



MODUL PRAKTIKUM

MATA KULIAH :

TEKNOLOGI ISOLASI DAN PERBANYAKAN AGENSIA HAYATI (KP 241)

TIM PENYUSUN:

1. Ir. Agung Astuti, M.Si.
2. Innaka Ageng Rineksane, S.P., M.P., Ph.D.
3. Ir. Mulyono, M.P
4. Dina Wahyu Trisnawati, S.P., M.Agr.Ph.D



**LEMBAR PENGESAHAN
MODUL PRAKTIKUM NON ISBN**

1.	Judul	: MODUL PRAKTIKUM TEKNIK ISOLASI & PERBANYAKAN AGEMSIA HAYATI
2.	Penyusun	: Innaka Ageng Rineksane, SP.MP, PhD Dr. Siti Aisyah, SP. MP Ir. Agung Astuti, M.Si Ir. Mulyono, MP. Genesiska, S.Si.MSc. Taufiq Hidayat, SP.MSc.
3.	NIK	: 19721012200004133050 19891026201810133068 19620923199303133017 196006081989031002 19890904201604133062 19880618201810133065
4.	Unit Kerja	: Prodi Agroteknologi

Yogyakarta, Januari 2020
Ketua Program Studi Agroteknologi



(Innaka Ageng Rineksane, SP.MP. PhD)
NIK: 19721012200004133050

KATA PENGANTAR

Assalamu'alaikum Wr Wb.,

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas limpahan rahmat dan karunianya sehingga Buku Panduan Praktikum Teknik Isolasi & Perbanyakan Agensia Hayati Fakultas Pertanian UMY tahun 2019 telah dapat diselesaikan. Buku panduan ini merupakan penyempurnaan dari edisi sebelumnya, sebagai pedoman bagi mahasiswa Program Studi Agroteknologi dalam melaksanakan praktikum dan memberikan petunjuk praktis agar mahasiswa mendapatkan gambaran secara jelas dalam melakukan isolasi dan perbanyakan agensia hayati baik sebagai pupuk hayati, biopestisida maupun untuk rekayasa tanaman.

Terimakasih disampaikan kepada Ir. Indira Prabasari, MP.PhD (Dekan), Innaka Ageng Rineksane, SP. MP. PhD (Kaprosdi), Genesiska, SSi. MSc (Koord. Lab.). Terimakasih juga disampaikan kepada Innaka Ageng Rineksane, SP. MP. PhD, Ety Handayani, SP.MSi., Taufiq Hidayat, SP. MP atas kontribusi dalam penyempurnaan buku Panduan ini. Terimakasih kepada Sumarsih yang telah berkontribusi dalam editing serta dan semua pihak yang telah ikut membantu dalam penyelesaian buku ini.

Kami menyadari masih terdapat kekurangan dalam buku Panduan Praktikum ini, untuk itu kritik dan saran terhadap penyempurnaan buku ini sangat diharapkan. Semoga buku Panduan Praktikum ini bermanfaat bagi mahasiswa Agroteknologi khususnya dan bagi semua pihak yang membutuhkan.

Yogyakarta, Januari 2020

Koordinator Praktikum &
Penyusun Buku,

Ir. Agung Astuti, MSi.

DAFTAR ISI

Kata Pengantar.....	i
Daftar Isi.....	iii
Tata Tertib.....	vii
Sterilisasi.....	1
Insektisida Nabati.....	6
Fungisida dan Bakterisida Nabati.....	10
Herbisida Nabati.....	14
Isolasi Jamur Untuk Biopestisida.....	16
Isolasi Bakteri Untuk Biopestida.....	20
Pembuatan Media.....	23
Dekomposisi Bahan Organik.....	30
Mikoriza Vesikular Arbuskular (MVA).....	37
Bakteri Pelarut Phospat.....	42
Fiksasi Nitrogen Simbiotik.....	46
<i>Rhizobacteri</i> Cekaman Kekeringan dan Salinitas.....	55
Perbanyakan Bakteri <i>Agrobacterium tumefaciens</i>	61
Transformasi Genetik Pada Tanaman.....	64
Inokulasi dan Screening Hasil Transformasi.....	68
Daftar Pustaka.....	70

ACARA

A. BIOPESTISIDA KIMIA

1. Isolasi Biopestisida Nabati
2. Isolasi Biofungisida/ Biobakterisida Nabati
3. Isolasi Jamur untuk Biopestisida
4. Isolasi Bakteri untuk Biopestisida

