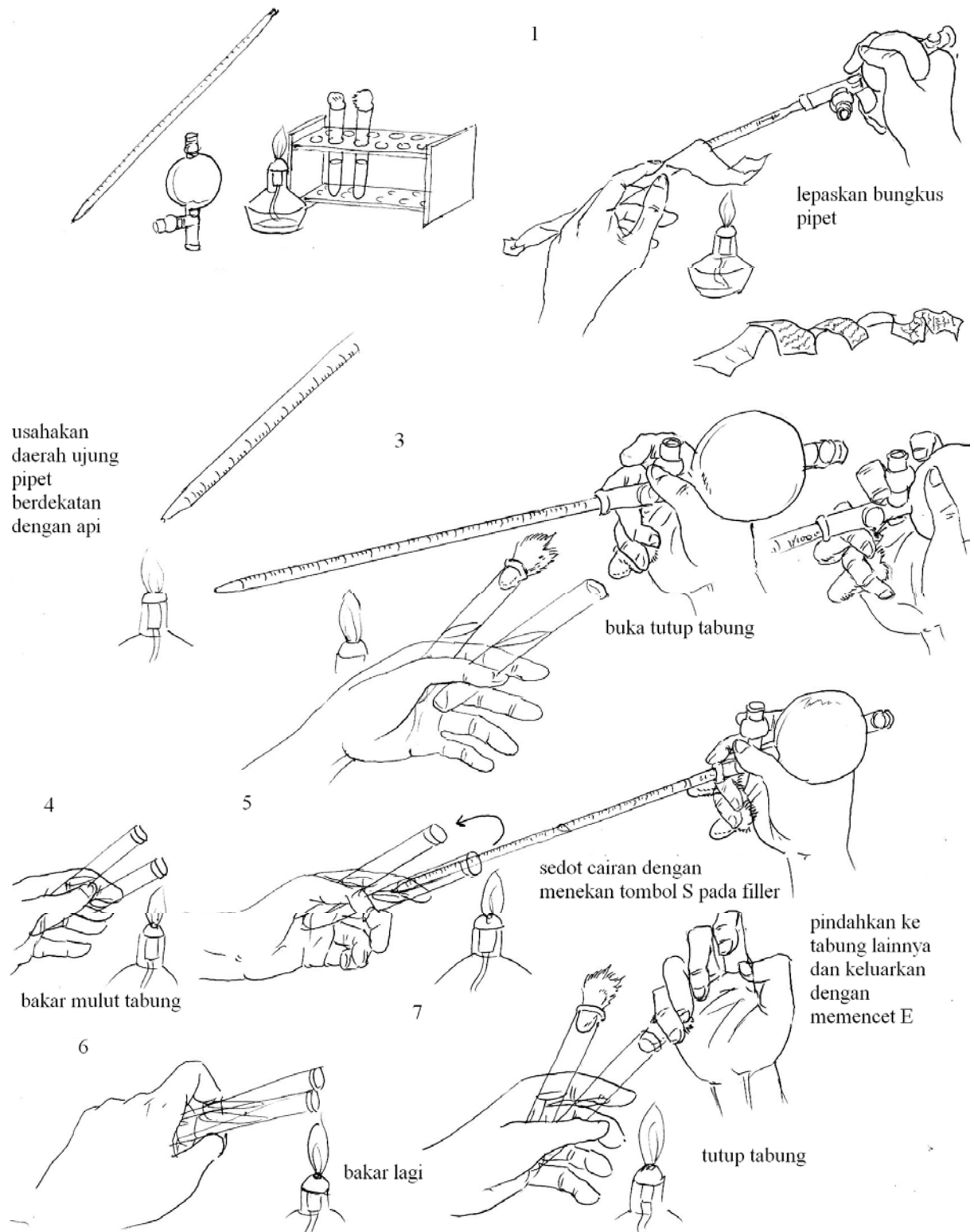
MENSTERILKAN MEJA KERJA



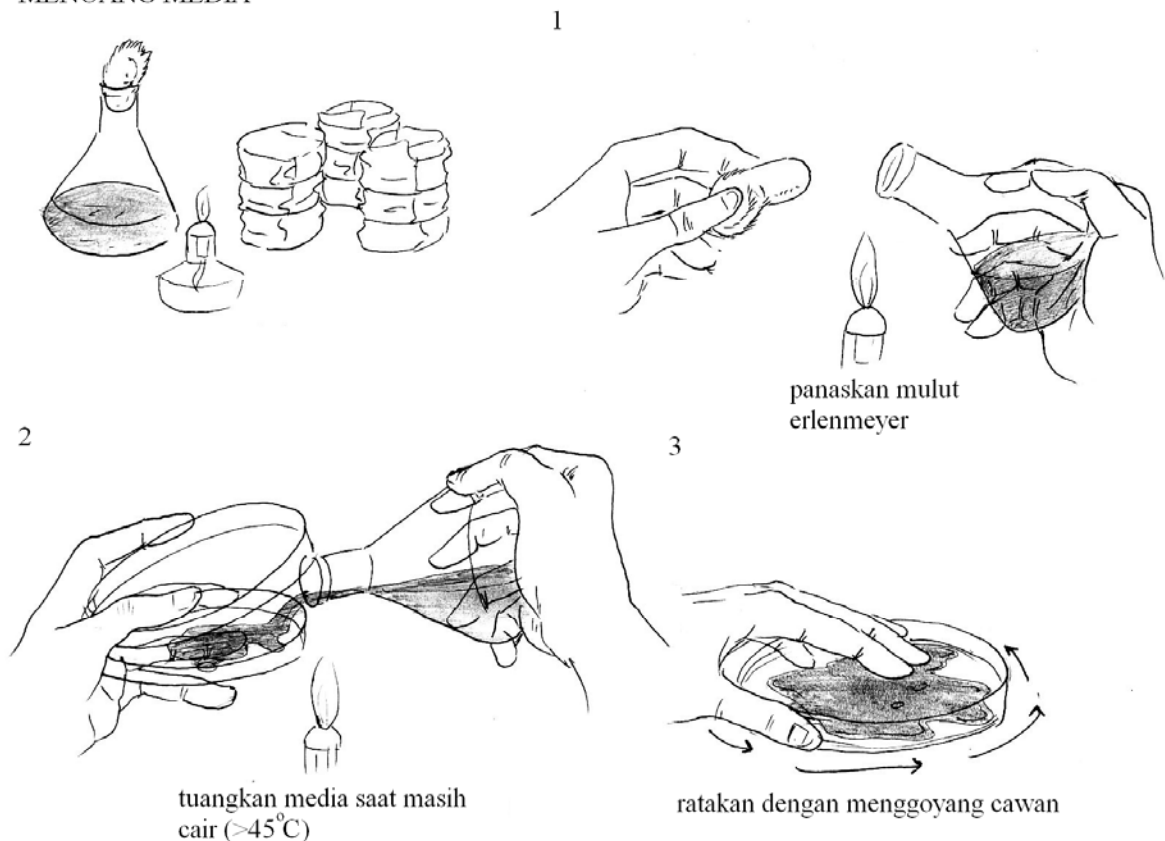
MEMINDAHKAN BIAKAN DARI CAWAN



MEMINDAHKAN CAIRAN DENGAN PIPET



MENUANG MEDIA



B. Tujuan

1. Mengetahui jenis-jenis peralatan yang digunakan pada laboratorium mikrobiologi dan cara penggunaannya
2. Memiliki ketrampilan dasar bekerja secara aseptik
3. Mengetahui cara-cara sterilisasi alat-alat
4. Mengetahui cara pembuatan media dan fungsi dari masing-masing media

C. Alat, Bahan dan Cara Kerja

1. Alat: timbangan analitik, *stirrer*/pengaduk, erlenmeyer, *beaker glass*, petridish, kompor gas/*hot plate stirrer*.
2. Bahan
 - 1) *Nutrient Agar* (NA) : *beef extract* 3,5 g, *peptone* 5 g, agar 15-20 g, Aquades s.d 1000 ml.
 - 2) *Potato Dextrose Agar* (PDA): kentang 200-250 g, *dextrosa* 10 g, agar 15-20 g, Aquades s.d 1000 ml

3. Cara Kerja

a. Pembuatan *Nutrient Agar* (NA)

