

Universitas Muhammadiyah Malang



**Buku Saku Petunjuk Pelaksanaan**

# Pembelajaran Produksi Agen Hayati

Membangun Ruang Belajar  
Eksploratif dan komperhensif untuk  
Siswa SMK Bidang Pertanian

Erfan Dani Septia, Aulia Zakia, Agus Zainudin, Maftuchah,  
Akhmad Rizal Oktafian, Iqbal Maulana Zulfan

## **Pengantar**

Selamat membaca buku saku ini yang membahas petunjuk pelaksanaan pembelajaran produksi agen hayati untuk siswa SMK bidang pertanian. Buku ini bertujuan memberikan panduan mendalam kepada pendidik dan siswa dalam mengembangkan keterampilan dan pengetahuan terkait pertanian modern. Dengan fokus pada keanekaragaman hayati, pembelajaran ini diarahkan untuk meningkatkan ketahanan pangan dan keberlanjutan lingkungan. Buku saku ini bukan hanya panduan praktis, tetapi juga sumber inspirasi untuk menciptakan ruang belajar eksploratif dan komprehensif. Disajikan dengan langkah-langkah praktis, studi kasus, dan ide kreatif, pembaca diajak untuk mengadopsi metode inovatif guna meningkatkan keterlibatan siswa. Harapannya, melalui praktik-praktik terbaik ini, siswa dapat tumbuh menjadi individu kreatif dan mandiri, siap menghadapi dinamika dunia pertanian modern. Semoga buku ini menjadi mitra setia bagi pendidik dan siswa, membuka peluang baru dalam pengembangan kemampuan dan pemahaman di bidang produksi agen hayati. Selamat mengeksplorasi dunia inovasi pembelajaran.

[Penulis]

## Daftar Isi

Sampul .....	i
Pengantar .....	ii
Daftar Isi .....	iii
Pengambilan Sampel Tanah Rhizosfer Tanaman .....	1
Isolasi Mikroba Tanah Rhizosfer .....	3
Purifikasi/Pemurniaan .....	9
Pembuatan Alat Fermentor dan Perbanyakan Bakteri.....	13
Perhitungan Kerapatan Sel Bakteri .....	19
Daftar Pustaka .....	23

## **I. Pengambilan Sampel Tanah Rhizosfer Tanaman**

### **A. Definisi**

Kegiatan yang dilakukan untuk memperoleh sampel tanah di sekitar perakaran tanaman.

### **B. Tujuan**

Memperoleh sampel tanah di sekitar perakaran tanaman yang digunakan dalam isolasi mikroba.

### **C. Alat**

- a. Sekop
- b. Penggaris

### **D. Bahan**

- a. Tanah Rhizosfer
- b. Plastik

### **E. Fungsi Alat**

- a. Sekop: digunakan untuk menggali tanah di sekitar perakaran tanaman.

- b. Penggaris: berfungsi untuk mengukur kedalaman tanah yang akan diambil.

#### F. Fungsi Bahan

- a. Tanah Rhizosfer: sebagai sampel yang digunakan dalam isolasi mikroba.
- b. Plastik: sebagai wadah tanah rhizosfer yang sudah diperoleh.

#### G. Metode Pelaksanaan

- a. Memilih 5 titik pada daerah perakaran tanaman yang akan diambil.
- b. Menggali titik-titik tersebut dengan kedalaman 20 cm hingga 40 cm dengan menggunakan sekop.
- c. Mencampur dalam wadah plastik sehingga tanah rhizosfer homogen.
- d. Sampel tanah rhizosfer siap di isolasi.

## II. Isolasi Mikroba Tanah Rhizosfer

### A. Definisi

Merupakan proses kegiatan memindahkan mikroba dari tanah rhizosfer ke dalam media buatan.

### B. Tujuan

Untuk memperoleh keanekaragaman mikroba yang terdapat dalam tanah rhizosfer.

### C. Alat

- a. Cawan Petri
- b. *Spreader*
- c. Tabung Reaksi
- d. Mikro Pipet
- e. Pipet Ukur
- f. LAF (*Laminar Air Flow*)
- g. Bunsen

### D. Bahan

- a. Tanah Rhizosfer
- b. Alkohol 96%

- c. Alkohol 70%
- d. Aquades
- e. Plastik Wrap
- f. Media NA
- g. Label

E. Fungsi Alat

- a. Cawan Petri: sebagai tempat perkembangbiakan mikroba dalam media NA.
- b. *Spreader*: digunakan untuk isolasi mikroba dengan metode *spread plate*/sebar.
- c. Tabung Reaksi: sebagai tempat pengenceran bertingkat untuk mengurangi kepadatan dari mikroba.
- d. Mikro Pipet: digunakan untuk mengambil suspensi sebanyak 10  $\mu\text{L}$  yang diisolasi dalam media NA.