B. BIOPESTISIDA MIKROBIA

1. Isolasi Mikrobial Dekomposer
2. Isolasi Mikrobial Pelarut Phosphat
3. Isolasi Mikrobial Fiksasi Nitrogen
4. Isolasi Mikrobial PGPR & *Rhizobacteri*

C. REKAYASA TANAMAN

1. Isolasi DNA
2. PCR
3. Perbanyakkan Bakteri *Agrobacterium* sp
4. Transgenik Tanaman

TATA TERTIB

Sebelum Praktikum

1. Praktikan berpakaian sopan mengikuti aturan yang telah ditetapkan oleh Universitas Muhammadiyah Yogyakarta
2. Praktikan wajib mempelajari acara praktikum pada hari itu (lihat acara dan jadwal praktikum)
3. Praktikan harus siap di laboratorium 10 menit sebelum praktikum dimulai. Bagi yang terlambat lebih dari 10 menit tidak diijinkan mengikuti praktikum
4. Praktikan memberikan surat ijin secara tertulis dan dapat dipercaya jika berhalangan hadir
5. Membawa buku catatan, ballpoint, pensil 2B, kain lap/ serbet dan korek api

Selama Praktikum

1. Praktikan harus membawa jas praktikum dan dipakai waktu akan masuk laboratorium
2. Co- asisten mengadakan test acara yang bersangkutan selama 10- 15 menit
3. Asisten memberikan asistensi acara yang bersangkutan selama 15- 30 menit
4. Praktikan wajib mematuhi petunjuk- petunjuk yang diberikan asisten
5. Bekerja dengan hati- hati dan jika merusakkan alat harus segera dilaporkan asisten serta menjadi tanggung jawab praktikan yang bersangkutan
6. Sepuluh menit sebelum praktikum berakhir maka praktikan harus bersiap- siap untuk membuat laporan
7. Praktikan membuat laporan sementara yang disyahkan oleh asisten/ co-asisten

Setelah Praktikum

1. Praktikan harus membuat laporan sesuai petunjuk asisten dan diserahkan pada praktikum acara berikutnya (3- 4 hari setelah praktikum)
2. Jika tidak membawa laporan atau sebelum selesai 75% (sampai pembahasan) maka akan diberi tugas khusus
3. Praktikan harus membuat Proposal Proyek Penelitian dan dipresentasikan pada acara VIII
4. Praktikan harus membuat laporan Proyek Penelitian dan dipresentasikan

Lain- Lain

1. Praktikan harus mengikuti semua acara
2. Praktikum dianggap gagal apabila tidak mengikuti semua acara yang ditetapkan: tidak mengikuti pengamatan, tidak membuat laporan, maupun tidak ikut responsi

STERILISASI

Bekerja di laboratorium Agrobioteknologi diperlukan keadaan yang aseptis untuk menghindari terjadinya kontaminasi. Ruang atau lingkungan kerja, alat- alat dan bahan sebelum digunakan harus disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi adalah usaha untuk membebaskan ruangan atau lingkungan alat- alat dan bahan dari segala bentuk kehidupan terutama mikrobia yang tidak diinginkan (kontaminan). Cara sterilisasi berbeda- beda tergantung pada tujuan, sifat dan macam alat atau bahan. Sterilisasi dapat dilakukan secara fisik misalnya dengan pemanasan atau penyinaran, secara mekanik misalnya dengan penyaringan atau secara kimiawi misalnya dengan desinfektan.

Tujuan dari praktikum ini adalah mengenal beberapa metode sterilisasi, mengenal alat sterilisasi meliputi nama, bentuk, fungsi dan prinsip kerja.

A. STERILISASI DENGAN PEMANASAN

Sterilisasi dengan pemanasan merupakan cara yang paling banyak dipakai.