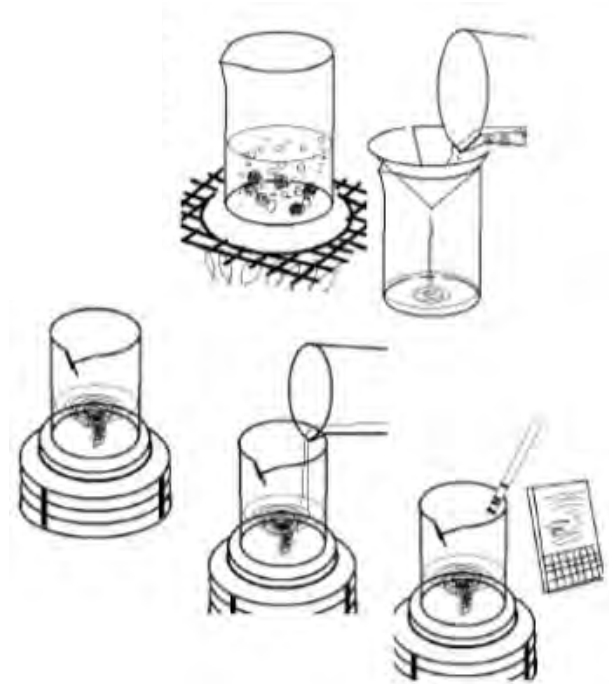
- 1) Timbang komponen medium dengan menggunakan timbangan analitis
- 2) Aquades sebanyak 1000 ml dibagi menjadi dua satu bagian untuk melarutkan *beef extract* dan *peptone* dan sebagian lagi untuk melarutkan agar. Sebaiknya air untuk melarutkan agar lebih banyak
- 3) Larutkan agar pada sebagian air tersebut dengan mengaduk secara konstan dan diberi panas. Dapat menggunakan kompor gas atau *hot plate stirrer* (jangan sampai *overheat*, karena akan terbentuk busa dan memuai sehingga tumpah).
- 4) Sementara itu sebagian aquades digunakan untuk melarutkan *peptone* dan *beef extract*, cukup dengan pengadukan.
- 5) Setelah keduanya larut, larutan dituangkan ke larutan agar dan diaduk sampai homogen.
- 6) Setelah itu media dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer dan disterilisasi dengan autoklaf.
- 7) Tuang media steril ke cawan petri steril secara aseptis. Jika diinginkan media tegak atau miring pada point ke 5, media langsung dituang ke tabung kemudian disterilisasi.

b. Pembuatan *Potato Dextrose Agar* (PDA)

- 1) Potong kentang menjadi kecil-kecil
- 2) Timbang komponen media dengan menggunakan timbangan analitis
- 3) Rebus kentang dalam sebagian aquades tadi selama 1-2 jam sampai lunak, kemudian diambil ekstraknya dengan menyaring dan memerasnya menggunakan kertas saring lalu ditampung di *beaker glass* baru.
- 4) Agar dilarutkan dengan *Stirrer* dalam 50 ml akuades lalu setelah larut dapat ditambahkan dekstrosa dan dihomogenkan lagi.
- 5) Setelah semua larut, ekstrak kentang dan agar-dekstrosa dicampur dan dihomogenkan.
- 6) Media dituang ke dalam erlenmeyer atau ke tabung reaksi kemudian siap untuk disterilisasi.



Pembuatan Media NA



Pembuatan Media PDA

ACARA II

ANALISA MIKROBIOLOGI UNTUK BAKTERI DAN FUNGI

A. Pendahuluan

Populasi mikroba tidak terpisah sendiri menurut jenisnya, tetapi terdiri dari campuran berbagai macam sel. Populasi bakteri di laboratorium dapat diisolasi menjadi kultur murni yang terdiri dari satu jenis yang dapat dipelajari morfologi, sifat dan kemampuan biokimiawinya. Isolasi merupakan cara untuk memisahkan atau memindahkan mikroba tertentu dari lingkungannya, sehingga diperoleh kultur murni atau biakan murni. Kultur murni ialah kultur yang sel-sel mikrobanya berasal dari pembelahan dari satu sel tunggal.

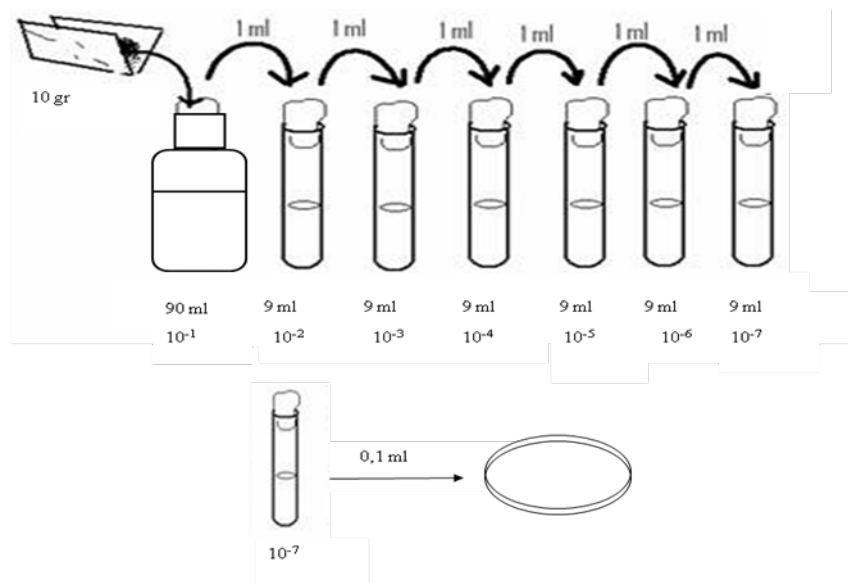
Pekerjaan memindahkan mikroba dari medium yang lama ke medium yang baru harus dilakukan secara teliti. Terlebih dahulu harus diusahakan agar semua alat-alat yang ada sangkut pautnya dengan medium dan pekerjaan inokulasi itu benar-benar steril. Hal ini untuk menghindari kontaminasi, yaitu masuknya mikroba yang tidak diinginkan. Sebelum melakukan isolasi terlebih dahulu dilakukan pengambilan sampel. Prosedur dalam pengambilan sampel tanah jika mikroorganisme yang diinginkan kemungkinan berada di dalam tanah, maka cara pengambilannya disesuaikan dengan tujuan dan kebutuhan. Misal jika yang diinginkan mikroorganisme rhizosfer maka sampel diambil dari sekitar perakaran dekat permukaan hingga ujung perakaran.

Bakteri adalah mikroorganisme prokariot bersel tunggal yang hanya dapat dilihat morfologinya dengan bantuan mikroskop. Berdasarkan penampakan morfologinya, bakteri dikelompokkan ke dalam bentuk : batang (*bacillus*), koma (*vibrio*), per (*spiral*). Ekologinya sangat luas hampir bisa diketemukan di lingkungan manapun termasuk air, tanah, aerob-anaerob, air mendidih, kawah gunung berapi, dasar laut, dan bahkan di dalam tubuh. Bakteri ini telah ada jauh sebelum manusia ada, kurang lebih 3,5 milyar tahun yang lalu.

Fungi adalah jasad eukariot, yang berbentuk benang atau sel tunggal, multiseluler atau uniseluler. Sel-sel fungi tidak berklorofil, dinding sel tersusun dari khitin, dan belum ada diferensiasi jaringan. Fungi bersifat hemoorganoheterotrof karena memperoleh energi dari oksidasi senyawa organik. Fungi memerlukan oksigen untuk hidupnya (bersifat aerobik). Habitat (tempat hidup) fungi terdapat pada air dan tanah. Cara hidupnya bebas atau bersimbiosis, tumbuh sebagai saprofit atau parasit pada tanaman, hewan dan manusia.

1. Isolasi Mikroba

Isolasi mikrobiota yang dilakukan dalam praktikum ini adalah dengan cara pengenceran (*dilution*), yakni teknik pengenceran bertingkat. Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan. Penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1:9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1:10 sel mikroorganisme dari pengenceran sebelumnya.



2. Identifikasi Morfologi Koloni

Mikrobiota dapat tumbuh dengan luar biasa cepat ketika tersuplai dengan nutrisi yang melimpah. Beragam tipe mikrobiota akan menghasilkan tampilan koloni yang beragam pula. Karakteristik koloni yang menggambarkan morfologi suatu koloni mikrobiota dapat berupa bentuk, ukuran, pigmentasi, dll. Hasil identifikasi morfologi koloni dapat digunakan sebagai teknik menentukan jenis dari mikrobiota yang diisolasi. Koloni bakteri dan jamur memiliki beragam karakteristik dan terkadang justru terlihat tidak umum, namun demikian ada beberapa dasar teknik identifikasi yang dapat dilakukan untuk semua jenis koloni, yakni:

- Ukuran : dapat berupa *pinpoint/punctiform* (titik), *small* (kecil), *moderate* (sedang), *large* (besar) dsb.
- Bentuk : bentuk koloni yang muncul berupa sirkular, filament dsb.
- Elevasi : tampilan elevasi yang terbentuk berupa datar, timbul dsb.
- Tepian (*Margin*) : berupa lekukan, ombak, licin, tak beraturan dsb.

- e. Permukaan : permukaan koloni berupa kerutan (*wrinkled*), halus, berkontur dsb
- f. *Opacity* : diamati berdasarkan jumlah cahaya yang melewati koloni, seperti transparan, buram (*opaque*), hampir transparan dengan sedikit distorsi (*translucent*), warna berubah ketika terkena cahaya (*iridescent*)
- g. Chromogenesis (pigmentasi atau warna permukaan) : pada mikroorganisme kromogenik sering memproduksi pigmen intraseluler, beberapa jenis lain memproduksi pigmen ekstraseluler yang dapat terlarut dalam media.