- e. Pipet Ukur: digunakan mengambil aquades sebanyak 9 ml dan 1 ml untuk pengenceran bertingkat.
- f. LAF (*Laminar Air Flow*): sebagai meja kerja steril yang digunakan untuk isolasi mikroba.
- g. Bunsen: digunakan untuk sterilisasi *spreader* pada saat isolasi mikroba.

#### F. Fungsi Bahan

- a. Tanah Rhizosfer: sebagai sampel yang digunakan untuk isolasi mikroba.
- b. Alkohol 96%: digunakan untuk sterilisasi *spreader* pada saat isolasi mikroba.
- c. Alkohol 70%: berfungsi sebagai antiseptik atau disinfektan tangan pada saat kerja dalam LAF.
- d. Aquades: larutan yang digunakan dalam proses pengenceran bertingkat untuk melarutkan sampel tanah.

- e. Plastik Wrap: berfungsi untuk menutup mulut cawan petri yang telah dilakukan isolasi.
- f. Media NA: media yang berfungsi untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroba.
- g. Label: digunakan untuk memberi nama/identitas dari hasil isolasi.

#### G. Metode Pelaksanaan

- a. Mengisi tabung reaksi menggunakan aquades dengan perbandingan sampel tanah dan volume tabung pertama adalah 1:9, sehingga aquades sebanyak 9 ml dan sampel tanah 1 gram dalam tabung reaksi pertama ( $1/10$  atau  $10^{-1}$ ).
- b. Mencampur larutan tersebut sampai homogen menggunakan pipet atau *vortex*.
- c. Ambil 1 ml dari tabung pertama dengan pipet ukur kemudian dipindahkan ke

tabung reaksi kedua secara aseptis lalu dihomogenkan. Pengenceran dilanjutkan hingga tabung reaksi ke sembilan dengan cara yang sama.

- d. Mengambil 10  $\mu\text{L}$  suspensi pada pengenceran ke sembilan ( $10^{-9}$ ) secara aseptis ke permukaan media buatan dalam cawan petri menggunakan mikro pipet.
- e. Meratakan/sebarkan suspensi dengan *spreader* menggunakan teknik *spread plate* secara merata, kemudian tunggu hingga permukaan media mengering.
- f. Menutup cawan petri dengan plastik wrap, lalu diinkubasi secara terbalik selama 24 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ .
- g. Setelah 24 jam, menghitung jumlah mikroba yang tumbuh pada media buatan. Perhitungan koloni bakteri menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC).

Perhitungan dilakukan dengan membagi cawan petri dalam 4 kuadran dan dihitung jumlah mikroba dengan kisaran 30-300 koloni.

### III. Purifikasi/Pemurniaan

#### A. Definisi

Merupakan proses kegiatan memisahkan mikroba berdasarkan morfologi makroskopis yang meliputi warna dan bentuk koloni.

#### B. Tujuan

Untuk memperoleh hasil isolat murni.

#### C. Alat

- a. Cawan Petri
- b. Jarum Ose
- c. LAF (*Laminar Air Flow*)
- d. Bunsen

#### D. Bahan

- a. Isolat Bakteri
- b. Alkohol 96%
- c. Alkohol 70%
- d. Plastik Wrap
- e. Media NA
- f. Label

## E. Fungsi Alat

- a. Cawan Petri: sebagai tempat perkebangbiakan bakteri dalam media NA.
- b. Jarum Ose: digunakan untuk memperoleh biakan murni bakteri menggunakan metode *streak*.
- c. LAF (*Laminar Air Flow*): sebagai meja kerja steril yang digunakan untuk isolasi bakteri.
- d. Bunsen: digunakan untuk sterilisasi dan jarum ose pada saat isolasi bakteri.

## F. Fungsi Bahan

- a. Isolat Bakteri: sebagai sampel yang digunakan untuk isolasi bakteri.
- b. Alkohol 96%: digunakan untuk sterilisasi jarum ose pada saat isolasi bakteri.

- c. Alkohol 70%: berfungsi sebagai antiseptik atau disinfektan tangan pada saat kerja dalam LAF.
- d. Plastik Wrap: berfungsi untuk menutup mulut cawan petri yang telah dilakukan isolasi.
- e. Media NA: media yang berfungsi untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan bakteri.
- f. Label: digunakan untuk memberi nama/identitas dari hasil isolasi.