Adapun macam- macam sterilisasi dengan pemanasan antara lain:

a. Sterilisasi dengan Pemijaran

Cara ini terutama dipakai untuk sterilisasi alat- alat yang terbuat dari logam (platina) misalnya: jarum ose, jarum preparat dll. Caranya ialah dengan membakar alat- alat tersebut diatas nyala lampu spiritus sampai berpijar.

b. Sterilisasi dengan Udara kering

Alat yang biasa digunakan ialah *Hot air sterilizer* (oven). Alat ini digunakan untuk mensterilkan alat- alat yang terbuat dari gelas, misalnya: tabung reaksi, Erlenmeyer, Petridis dan lain- lain. Disamping itu juga digunakan untuk mensterilkan bahan- bahan seperti: kain, kpas, kertas dan

lain- lain. Sterilisasi dengan cara ini dilakukan pada suhu (170- 180)^oC selama paling sedikit 2 jam bergantung alat dan bahan serta ketahanannya terhadap panas.

c. Sterilisasi dengan Uap Air

Alat yang biasa digunakan adalah *Arnold Steam Sterilizer*. Bahan- bahan yang disterilkan dengan cara ini pada umumnya adalah bahan yang tidak tahan terhadap panas yang tinggi, misalnya medium kultur. Dengan cara ini sel- sel vegetatif mikrobial mati pada suhu 100^oC dalam keadaan lembab. Untuk mematikan bakteri- bakteri yang berspora, bahan disterilkan berulang- ulang (setelah inkubasi 24 jam diulangi 2 kali).

d. Sterilisasi dengan Uap Air Panas Bertekanan

Alat yang digunakan adalah Otoklaf (Autoclave). Alat ini terdiri atas bejana tahan terhadap tekanan tinggi yang dilengkapi manometer, thermometer dan klep pengaman. Sterilisasi dengan otoklaf merupakan cara sterilisasi yang paling baik jika dibandingkan dengan cara- cara sterilisasi yang lain, seperti yang tersebut diatas. Bahan- bahan dan alat- alat yang disterilkan adalah bahan- bahan dan alat- alat yang tidak rusak karena pemanasan dan tekanan tinggi. Sterilisasi dilakukan dengan menggunakan uap air panas pada temperatur 121^oC, pada tekanan 1 atm (15 psi) selama 15- 30 menit.

B. STERILISASI SECARA KIMIA

Sterilisasi kimia dilakukan dengan menggunakan bahan kimia biasa disebut **desinfektan**, dan prosesnya sendiri disebut **desinfeksi**. Usaha desinfeksi dapat bersifat sempurna menghambat mikrobia, namun demikian kesempurnaan itu akan bergantung pada jenis, kadar desinfektan yang digunakan dan lama kontak desinfektan dengan mikrobia. Beberapa desinfektan yang biasa digunakan misalnya: etanol, alkohol, yodium, sublimat dan lain- lain. Desinfektan digunakan untuk sterilisasi:

1. Bahan tanaman, seperti: bintil akar, eksplan kultur in vitro
2. Alat gelas, seperti: drigalsky, batang pengaduk, gelas arloji
3. Ruang atau tempat inokulasi

Acara Praktikum: Sterilisasi Pemanasan

Bahan- bahan yang diperlukan:

1. Lampu spiritus, otoklaf, oven
2. Kertas perkamen, kapas dan alkohol 70%
3. Jarum inokulasi, jarum ose, drigalsky, tabung reaksi, Petridis, Erlenmeyer

Cara kerja:

- a. Sterilisasi Pemijaran dengan Lampu spiritus
 1. Celupkan jarum inokulasi dan jarum ose dalam larutan alkohol 70%
 2. Pijarkan diatas nyala lampu spiritus dan diulangi dua kali
- b. Sterilisasi Uap Air Panas Bertekanan dengan Otoklaf
 1. Sumbat tabung reaksi dan Erlenmeyer dengan kapas
 2. Bungkus alat- alat gelas dengan kertas perkamen

3. Masukkan alat- alat pada nomor 2 dalam otoklaf
4. Tutup dan kencangkan baut otoklaf serapat mungkin
5. Buka klep pembuangan udara
6. Panaskan diatas kompor hingga udara didalam otoklaf keluar semua
7. Tutup klep pembuangan udara
8. Tunggu sampai temperatur menunjukkan pada suhu 121°C (tekanan 1 atm)
9. Atur panas kompor sehingga temperaturnya tetap selama 30 menit
10. Matikan kompor dan diamkan sampai tekanan dalam otoklaf nol atm
11. Buka klep pembuangan udara dan buka baut otoklaf
12. Keluarkan semua lat- alat yang ada didalamnya selanjutnya dikeringkan dengan oven (170- 180)°C selama paling sedikit 2 jam



UMY

UNIVERSITAS
MUHAMMADIYAH
YOGYAKARTA

Unggul & Islami