3. Perhitungan Populasi Koloni

Penentuan jumlah bakteri dapat dilakukan melalui penghitungan jumlah bakteri yang hidup (*viable count*). Penghitungan disebut juga sebagai *standard plate count*, yang didasarkan pada asumsi bahwa setiap sel bakteri yang hidup dalam suspensi akan tumbuh menjadi satu koloni setelah diinkubasi dalam media biakan dengan lingkungan yang sesuai. Setelah masa inkubasi, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dan merupakan perkiraan atau dugaan dari jumlah bakteri dalam suspensi. Jumlah bakteri merupakan salah satu faktor penting untuk diketahui, karena dapat menentukan kinerja dari bakteri tersebut.

4. Purifikasi

Purifikasi merupakan pemisahan atau pemurnian suatu organisme dari mikroorganisme lain untuk dibiakan. Tujuan purifikasi adalah untuk mendapatkan isolate murni. Apabila dalam pengamatan dari satu koloni terlihat satu bentuk sel yang sama, maka pemurnian telah menghasilkan isolat murni. Setelah dilakukan purifikasi yaitu melakukan identifikasi yang memiliki tujuan untuk membedakan morfologi dari bakteri atau fungi.

5. Pewarnaan Gram (Pewarna Diferensial)

Pewarnaan gram bertujuan untuk menentukan apakah bakteri tersebut termasuk di dalam kelompok bakteri gram positif atau kelompok bakteri gram negatif. Terdapat beberapa faktor yang dapat menimbulkan keragaman dalam reaksi gram antara lain pelaksanaan fiksasi panas terhadap olesan, kerapatan sel pada olesan, konsentrasi dan umur pada reagen-reagen yang digunakan untuk pewarna gram, sifat, konsentrasi, dan jumlah pemucat yang dipakai, dan sejarah biakan.

B. Tujuan Praktikum

Tujuan praktikum acara analisa mikrobiologi untuk bakteri dan fungi adalah:

- a. Mahasiswa mampu mengisolasi dan menghitung koloni jamur dan bakteri
- b. Mahasiswa mampu melakukan purifikasi jamur dan bakteri

- c. Mahasiswa mampu membedakan jamur dan bakteri berdasarkan kenampakan morfologi koloninya
- d. Mahasiswa mampu melakukan pengukuran massa pada bakteri dan fungi beserta analisa diferensiasi pada bakteri

C. Alat, Bahan dan, Cara Kerja

1. Alat : lampu Bunsen, timbangan analitik, jarum ose, dryglasky, tabung reaksi, mikropipet, Erlenmeyer, incubator, petridish, *hand colony counter*, mortar, kaca preparat, bak pewarna, mikroskop, pinset, kertas label, spidol
2. Bahan : sampel tanah rhizosfer, sampel tanah bukan rhizosfer, sampel akar utuh, sampel akar yang dihaluskan, sampel daun utuh, sampel daun yang dihaluskan, alkohol, media NA, media PDA, aquadest, garam fisiologis, seperangkat pewarna gram (ungu kristal, larutan iodium gram, alkohol 95%, safranin)
3. Cara Kerja
 - a. Bakteri
 - 1) Identifikasi, Perhitungan Koloni, dan Purifikasi
 - a) Memasukkan 10 gram bahan ke dalam 90 ml garam fisiologis, lalu menggojog hingga homogen (pengenceran 10^{-1})
 - b) Mengambil 1 ml larutan 10^{-1} , memasukkan ke dalam 9 ml garam fisiologis, lalu menggojog hingga homogen (pengenceran 10^{-2})
 - c) Melakukan hal yang sama hingga pengenceran 10^{-5}
 - d) Mengisolasi mikroba ke dalam media NA dengan cara mengambil 10^{-1} ml larutan 10^{-5} dan menuangkan ke dalam media NA lalu meratakan larutan tersebut ke seluruh media menggunakan dryglasky steril
 - e) Menginkubasi isolat-isolat pada suhu kamar, dengan posisi petridish terbalik selama 3 hari kemudian mengamati koloni-koloni dari mikroba yang terbentuk
 - f) Mengambil 1 koloni untuk ditumbuhkan lagi ke media agar miring dengan metode zig-zag
 - g) Menumbuhkan satu koloni bakteri dalam petridish dengan metode goresan kuadran (*Streak quadran*)
 - h) Melakukan isolasi mikroba dari bahan sampel lainnya
 - 2) Pewarnaan Gram
 - a) Melakukan konfirmasi (penyesuaian) antara mikroba yang tumbuh pada isolasi yang pertama dengan yang terakhir

- b) Menyiapkan olesan bakteri pada kaca preparat dan memfiksasi dengan panas
- c) Meletakkan kaca preparat di atas rak kawat pada bak pewarna
- d) Menggenangi olesan bakteri dengan pewarna primer (ungu Kristal) selama 1 menit
- e) Memirinkan kaca prapararat menggunakan pinset dan membuang kelebihan ungu Kristal dan membilas menggunakan aquades
- f) Meniriskan kaca prapararat dan meletakkan di atas kawa pada bak pewarna
- g) Menggenangi olesan dengan penucat warna waitu alkohol 95% tetes demi tetes selama 30 detik hingga zat warna ungu Kristal tidak terlihat
- h) Mencuci dengan aquades kemudian meniriskan dan mengembalikan di atas rak kawat pada bak pewarna
- i) Menggenangi olesan dengan pewarna tandingan yaitu safranin selama 30 detik dan memiringkan kaca prapararat untuk membuang kelebihan safranin kemudian membilas dengan aquades
- j) Meniriskan kaca prapararat dan menyerap kelebihan air menggunakan kartas serap kemudian mengamati dengan mikroskop

b. Fungi

- 1) Memasukkan 10 gram bahan ke dalam 90 ml garam fisiologis, lalu menggojog hingga homogen (pengenceran 10^{-1})
- 2) Mengambil 1 ml larutan 10^{-1} , memasukkan ke dalam 9 ml garam fisiologis, lalu mengocok hingga homogen (pengenceran 10^{-2})
- 3) Melakukan hal yang sama hingga pengenceran 10^{-5}
- 4) Mengisolasi mikroba ke dalam media PDA dengan cara mengambil 10^{-1} ml larutan 10^{-5} dan menuangkan ke dalam media PDA lalu meratakan larutan tersebut ke seluruh media menggunakan dryglasky steril
- 5) Menginkubasi isolate-isolat pada suhu kamar, dengan posisi petridish terbalik selama 3 hari kemudian mengamati koloni-koloni dari mikroba yang terbentuk
- 6) Mengambil 1 koloni untuk ditumbuhkan lagi ke media agar miring dengan metode zig-zag
- 7) Menumbuhkan satu koloni jamur dalam petridish dengan meode goresan kuadran (*Streak quadran*)

- 8) Melakukan identifikasi koloni mikroba yang tumbuh
- 9) Melakukan konfirmasi (penyesuaian) antara mikroba yang tumbuh pada isolasi yang pertama dengan yang terakhir
- 10) Melakukan isolasi mikroba dari bahan sampel lainnya

Lampiran :

➤ Panduan identifikasi mikrobiologi :

- Koloni bakteri digambar dengan perbesaran 40x. Dengan perbesaran ini akan tampak bentuk yang jelas dari ukuran koloni yang kecil tetapi sebelumnya digambar dengan mata telanjang terlebih dahulu. Perbesaran ini dapat dicapai baik dengan mikroskop cahaya atau stereo.
- Untuk praktisnya koloni digambar dari bagian bawah cawan. Hal ini dilakukan supaya pengkonfirmasi bentuk koloni dapat dikerjakan dengan mudah tanpa harus membuka tutup cawan lagi pula kerap kali ditemukan banyak embun di tutup cawan. Penggambaran dengan membuka tutup cawan tidak disarankan.
- Penentuan letak diameter koloni diputuskan dari koloni tunggal yang tumbuh sendirian, maksudnya tidak tumbuh berdesak-desakan. Ini dipengaruhi kompetisi penyerapan nutrisi dari agar di bawahnya.
- Margin koloni ditentukan dari pola tepian koloni tunggal (dari hasil menggambar) bukan dari kumpulan koloni yang memanjang (dari garis streak pertama).
- Elevasi dan sifat permukaan koloni dapat diketahui dengan memantulkan cahaya lampu ke cawan. Namun perlu diperhatikan bahwa tidak semua jenis bakteri memiliki koloni yang sama dengan media yang berbeda.