#### G. Metode Pelaksanaan

- a. Mengidentifikasi/membedakan tumbuhnya koloni bakteri berdasarkan warna dan bentuk koloni.
- b. Mengambil isolat bakteri menggunakan jarum ose dan memindahkannya pada media buatan baru dengan metode *streak*.

- c. Setelah 24 jam, isolat bakteri akan tumbuh pada media buatan.

#### **IV. Pembuatan Alat Fermentor dan Perbanyakkan Bakteri**

**A. Definisi**

Suatu alat yang digunakan untuk menjalankan proses fermentasi bakteri.

**B. Tujuan**

Sebagai alat fermentasi dalam perbanyakkan bakteri secara cepat.

**C. Alat**

- a. Aerator
- b. Batu Aerator
- c. Galon/Jerigen
- d. Selang Bening
- e. Sambungan Selang
- f. Solder
- g. Lem Tembak
- h. Botol

**D. Bahan**

- a. Isolat Bakteri

- b.  $\text{KMnO}_4$
- c. Kapas
- d. Lem Bakar
- e. Media EKG
- f. Air

E. Fungsi Alat

- a. Aerator: berfungsi untuk menyuplai kebutuhan oksigen dan menjaga bakteri tetap tersuspensi dalam larutan media.
- b. Batu Aerator: berfungsi untuk memecah gelembung udara menjadi lebih kecil dan merata.
- c. Galon/Jerigen: sebagai tempat atau wadah yang digunakan dalam fermentasi media biakan bakteri.
- d. Selang Bening: berfungsi untuk mendistribusikan udara ke saluran satu ke saluran lainnya.

- e. Sambungan Selang: berfungsi untuk mempermudah jalannya udara agar masuk pada wadah berikutnya.
- f. Solder: berfungsi untuk melubangi wadah yang akan digunakan sebagai keluar masuknya udara.
- g. Lem Tembak: alat yang digunakan untuk merekatkan dan menutup lubang-lubang kecil yang dapat berpotensi udara dari dalam wadah keluar.
- h. Botol: sebagai tempat atau wadah yang digunakan untuk  $\text{KMnO}_4$ , kapas, dan air kontrol.

#### F. Fungsi Bahan

- a. Isolat Bakteri: untuk perbanyakkan bakteri yang digunakan sebagai pupuk hayati cair.
- b.  $\text{KMnO}_4$ : sebagai penyaring udara yang keluar dari aerator.

- c. Kapas: sebagai penyaring air yang keluar dari botol pertama (sterilisasi udara).
- d. Lem Bakar: Sebagai perekat.
- e. Media EKG: media yang digunakan dalam perbanyakan pupuk hayati cair.
- f. Air: sebagai air kontrol untuk mengetahui adanya aktivitas bakteri.

G. Metode Pelaksanaan

- a. Melubangi 2 lubang pada setiap tutup botol menggunakan solder.
- b. Masukkan sambungan selang bening ke lubang tutup botol, pada setiap botol terdiri dari selang untuk masuknya udara yang dipasang hingga dasar botol dan selang keluarnya udara yang dipasang hanya sampai ujung botol.
- c. Mengelem disekitar selang bening guna mencegah kebocoran udara dari dalam botol menggunakan lem tembak.

- d. Mengisi botol pertama menggunakan  $\text{KMnO}_4$  sebanyak  $\frac{3}{4}$  botol.
- e. Mengisi botol kedua menggunakan kapas saring.
- f. Mengisi galon/jerigen menggunakan media EKG atau media perbanyakan bakteri lainnya.
- g. Mengisi botol terakhir menggunakan air sebagai air kontrol untuk mengetahui adanya aktivitas bakteri.
- h. Menghubungkan selang tempat masuknya udara pada  $\text{KMnO}_4$  ke aerator, kemudian nyalakan aerator. Pastikan semua botol dan jerigen dapat mengeluarkan gelembung sehingga menandakan fermentor sudah dapat digunakan.
- i. Masukkan isolat bakteri pada media EKG (media perbanyakan bakteri), kemudian

tunggu fermentasi bakteri selama 7-14 hari.

- j. Mengamati pertumbuhan bakteri pada media perbanyakan berdasarkan warna dan bau dari hasil fermentasi.

## V. Perhitungan Kerapatan Sel Bakteri

### A. Definisi

Merupakan cara atau suatu metode yang digunakan untuk menghitung jumlah kerapatan sel bakteri dalam 1 ml suatu media biakkan.

### B. Tujuan

Untuk mengetahui jumlah kerapatan sel bakteri per milliliter.

### C. Alat

- a. Hemasitometer
- b. Mikroskop
- c. Pipet
- d. *Hand Counter*

### D. Bahan

- a. Suspensi Bakteri

### E. Fungsi Alat

- a. Hemasitometer: suatu alat yang dapat digunakan untuk menghitung sel kerapatan bakteri secara cepat.
- b. Mikroskop: berfungsi untuk mengamati jumlah sel bakteri dalam hemasitometer agar dapat dihitung.
- c. Pipet: berfungsi untuk mengambil suspensi bakteri yang akan diuji kerapatan selnya.
- d. *Hand Counter*: digunakan untuk memudahkan dalam penghitungan sel bakteri agar tidak lupa pada saat menghitung.

#### F. Fungsi Bahan

- a. Suspensi Bakteri: untuk mengetahui jumlah sel bakteri yang diamati.

#### G. Metode Pelaksanaan

- a. Menyiapkan hemasitometer dan letakkan pada meja benda mikroskop.

- b. Mengambil suspensi bakteri sebanyak 0,2 ml dan teteskan perlahan pada bidang hitung hemasitometer, lalu tutup dengan gelas penutup.
- c. Mengamati dengan perbesaran 100x, untuk mendapatkan bidang hitung pada hamasitometer.
- d. Menghitung jumlah bakteri yang terdapat pada kotak hitung dengan perbesaran 400x dengan menggunakan *hand counter*. Lakukan pengecekan penghitungan untuk tiap kotak hitung.
- e. Setelah diketahui jumlah bakteri pada kotak perhitungan dengan rumus sebagai berikut ini:

$$S = \frac{X}{L (\text{mm}^2) \times t (\text{mm}) \times d} \times 10^3$$

S = jumlah bakteri/ml

X = jumlah bakteri yang dihitung

L = luas kotak hitung ( $0,04 \times 5 = 0,2$   
 $\text{mm}^2$ )

T = kedalaman bidang hitung (0,1 mm)

D = faktor pengenceran

$10^3$  = volume suspensi yang diambil (1  
 $\text{ml} = 10^3 \text{ mm}^3$ )

f. Pupuk hayati cair siap digunakan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Balai Besar Perbenihan dan Proteksi Tanaman Perkebunan Surabaya. 2009. *Perhitungan Jumlah Spora Jamur Media Padat*. Surabaya.
- Oktafian, A. R. 2023. Efektivitas Aplikasi Kombinasi Konsorsium Bakteri *Vermiwash* dan Mikoriza Sebagai Akselerasi Pertumbuhan dan Produktivitas Tanaman Jagung QPM (*Quality Protein Maize*). *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Malang. Malang.
- Putra, G. W. K., Ramona. Y., dan Proborini. M. W. 2020. Eksplorasi dan Identifikasi Mikroba Yang Diisolasi dari Rhizosfer Tanaman Stroberi (*Fragaria x ananassa* Dutch.) Di Kawasan Pancasari Bedugul. *Metamorfosa: Journal of Biological Sciences*. 7(2): 62-70.
- Rahmawati, D., Ayuning. A., dan Mukhlis. S. 2016. Pembuatan Agens Hayati Cair dengan Media Kentang. *Seminar Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat Dana BOPTN*. Politeknik Negeri Jember.
- Sa'adah, F. L., Rahmadhini. N., dan Suharto. 2023. Eksplorasi dan Identifikasi Bacillus sp. dari Tanah Rizosfer Bambu dan Tomat di Kelurahan Made, Sambikerep, Surabaya. *Agrocentrum*. 1(1): 1-6.

Tarno, H., Septia. E. D., dan Aini. L. Q. 2016. Microbial Community Associated with *Ambrosia Beetle*, *Euplatypus parallelus* on Sonokembang, *Pterocarpus indicus* in Malang. *AGRIVITA Journal of Agricultural Science*. 38(3): 312-320.

---

# Pembelajaran Produksi Agen Hayati

Membangun Ruang Belajar  
Eksploratif dan komperhensif untuk  
Siswa SMK Bidang Pertanian

Terima kasih telah menelusuri halaman-halaman buku saku ini. Semoga panduan pembelajaran produksi agen hayati ini memberikan wawasan yang berharga bagi para pendidik dan siswa SMK bidang pertanian. Dengan harapan, buku ini dapat menjadi landasan untuk menciptakan ruang belajar yang inspiratif dan mendalam, membentuk generasi muda yang siap menghadapi tantangan pertanian modern. Mari kita bersama-sama menjaga keberlanjutan dan meningkatkan ketahanan pangan melalui pendidikan yang kreatif dan inovatif. Teruslah eksplorasi, dan semoga setiap langkah membawa kita menuju masa depan pertanian yang berkelanjutan dan berhasil. Terima kasih atas dedikasi Anda dalam memajukan pendidikan pertanian. Sukses selalu!