UKURAN		BENTUK		ELEVASI	
pinpoint/punctiform (titik)		<i>Circular</i>		<i>Flat</i>	
Small (kecil)		<i>Irregular</i>		<i>Raised</i>	
Moderate (sedang)		<i>Spindle</i>		<i>Convex</i>	
Large (besar)		<i>Filamentous</i>		<i>Umbonate</i>	
		<i>Rhizoid</i>			
MARGIN					
	Entire	Lobate	Undulate	Serrate	Felamentus

ACARA III

ANALISIS ALGAE DAN PROTOZOA DARI ALAM

A. Pendahuluan

Protista dikenal penting dalam kehidupan, sebab dalam ekosistem perairan mereka merupakan produser yang kehadirannya mendukung komunitas yang ada disana. Protista sangat beragam ada yang tampak seperti hewan-hewan yang sangat kecil ada pula yang nampak layaknya tumbuhan. Sebagian lagi ada yang hidup bergantung pada materi organik yang berasal dari bangkai seperti halnya jamur.

Protista dapat ditemukan hampir disemua perairan, sangat penting bagi ekosistem perairan karena sebagian besar berperan sebagai produsen yaitu berupa plankton. Protista sendiri dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu protista yang menyerupai tumbuhan atau lebih dikenal sebagai algae/ganggang, protista yang menyerupai hewan atau protozoa dan protista yang menyerupai jamur. Perlunya mengenal dan mempelajari kelompok-kelompok organisme yang masuk dalam golongan ini tentu saja karena perannya yang begitu penting dalam kehidupan manusia, baik yang menguntungkan maupun merugikan sehingga kita dapat mengadakan langkah yang tepat dalam menghadapi keberadaan protista ini.

Peranan yang menguntungkan dari protista pada kelompok algae/ganggang antara lain sebagai sumber makanan beberapa jenis ganggang dapat digunakan dalam pembuatan agar-agar, menghasilkan beberapa bahan dasar yang bernilai ekonomis (seperti zat kresik, asam arginat, agar dan karagin) dan sebagai penyedia makanan dan oksigen bagi kehidupan di air sedangkan bahaya keberadaan ganggang dalam jumlah yang besar dapat menimbulkan keracunan dan kematian pada ikan dan tumbuhan air. Kelompok protozoa antara lain dapat membantu proses pembusukan (*Entamoeba coli*), bahan dasar pembuatan alat gosok (endapan cangkang *radiola* di dasar perairan) dan sebagai indikator keberadaan minyak bumi (endapan kerangka *globigerina*) sedangkan bahaya yang ditimbulkannya bagi manusia sangat banyak utamanya sebagai penyebab beberapa penyakit seperti *Plasmodium* sp. yang ditengarai sebagai penyebab penyakit malaria.

1. Algae

Algae merupakan organisme eukariotik yang mengandung klorofil dan bersifat autotrof, alga memiliki ukuran yang sangat beragam. Algae termasuk dalam kingdom Protista (organisme eukariotik uniseluler) dan memiliki divisi Chlorophyta

(memiliki klorofil). Terdiri dari 1 sel (unicellular) dan banyak sel (multicellular) ada yang berukuran mikroskopis (blue-green algae/cyanobacteria) dan juga terdapat algae yang berukuran makroskopis (*Pirrhophyta*, *Euglenophyta*, *Rhodophyta*, *Phaeophyta*, *Chrysophyta* dan *Chlorophyta*). Algae memiliki klorofil namun tidak selalu berwarna hijau karena bisa saja memiliki pigmen lain seperti karotenoid (jingga), phycoeritrin (merah) dan xantofill. Terkadang warna-warna pigmen lain ini lebih dominan sehingga menutupi warna hijau klorofil dan akibatnya Algae tidak berwarna hijau (Singleton dan Sainsbury 2006).

Reproduksinya dapat secara aseksual yakni pembelahan sel dan fragmentasi serta secara seksual dengan isogami, anisogami, oogami. Algae termasuk organisme tingkat rendah yang belum mempunyai diferensiasi jaringan. Pada umumnya algae melakukan proses fotosintesa, sehingga dapat menggunakan energi cahaya matahari untuk sintesa bahan-bahan organik dan sitoplasma sel dari CO₂ dan H₂O dan zat-zat organik. Hampir semua algae memiliki klorofil, tetapi tidak semuanya berwarna hijau karena tertutup oleh pigmen-pigmen lainnya.

Arti penting algae antara lain sebagai fitoplankton, untuk stabilisasi dan perbaikan sifat fisik tanah yakni algae tanah, sebagai pupuk yakni algae merah dan algae coklat, serta sebagai sumber vitamin yakni ganggang hijau yang mengandung vitamin B1, C dan K dalam jumlah yang cukup besar. Di bidang pertanian algae jenis *Laminaria* sp. digunakan untuk pupuk pertanian. *Spirogyra* dan *Chara braunii* dalam bidang sains digunakan sebagai bahan percobaan fotosintesis, sedangkan beberapa ganggang merah seperti *Eucheuma spinosum* dan *Agardhiella* digunakan sebagai dasar pembentukan gel untuk media biakan mikrobiologis serta fase padat pada elektroforesis gel.

a. *Blue-green algae* (Ganggang biru-hijau)

Berdasar cara pembelahan sel-nya yang biner dan struktur selnya yang sama dengan bakteri, *blue green algae*/sianobakteri digolongkan dalam kelompok bakteri dan dinamakan *Schizophyt* dan bersifat prokariotik. Adanya sifat-sifat fisiologi yang sama dengan tumbuhan kemudian menyebabkan organism ini dinamai *Blue green algae* atau *Blue-green algae* (Schlegel, 1994). *Blue-green algae* berukuran mikroskopis. *Blue-green algae* tersebar luas, banyak ditemukan di perairan tanah yang lembab, permukaan dinding tembok, pot, batu karang yang lembab. Bahkan ditemukan pula di tempat yang kurang menguntungkan lingkungannya. Beberapa jenis dijumpai pada sumber air panas.

Ciri dari *Blue Green algae* antara lain merupakan tumbuhan bersel satu, benang (filamen) dan hidup berkoloni, Memiliki klorofil, karotenoid serta pigmen fikobilin yang terdiri dari fikosianin dan fikoeritin (sering disebut ganggang biru-hijau). Dinding sel mengandung peptida, hemiselulosa dan selulosa, kadang-kadang berlendir, Inti sel tidak memiliki membran (prokariot).

b. *Azolla*

Azolla merupakan sejenis pakis yang mengambang bebas di air tawar, termasuk dalam famili Azollaceae dan orde Pteridophyta. Terdapat enam spesies *Azolla*. Pada umumnya, *Azolla* ditemukan di daerah tropis dan sub-tropis. *Azolla* tumbuh secara alami di air tergenang dari saluran air, kanal, kolam, sungai, tanah berawa. *Anabaena azollae* hidup di rongga daun *Azolla*, dia dapat memperbaiki nitrogen di atmosfer dalam jumlah tinggi karena adanya ganggang simbolis dalam daun (Basak et al. 2002).

Azolla adalah tumbuhan paku air yang biasa ditemukan di kolam, sungai, danau atau sawah. *Azolla* berasal dari kata *azo* yang berarti kering dan *olloyo* yang berarti terbunuh. Sehingga *azolla* akan mati apabila kekeringan karena hidupnya di atas air dan berkelompok. Tumbuhan *azolla* di habitatnya bersimbiosis dengan *Anabaena azollae* yang merupakan salah satu jenis mikroalga. *Anabaena azollae* termasuk blue-green algae yang dapat menambat Nitrogen dari udara melalui kerjasama atau simbiosis dengan *Azolla* sp. Secara morfologi, *azolla* dapat dibedakan menjadi tiga bagian yaitu akar, rhizoma dan daun. Akar terdiri dari seberkas akar yang kecil-kecil. Rhizoma merupakan generasi sporofit, sedangkan daun terdiri dari dua lobi yaitu lobus dorsal dan lobus ventral. Daun berongga, di dalamnya hidup *Anabaena azolla*. Perakaran *azolla* menjadi habitat banyak mikro dan makroorganisme.

2. Protozoa

Protozoa berasal dari kata *protos* yang berarti pertama dan *zoo* yang berarti hewan sehingga disebut sebagai hewan pertama. Protozoa tergolong dalam filum hewan bersel satu yang dapat melakukan reproduksi seksual (generatif) maupun aseksual (vegetatif). Protozoa merupakan organisme yang bersel tunggal, dimana beberapa spesies mempunyai lebih dari satu nukleus (inti sel) pada bagian atau seluruh daur hidupnya. Seperti halnya sel pada tubuh makhluk hidup lainnya, sel protozoa dilapisi oleh tiga lapisan uni membran yang didalamnya terdapat ektoplasma, endoplasma dan nukleus. Dalam endoplasma ditemukan nukleus,

mitokondria, badan golgi dan sebagainya, sedangkan ektoplasma ditemukan flagela, cilia dan sebagainya.

Protozoa merupakan organisme heterotrof yang mampu memanfaatkan bahan organik maupun anorganik, pada lingkungan tempat tumbuhnya sebagai nutrisi. Organisme ini memegang peranan utama pada penanganan limbah organik, sehingga *effluent* yang dihasilkan tidak mencemari lingkungan (Parwanayomi 2008). Protozoa memiliki distribusi kosmopolitan dan memainkan peran integral dalam dekomposisi bahan organik, di siklus nutrisi dan dalam pemeliharaan aliran energi dalam ekosistem darat dan air (Kouris et al. 2006).

Berdasarkan alat geraknya, protozoa dibagi menjadi 4 golongan, yakni sarkodina (bergerak secara *amuboid*), mastigophora (ada *flagela*), ciliata (terdapat *cilia*) dan Sporozoa (tidak ada bentuk dewasanya). Protozoa pada dasarnya bergerak menggunakan 4 tipe organela yang merupakan bagian dari ektoplasma yaitu : flagela (bentuk langsing seperti rambut tunggal yang panjang), cilia (bentuk flagela yang kecil dan lebih pendek), pseudopodia (Organela sementara yang menonjol biasanya digunakan untuk bergerak/menangkap makanan) dan undulata bergerigi (pergerakan dengan menggunakan bentuk gelombang dari sel dengan pergerakan dari belakang kedepan dan sebaliknya).

B. Tujuan

1. Mengetahui cara mengisolasi algae dan protozoa dari alam
2. Mengetahui cara mengidentifikasi secara visual algae dan protozoa dari alam
3. Memahami perbedaan antara algae dan protozoa
4. Mengetahui peranan algae dan protozoa dalam lingkungan pertanian

C. Alat, Bahan dan Cara Kerja

1. Alat : mikroskop binokuler, alat tulis, pipet tetes, mortar, kaca preparat, deglass.
2. Bahan : sampel air sawah, sampel air telaga Fakultas Pertanian UNS dan Azolla
3. Cara kerja
 - a. Algae dan Protozoa dari air telaga Fakultas Pertanian UNS dan sawah
 - 1) Mengambil sampel air menggunakan pipet dan diletakkan pada kaca preparat.
 - 2) Mengamati kaca preparat di bawah mikroskop binokuler.
 - 3) Melakukan identifikasi morfologi mikrobiota (Algae dan Protozoa) yang ada di air.
 - 4) Menggambar hasil pengamatan serta memberi keterangan.

b. Azolla

1) Pengamatan morfologi

- a. Mengambil Azolla.
- b. Mengamati dan menggambar morfologi Azolla dan sporangium yang terbentuk.

2) Pengamatan mikroskopis

- a) Mengambil daun Azolla secukupnya.
- b) Meletakkan pada mortar dan menambahkan sedikit aquades.
- c) Menumbuk hingga halus.
- d) Mengambil sedikit dengan pipet, meletakkan di atas kaca preparat dan deglass.

3) Mengamati di bawah mikroskop binokuler.

4) Menggambar serta memberi keterangan sel vegetatif dan sel heterosit *Anabaena azollae*.

ACARA IV

PENGENALAN MESOFAUNA, MAKROFAUNA, DAN MIKORIZA

A. Pendahuluan

Tanah merupakan bagian di permukaan kulit bumi yang terdiri atas mineral sebagai hasil pelapukan batuan dan bahan organik hasil pelapukan sisa tanaman dan hewan yang mempunyai sifat akibat pengaruh iklim dan jasad hidup yang bertindak terhadap batuan induk pada keadaan wilayah tertentu dan jangka waktu tertentu. Tanah merupakan tempat hidup organisme. Organisme tanah berdasarkan ukurannya dibedakan menjadi Fauna tanah diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu: makro fauna, meso fauna, dan mikro fauna. Makro fauna adalah semua hewan tanah yang dapat dilihat langsung dengan mata tanpa bantuan mikroskop dan berukuran lebih dari 10 mm.

Makro fauna tanah terdiri dari: (a) Hewan-hewan besar pelubang tanah seperti: tikus dan kelinci; (b) Cacing tanah; (c) Arthropoda, meliputi: crustacea (kepiting tanah dan udang tanah), chilopoda (kelabang), diplopoda (kaki seribu), arachnida (lebah, kutu dan kalajengking) dan Insekta (belalang, jangkrik, semut, dan rayap); serta (d) Moluska.

Meso fauna adalah semua hewan tanah yang berukuran lebih kecil berkisar antara 0,2 mm s/d 10 mm, sehingga dapat dilihat jelas dengan bantuan kaca pembesar. Makro fauna tanah terdiri dari: Enchytraeida, Protura, Diplura, Parapoda, tungau-tungau tanah (Acarina) dan springtail (Collembola). Sedangkan mikro fauna adalah hewan tanah yang berukuran sangat kecil yaitu kurang dari 0,2 mm. Mikro fauna terdiri dari: (a) Protozoa, seperti: amoeba, flagelata, dan ciliata, dan (b) Nematoda, seperti: omnivorous dan Predaceous.

Mikoriza adalah kelompok fungi (jamur) yang bersimbiosis dengan tumbuhan tingkat tinggi khususnya pada sistem perakaran. Simbiosis antara mikoriza dengan tanaman inang tidak menunjukkan tanda-tanda kelainan pada tanaman yang terinfeksi, kecuali pada tanaman jagung memperlihatkan warna kuning pada akarnya. Pengamatan Mikoriza biasanya dilakukan dengan mengisolasi propagule spora dari tanah rhizosfer, maupun pengecatan akar.

Mikoriza merupakan salah satu jamur yang bersimbiosis dengan tanaman tingkat tinggi. FMA (Fungi Mikoriza Arbuskular) diketahui mampu memperbaiki pertumbuhan dan hasil tanaman pada tanah-tanah dengan kondisi yang kurang

menguntungkan. Inokulasi FMA secara signifikan meningkatkan produksi bobot kering daun dan status hara (P, Zn, dan Fe) pada daun, serta kandungan minyak atsiri (*essential oil*) dan artemisinin pada daun tanaman *Artemisia annua* L. (Hartoyo et al. 2011).

Berdasarkan struktur dan cara jamur menginfeksi akar, mikoriza dapat dikelompokkan menjadi dua, yaitu Ektomikoriza dimana merupakan jamur yang menginfeksi tidak masuk ke dalam sel akar tanaman dan hanya berkembang diantara dinding sel jaringan korteks, akar yang terinfeksi membesar dan bercabang). Sedangkan Endomikoriza merupakan jamur yang menginfeksi masuk ke dalam jaringan sel korteks dan akar yang terinfeksi tidak membesar. Pada ektomikoriza, jaringan hifa cendawan tidak sampai masuk kedalam sel tapi berkembang diantara sel kortek akar membentuk "*hartig net*" dan mantel dipermukaan akar.

Jamur endomikoriza masuk ke dalam sel korteks dari akar serabut (*feederroots*). Jamur ini tidak membentuk selubung yang padat, namun membentuk miselium yang tersusun longgar pada permukaan akar. jamur juga membentuk vesikula dan arbuskular yang besar di dalam sel korteks, sehingga sering disebut dengan VAM (*Vesicular-Arbuscular Miccorhizal*), sebagai contoh jenis *Globus* dan *Acaulospora*. Tanaman yang terjangkit mikoriza ini akan muncul bintil akar simbiosis dengan bakteri pemfiksasi nitrogen. Simbiosis ini ditandai dengan struktur jamur bercabang, arbuscules, yang tumbuh intraseluler tanpa menembus plasmalemma tanaman inangnya (Finlay 2008).

Mikoriza merupakan gabungan simbiotik penting antara jamur (khusus yang hidup pada tanah dan tanaman) dan akar (substrat lain yang berhubungan dengan organ) dari tanaman yang bertanggungjawab untuk transfer nutrisi. Arbuscular merupakan jamur yang tidak bersekat dan diklasifikasikan dalam Glomeromycota. Cendawan Mikoriza Arbuskular (CMA) memiliki miselium luar longgar yang berfungsi memperluas hifa ke dalam tanah di luar zona deplesi dimana penetrasi sel inang akar berlangsung (Chatterjee et al. 2012).

Kata *arbuscular* diambil dari karakter struktur, *arbuscular* mikoriza yang banyak berada dalam sel-sel korteks akar tanaman. Bersama dengan vesikel penyimpanan yang berada dalam atau di antara sel-sel, struktur ini telah dianggap diagnostik untuk simbiosis AM. Berkembangnya hifa intraseluler dengan baik terkadang menjadi tidak adanya *arbuscular* (Smith dan Read 2008).

Verisikel Arbuskular Micorrhizae (VAM) merupakan jenis yang paling berlimpah pada hampir semua komunitas terestrial alami dan membentuk asosiasi simbiosis obligat dengan lebih dari 60% dari tumbuhan vascular. VAM mengambil peran dalam proses pemeliharaan ekosistem dengan cara mendukung kemampuan tanaman dalam berbagai mekanisme; melindungi tanaman inang dari pathogen tanah dan memperbaiki struktur tanah; membantu penyerapan air dan nutrisi; meningkatkan efisiensi penggunaan pupuk dan pertumbuhan tanaman (Proborini et al. 2013).

B. Tujuan

1. Mengamati dan mengidentifikasi morfologi mesofauna
2. Mengamati dan mengidentifikasi morfologi makrofauna
3. Mampu membedakan perbedaan mesofauna dan makrofauna
4. Mampu melakukan isolasi VAM dari rhizosfer.

C. Alat, Bahan dan Cara Kerja

1. Alat : mikroskop stereo, lup/kaca pembesar, petridish, pinset, saringan 3 tingkatan, preparat, dan deglass.
2. Bahan : mesofauna dan makrofauna dari lahan basah, lahan kering, di bawah tegakan pohon, semak, aquadest, sampel tanah (rhizosfer) jagung.
3. Cara kerja :
 - a. Pengamatan Makrofauna dan Mesofauna
 - 1) Mencari mesofauna dan makrofauna pada lapisan rhizosfer tanah.
 - 2) Mencuci mesofauna dan makrofauna dengan air bersih lalu diletakkan di petridish.
 - 3) Mengambil fauna dengan pinset dan amati dengan lup/kaca pembesar.
 - 4) Menggambar, identifikasi, dan fungsi setiap fauna.
 - b. Isolasi Mikoriza
 - 1) Campur contoh tanah (25 gram) dengan air (100ml) (perbandingan tanah : air = 1:5-10) dalam gelas piala, kemudian aduk rata dan biarkan beberapa detik agar partikel kasar mengendap.
 - 2) Tuang cairan (didekantasi) melalui saringan kasar (120mikron) untuk memisahkan partikel kasar. Tampung cairan yang melewati saringan pertama. Cuci saringan dengan air mengalir, jangan menggunakan tangan atau benda lain karena dapat merubah ukuran saringan.

- 3) Saring kembali hasil tampungan dari saringan kedua dengan ukuran saringan yang lebih halus (90 mikron). Tampung hasil saringan kedua dan cuci saringan dengan air mengalir.
- 4) Saring hasil saringan kedua untuk terakhir kali dengan saringan paling halus (60 mikron). Pindahkan sisa yang tertinggal pada saringan dalam cawan petri (+/- 4 petri). Caranya: balik saringan, semprot pada bagian yang terdapat seresah yang tertinggal dengan air dan taruh cawan Petri di bawah saringan.
- 5) Amati hasil saringan pada cawan petri di bawah mikroskop binokuler, pisahkan spora dari seresah organik dan hitung jumlah sporanya.

ACARA V

MIKROBIOLOGI TERAPAN

A. Pendahuluan

Mikrobiologi sangat kompleks peranannya dalam perkembangan kualitas hidup manusia. Hal tersebut ditandai dengan banyaknya kegiatan manusia yang melibatkan peranan mikroorganisme dalam kehidupan sehari-hari, khususnya di bidang industri pangan. Penggunaan mikroba untuk industri makanan telah lama dikenal, seperti pembuatan cuka, roti, *yoghurt*, *nata* dan lain-lain. Banyak mikroba yang digunakan dalam proses produk-produk terapan, contohnya seperti pemanfaatan bakteri dalam industri pangan yaitu *Acetobacter xylinum* dalam pembuatan nata, *Rhizopus oryzae* dalam pembuatan tempe, *Lactococcus lactis* dalam pembuatan kefir, *Saccharomyces cerevisiae* dalam pembuatan roti. Mikroba juga dapat digunakan dalam teknik budidaya tanaman, seperti inokulasi mikoriza dengan akar plalet anggrek (Iskandar 2010).

Nata adalah sejenis makanan hasil fermentasi oleh bakteri *Acetobacter xylinum*, membentuk gel yang mengapung pada permukaan media atau tempat yang mengandung karbon dan asam yang berbentuk padat, kokoh, kuat, putih, kenyal dan mirip kolang-kaling (Purnomo 2009). Proses pembuatan nata oleh bakteri *Acetobacter xylinum* merupakan kegiatan sintesa selulosa yang dikatalis oleh enzim pensintesis selulosa yang terikat pada membran sel bakteri. Penguraian/fermentasi gula dilakukan melalui jalur heksosa monofosfat dan siklus asam sitrat (Susilawati dan Mubarik 2002). Aktivitas pembuatan nata hanya terjadi pada kisaran pH antara 3,5-7,5 dengan pH optimum untuk pembentukan nata adalah 4 (Nadiyah et al. 2005).

Pembentukan nata terjadi karena proses pengambilan glukosa dari larutan gula oleh sel-sel *Acetobacter xylinum*. Nata yang terbentuk tergantung dari jenis sumber karbon yang digunakan. Berbagai sumber karbon yang dapat dimanfaatkan adalah air kelapa (*nata de coco*), air nanas (*nata de pina*) dan air kecutan tahu (*nata de soya*). Dalam pembuatan nata diperlukan nutrisi yang cukup untuk mikrobia, yaitu sumber nitrogen bagi mikrobia maka ditambahkan dengan ekstrak tauge. Nata yang baik dapat dicirikan pada selulosa yang terbentuk berwarna putih dan tidak berbau.

B. Tujuan Praktikum

1. Mempelajari mikrobial yang berperan dalam pembuatan nata.
2. Mempelajari proses pembuatan nata.

C. Alat, Bahan dan, Cara Kerja

1. Alat : toples, kain bersih, pengaduk, pipet, gelas ukur, karet gelang
2. Bahan : air kelapa, air kecutan tahu, air cucian beras, air perasan lidah buaya, air perasan kulit nanas, asam cuka dapur (asam cuka glacial), starter *Acetobacter xylinum*, gula pasir, ekstrak tauge
3. Cara Kerja
 - a. Merebus air kelapa/air kecutan tahu/air cucian beras/air perasan kulit nanas dalam wadah terpisah sampai mendidih lalu mendinginkannya setelah itu disaring. Air nanas disiapkan dengan cara: memarut nanas lalu memerasnya menggunakan air matang.
 - b. Membuat ekstrak tauge: 100 gram tauge direbus dengan 2 gelas air setelah itu disaring.
 - c. Air rebusan yang telah didinginkan dan disaring kemudian ditambahkan 100 gram gula pasir, 100 cc ekstrak tauge kemudian direbus kembali, setelah mendidih didinginkan dan disaring.
 - d. Menambahkan 100 cc asam asetat glacial 25% (cuka dapur)
 - e. Menambahkan 100 cc starter biakan murni *Acetobacter xylinum*.
 - f. Menuangkan air nata kedalam toples dan menutup toples dengan kain bersih, diikat karet dan dialasi nampan berisi air lalu menginkubasi pada suhu kamar.
 - g. Mengamati ketebalan nata pada hari ke-14.
 - h. Mangangkat nata yang sudah terbentuk dan menimbanginya.
 - i. Mencuci dan merebus nata serta melakukan analisis organoleptik.

DAFTAR PUSTAKA

- Basak B, Md. Ahsan HP, Muhammad SR, Sharif UT, Bimol CR. 2002. *Azolla (Azolla pinnata)* as a feed ingredient in broiler ration. *Poultry Science* 1(1): 29-34. URL: <http://www.pjbs.org/ijps/fin9.pdf>.
- Chatterjee T, Pradeep KS, Shilipi C. 2012. Diversity of arbuscular mycorrhizal fungi associated with the rhizosphere of some existing plants in iron ore mines of Chhattisgarh, India. *Mycorrhiza News* 24(2): 7-10. ISSN : 0970-69X.
- Finlay RD. 2008. Ecological Aspects of Mycorrhizal Symbiosis: with Special Emphasis on The Functional Diversity of Interactions Involving The Extraradical Mycelium. *Experimental Botany* 59(5): 1115–1126. DOI: 10.1093/jxb/ern059.
- Hadioetomo RS. 1985. Mikrobiologi dasar dalam praktek: Teknik dan prosedur dasar laboratorium. Jakarta: Gramedia.
- Iskandar, Muhammad Z, Sri M, Umi F, Indah S, Juchairawati. 2010. Pembuatan film selulosa dari nata de pina. *J Rekayasa Kimia dan Lingkungan* 7(3): 105-111. ISSN 1412-5064.
- Kismiyati, Sri S, R. Wahid NY, Rahayu K. 2009. Isolasi Dan Identifikasi Bakteri Gram Negatif pada Luka Ikan Maskoki (*Carassius auratus*) Akibat Infestasi Ektoparasit *Argulus* sp. *J Ilmiah Perikanan dan Kelautan* 1(2): 129-134. URL: <https://www.scribd.com/doc/190172905/isolasi-bkteri-pdf>.
- Nadiyah, Krisdianto, Aulia. 2005. Kemampuan Bakteri *Acetobacter xylinum* Mengubah Karbohidrat pada Limbah Padi (Bekatul) Menjadi Selulosa. *J Bioscientiae* 2(2): 37-47. URL: <http://digilib.unimus.ac.id/files/disk1/129/jhptunimus-gdl-indahputri-6442-5-daftarp-a.pdf>.
- Nurjanna. 2001. Isolasi, identifikasi, dan penentuan jumlah bakteri asal tambak tanah gambut. *J Buletin Teknik Pertanian* 6(2): 77-80. ISSN: 0853-8379.
- Parwanayomi NMS. 2008. Pergantian populasi bakteri heterotrof, algae, dan protozoa di Lagoon BTDC unit penangan limbah Nusa Dua Bali. *J Bumi Lestari* 8(2): 180-185. URL: <http://ojs.unud.ac.id/index.php/blje/article/download/2446/1674>.
- Pelczar M. 1986. Dasar-dasar mikrobiologi. Jakarta: UI Press.
- Proborini MW, Made S, Wayan S, Ristiati NP. 2013. Indigenous Vesicular Arbuskular Mycorrhizal (VAM) Fungi in Cashew Nut (*Anacardium occidentale* L.) Plantation of North East Bali Island Indonesia. *Biology, Agriculture and Healthcare* 3(3): 114-122. URL: <http://ebscohost.com/c/articles/89002706>.
- Purnomo H, Sri A, Aulia A. 2009. Perbandingan kualitas nata de soya antara limbah pembaceman dan limbah pewarnaan dari limbah tempe. *J Wahana Bio* 2(2): 40-51. URL: <http://ejournal.unlam.ac.id/index.php/wbio/article/view/23>.
- Puspitasari FD, Maya S, Nengah DK. 2012. Isolasi dan karekteristik bakteri aerob proteolitik dari tangki septik. *J Sains dan Seni ITS* 1(1): 1-4. ISSN: 2301-928X.
- Singleton, Sainsbury. 2006. Dictionary of microbiology and molecular biology. 3rdEd. England: John Wiley and Sons Inc. Sussex.
- Smith SE, Read DJ. 2008. Mycorrhizal symbiosis. 3rdEd. USA: Elsevier Ltd.
- Sumarsih S. 2003. Mikrobiologi dasar. Yogyakarta: Universitas Pembangunan Negeri.
- Susilawati L, Mubarik NR. 2002. Pembuatan *nata de coco* dan *nata de radia*. Bogor: Institut Pertanian Bogor.

LAMPIRAN

Lampiran 1.

Daftar Co-Asisten Praktikum Mikrobiologi Pertanian 2014

No.	NAMA	NIM
1.	Muhammad Ardian Nur Setyawan	H0711064
2.	Achmad Adi Surya Sustama	H0711002
3.	Nurma Saraswati	H0711077
4.	Renita Ratna Prahesti	H0711086
5.	Bramasta Dwi Putra	H0712045
6.	Dewi Rastikawati	H0712055
7.	Nestri Yuniardi	H0712136
8.	Trianto Idham Wardono	H0712176
9.	Arikhna Rizqiyana	H0213007

Lampiran 2.

Daftar Praktikan Praktikum Mikrobiologi Pertanian 2014

KELAS AGT-A

NO	NIM	NAMA
1.	H0713034	AVIE ELDEKA PUTRI
2.	H0713038	CHRISTIAN YOGATAMA S
3.	H0713044	DEA ADELIN
4.	H0713048	DEWI RIYANA
5.	H0713049	DEWI SARI AMANAH
6.	H0713050	DHELTA WAHYU SYLVIANA
7.	H0713051	DHENOK PRAMESTHI P
8.	H0713053	DIAN KHOIRI INAYAH
9.	H0713054	DIAN YULIANTI
10.	H0713057	DWI ENDANG PUJOWATI
11.	H0713061	EGA YUANA PUTRI
12.	H0713064	ERINA PANGESTUTI
13.	H0713066	FAGIH ILHAM R
14.	H0713073	FIDA AZIZAH
15.	H0713084	HARUN RAHMAD WIBOWO
16.	H0713087	ICH LISTIANI
17.	H0713131	NINING WINARSIH
18.	H0713142	PUTRI RATNASARI
19.	H0713150	RATIH SETYO UTAMI
20.	H0713151	RATRYNINGTYAS NINDYASTUTI
21.	H0713152	RENI MARGANI
22.	H0713153	REZA WORO PRASASTY
23.	H0713154	RIA AYUDYA

KELAS AGT-B

NO	NIM	NAMA
1.	H0712046	BRYANT RIZKY G
2.	H0713016	AKMILIA RISTINA W
3.	H0713028	ARIA JODI WIRAATMAJA
4.	H0713029	ARIEF DHARMA
5.	H0713032	ARSY YULIA HAPSARI
6.	H0713036	AZZUMARU YUMNA
7.	H0713043	DARU NURDIANNA
8.	H0713047	DESTRIATI
9.	H0713063	ENISA SRI WIJAYANTI
10.	H0713065	ETIK LESTARI
11.	H0713069	FARADHITHA RAHMA Y
12.	H0713070	FARIZ RAHMANSYAH
13.	H0713074	FITRI RAHMAWATI
14.	H0713085	HASRUL AZAM AFRI
15.	H0713090	IMAM YOGA PRATAMA
16.	H0713091	INAYAH BUDI LESTARI
17.	H0713095	JUNAIDI MUNTOYIB

18.	H0713097	KENT PINAKA P R
19.	H0713099	KHALYFAH HASANAH
20.	H0713107	LUTFI 'AZIZAH
21.	H0713109	M IDHAM CHOLID
22.	H0713114	MAYMUNAH NASUTION
23.	H0713115	MEILYSA WULANDARI
24.	H0713123	MUHAMAD REZA CAHYANTO
25.	H0713125	MUHAMMAD BOGI OKTAFANI
26.	H0713126	MUHAMMAD INDRA WIBOWO
27.	H0713140	PUTRI RAHAYU
28.	H0713144	QONITA MIFTAKHUL JANNAH
29.	H0713145	RACHMA SIWI DAMARYANI
30.	H0713163	RORO FIRMAN ALFIANI
31.	H0713169	SEPTIANA RAWANDARI
32.	H0713170	SEPTIANTI HEPRI SAPUTRI
33.	H0713179	SUKMA DEWI DESVANI
34.	H0713180	TEGUH PRASTYA
35.	H0713189	VIRGIAWAN SINULINGGA
36.	H0713196	YAHYA KHAIRUL HAKIM

KELAS AGT-C

NO	NIM	NAMA
1.	H0713012	AGUS SANTIKA SITEPU
2.	H0713018	ALIYATUN NAFIAH
3.	H0713023	ANGGA RISTA DINATA
4.	H0713024	ANGGUN
5.	H0713025	ANIS NURHAYATI
6.	H0713026	ANISYAH CHOLIFAH
7.	H0713041	DANU DANISWARA
8.	H0713045	DEBY HARVIANITA
9.	H0713062	ELLYVIA TRISNAWATI
10.	H0713067	FAJAR PRAKOSO M
11.	H0713071	FAUZAN SYAKUR NUGROHO
12.	H0713075	FITRIANA SARI
13.	H0713081	GRACE YUNIAR NAPITUPULU
14.	H0713096	KARTIKA DEWI RAHMAWATI
15.	H0713102	LASIAH DWI MARGI W
16.	H0713110	MAHARANI NURJANAH
17.	H0713119	MOHAMMAD NUR UDIN
18.	H0713121	MUALIM ANUNG PRASTAWA
19.	H0713133	NOVITASARI ANGGREINI
20.	H0713134	NUR AZIZAH ATIKA
21.	H0713135	NURHAYATI P
22.	H0713137	NURKHOLIS MAJID
23.	H0713138	NURUL HASANAH

24.	H0713139	PUJI JUHARIDA
25.	H0713156	RIFQI RAMADHANI
26.	H0713157	RIFQI SYARIF MUHAMMAD
27.	H0713158	RINA PUJI LESTARI
28.	H0713168	SEPTIAN NUR ROHMAN
29.	H0713186	VANIA NATASHA D

KELAS AGT-D

NO	NIM	NAMA
1.	H0713003	ADE IMAM MUSTOFA
2.	H0713005	ADHISTI NDARU M
3.	H0713007	ADI KURNIANTO
4.	H0713010	AGASTYA PUTRA P
5.	H0713015	AJI BAGAS SANTOSO
6.	H0713030	ARINDRA MUFTI
7.	H0713037	CHRISDIO ADI LISTYANTO
8.	H0713042	DARMAWAN PRIYO UTOMO
9.	H0713052	DHIO WIRA ALANDA
10.	H0713055	DIYAHAYU PUTRI DAMAYANTI
11.	H0713068	FANDWIKI FAISHAL
12.	H0713076	G'LORA JAYANTIE
13.	H0713088	IFFAH YUSRIFANI
14.	H0713094	IVADLIL KAMAL
15.	H0713103	LEVIANA EKA VIVIA WATI
16.	H0713118	MOHAMMAD ILHAM A
17.	H0713120	MONI MAJULIKA
18.	H0713122	MUCHAROMAH QODLIYATI
19.	H0713136	NURI ESTIY FADHO
20.	H0713149	RAHMAWATI FITRIA
21.	H0713159	RINA SISWANTI
22.	H0713160	RISA WIDYASARI
23.	H0713162	ROBBY YATUL A DAWIYAH
24.	H0713164	ROSIANA PERMADHANI
25.	H0713166	SATRIYA PUTRA PRATAMA
26.	H0713175	SITI NUR LATIFAH
27.	H0713176	SITI WULANDARI
28.	H0713178	SRI LANANG AJI SUKMA GUSTI
29.	H0713181	TIARA DEWI
30.	H0713183	TIWI RACHMAWATI
31.	H0713185	UPIK LESTARI MUKTI
32.	H0713188	VINANDITA EKA KUNTARI
33.	H0713190	WAHYU LESTARI
34.	H0713191	WAHYU NISA SEPTIANA

35.	H0713192	WIAN MAHASTI
36.	H0713197	YANUAR MAHIR HERMAWAN
37.	H0713198	YOFA ODI PRATAMA
38.	H0713201	YUSUF WILIS SAPUTRO
39.	H0713202	ZULFAN RIZQI R

KELAS AGT-E

NO	NIM	NAMA
1.	H0711052	KHOLID SYAIFULLAH
2.	H0713001	ADAM BAGASKARA PUTRA
3.	H0713006	ADHITYA VISHNU PRADANA
4.	H0713008	ADIE BAYU PUTRA
5.	H0713017	ALFIAN AJI KAUTSAR
6.	H0713027	ANTON NURROHMAN
7.	H0713033	ATIKA SUGIYANTO
8.	H0713086	HESTI MARGANINGSIH
9.	H0713089	IGA WIDIANA
10.	H0713092	ASABELLA ANJANI
11.	H0713093	ITSNANI RATNA W
12.	H0713098	KHAIRUNNISA D
13.	H0713101	LAELA DWI JAYANTI
14.	H0713104	LILIS IKE NUR C
15.	H0713105	LISTYA PUTRI D
16.	H0713111	MAHARANI PUTRI HIKAM
17.	H0713116	MENTARI NURUL L
18.	H0713128	MURNININGSIH
19.	H0713172	SIDIK NUR CAHYO U
20.	H0713173	SITI FATIMAH
21.	H0713203	RILO EKO PRIYATMOJO

KELAS AGT-I

NO	NIM	NAMA
1.	H0713002	ADE BRIAN NUGRAHA
2.	H0713004	ADE INDAH OCTAVIA LUMBANTOBING
3.	H0713009	ADITYA ATMA NEGARA
4.	H0713019	AMI KURNIA DAYANTI
5.	H0713035	AYU MARDANI
6.	H0713040	DANANG TARUNO
7.	H0713059	E.A LINTANG WARDYANI
8.	H0713079	GENDRO INDRI W
9.	H0713083	HANNURA HOSEA
10.	H0713100	KRISTI KARTIKA
11.	H0713106	LUCKY LAKSITA HAPSARI

12.	H0713112	MARGARETHA DEWI A
13.	H0713113	MARIA CHRISTIA Y A
14.	H0713130	NATASHA ERVIA PINASTHIKA
15.	H0713132	NOVI IRMA PURWANTI
16.	H0713146	RAHMANIA ZARA
17.	H0713147	RAHMANTO
18.	H0713161	RIZKA NUGRAHENI P
19.	H0713167	SELLIA VIRGIA R
20.	H0713193	WIDYA KARTIKA LAKSMAWATI
21.	H0713195	WULAN DARI
22.	H0714171	MUHAMAD AMIRUDDIN BIN HASHIM
23.	H0714174	NURLIYANA BINTI NORDIN
24.	H0714175	NURUL ATIKAH BINTI RAZMI

Lampiran 3.

Daftar Kelompok serta Co-Asisten Pendamping
Praktikum Mikrobiologi Pertanian 2014

Muhammad Ardian Nur Setyawan	
KELOMPOK 3	KELOMPOK 4
Dea Adelin	Dian Yulianti
Inayah Budi L	Grace Yuniar Napitupulu
Kent Pinaka Pinasti R	Junaidi Muntoyib
M. Bogi O	Maharani N
Puji Juharida	Nurhayati P
KELOMPOK 22	KELOMPOK 29
Arindra Mufti	Ade Brian Nugraha
Ayu Mardani	Azizah A
Putri Ratnasari	Deby Harvianita
Siti Nur Latifah	Mualim A
Virgiawan S	M. Nur Udin
	Rizka NP
Achmad Adi Surya Sustama	
KELOMPOK 1	KELOMPOK 2
Gendro Indri W	Faradhita Rahma Y
Kartika Dewi R	Imam Yoga Pratama
Reza Woro P	Isabella Anjani
Vania Natasha T	Murniningsih
Yahya KH	Nurul Hasanah
KELOMPOK 32	
M Indra Wibowo	
Muhammad Amiruddin Bin Hashim	
Nurliyana Binti Nordin	
Nurul Atikah Binti Razmi	
Rina PL	
Nurma Saraswati	
KELOMPOK 5	KELOMPOK 6
Ade Indah Oktavia	Aditya Atma Negara
Agus Santika Sitepu	Dewi Riyana
Fida Azizah	Enisa SW
Lasiah Dwi MW	Robbyatul Adawiyah
Ria A.	Wahyu Lestari
	Yofa Odi P
KELOMPOK 15	
Adhisti Ndaru M	
Aliyatun Nafi'ah	
Christian Yoga	
Ich Listiani	
Listya P	
Renita Ratna Prahesti	
KELOMPOK 7	KELOMPOK 8
Dhenok Pramesthi P	Darmawan Priyo U

Fitri Rahmawati	Ega Yuana P
Wahyu Nisa Septiana	Ellyvia T
Satriya Putra Pratama	Sidik Nur Cahyo U
Zulfan R	Maharani Putri H
KELOMPOK 16	KELOMPOK 23
Dhio Wira A	Ami Kurnia Dayanti
Dyahayu Putri	Khalyfah H
Fauzan Syakur	Ratih Setyo Utami
G'loria Jayantie	Sri Lanang Aji SG
	Sukma Dewi D
Bramasta Dwi Putra	
KELOMPOK 9	KELOMPOK 10
Adie Bayu Putra	Arief Dharma
Dhelta Wahyu S	Dwi Endang P
Dian Khoiri I	Erina Pangestuti
Siti Wulandari	Fandwiki Faishal
Tiwi Rahmawati	Upik Lestari Mukti
KELOMPOK 17	KELOMPOK 24
Fajar Prakoso	Leviana Eka VW
Lilis Ike NC	M Idham Cholid
Kholid Syaifullah	Margaretha DA
Septian NR	Rahmawati F
Septianti Hepri S	Teguh Prasetyo
	Wulandari
Dewi Rastikawati	
KELOMPOK 11	KELOMPOK 18
Anis Nurhayati	Adam Bagaskara P
Anton N	Atika Sugiyanto
Arsy Yulifa H	Bryant Rizky G
Daru Nurdianna	Etik Lestari
Itsnani RW	Yusuf WS
Siti Fatimah	
KELOMPOK 25	
Aji Bagus	
Ivadril Kamal	
Lucky L	
Rina Siswanti	
Roro Firman Alfiani	
Nestri Yuniardi	
KELOMPOK 12	KELOMPOK 19
Aga Widiana	Adhitya Vishnu P
Anisyah Cholifah	Agastya Putra P
Azzumaru Yumna	Lutfi 'Azizah
Hasrul Azam A	Meilysa W
Qonita MJ	Ratryningtyas N
	Tiara Dewi
KELOMPOK 26	KELOMPOK 30
Kristi K	Danu Daniswara

Moni Majulika	Fitriana Sari
Nur Estiy Fadho	Novita Sari
Septiana Rawandari	Rahmania Z
Yanuar Mahir	Rifki Syarif
Trianto Idham Wardono	
KELOMPOK 13	KELOMPOK 20
Akmilia Ristina W	Ade Imam M
Angga Rista D	Altari Aji K
Aria Jodi W	Hesti Merganingsih
Khairunnisa D	Reni Margani
Putri Rahayu	Rosiana Permadhani
KELOMPOK 27	KELOMPOK 31
Destriati	Muh Reza Cahyanto
Hanura Hosea	Natasha
Risa Widiasari	Nur Kholis M
Sellia Virgu R	Rachma SD
Widya Kartika L	Rahmanto
Arikhna Rizqiyana Fihry	
KELOMPOK 14	KELOMPOK 21
Anggun	Adi Kurnianto
Avie Eldeka	Chrisdhio Adil
Danang Taruno	Laela Dwi Jayanti
Dewi Sari Amanah	Nining Warnasih
Mentari NL	Vinandita Eka Kuntari
KELOMPOK 28	KELOMPOK 33
EA Lintang	Harun Rahmad W
Iffah Yusrifani	Rifqi Ramadhani
Moh. Ilham A	Novi Irma
Mucharomah Q	Maymunah Nasution
Wian Mahasti	Rilo Eko