

Mikroorganisme

Dra. Tri Wahyuningsih, M.Pd.



PENDAHULUAN

Mikroorganisme merupakan jasad renik yang tidak dapat dilihat dengan mata telanjang, tetapi harus menggunakan mikroskop. Yang tergolong ke dalam mikroorganisme adalah **bakteri, jamur, ganggang, protozoa, dan virus.**

Mikroorganisme terdapat dalam populasi yang besar dan beragam serta hampir terdapat di mana-mana di alam ini. Mereka dapat berada di dalam air, udara, tanah, ataupun di dalam tubuh makhluk hidup. Mikroorganisme terdapat paling banyak di tempat yang mengandung nutrisi serta kelembaban dan suhu yang sesuai untuk pertumbuhan dan perkembangbiakannya.

Dalam modul ini, kita akan mencoba mengidentifikasi mikroorganisme; menghitung jumlah mikroorganisme; menggolongkan bakteri gram positif dan gram negatif; air; mengenal bentuk jamur yang dijumpai pada bahan makanan; serta mengenal bentuk bakteri *Rhizobium* yang terdapat pada bintil akar kacang tanah.

Kami berharap, dengan melakukan praktikum ini dengan baik, wawasan dan kemampuan Anda akan bertambah sehingga mampu mengajar di SLTA dengan penuh rasa percaya diri.

Setelah melakukan semua kegiatan dalam modul ini, Anda akan dapat merencanakan, mengorganisasikan kegiatan, melaksanakan percobaan sederhana, serta mengidentifikasi mikroorganisme dan pemanfaatan mikroorganisme dalam kehidupan manusia.

Secara lebih rinci, setelah melakukan percobaan dalam modul ini, diharapkan Anda dapat

1. mengidentifikasikan mikroorganisme;
2. menghitung jumlah mikroorganisme;
3. menggolongkan bakteri gram positif dan gram negatif;
4. mengamati bentuk jamur yang terdapat pada makanan; serta
5. mengamati bentuk bakteri *Rhizobium*.

KEGIATAN PRAKTIKUM 1

Mikroorganisme dalam Air

A. LANDASAN TEORI

Mikroorganisme atau mikroba adalah mikroorganisme yang berukuran sangat kecil (biasanya kurang dari 1 mm) sehingga untuk mengamatinya diperlukan alat bantuan. Mikroorganisme ada yang tersusun atas satu sel (uniseluler) dan ada yang tersusun atas beberapa sel (multiseluler). Walaupun mikroorganisme uniseluler hanya tersusun atas satu sel, mikroorganismenya menunjukkan semua karakteristik organ hidup, yaitu bermetabolisme, bereproduksi, berdiferensiasi, melakukan pergerakan, dan berevolusi. Yang termasuk golongan mikroorganisme adalah bakteri, Archaea, fungi (kapang dan khamir), Protozoa, alga, dan virus. Virus, bakteri, dan Archaea termasuk dalam golongan prokariotik. Sementara itu, fungi, Protozoa, dan alga mikroskopis termasuk golongan eukariotik.

Mikroorganisme terdapat di mana-mana. Interaksinya dengan sesama mikroorganisme ataupun dengan organisme lain dapat berlangsung dengan cara yang aman dan menguntungkan ataupun merugikan. Mikroorganisme cenderung diasosiasikan dengan penyakit-penyakit infeksi ataupun pembusukan makanan. Akan tetapi, mayoritas mikroorganismenya justru memberikan kontribusi bagi kesinambungan ekosistem lingkungan hidup, khususnya bagi kesejahteraan manusia.

Percobaan Menghitung Jumlah Mikroorganisme

Ada berbagai cara untuk mengukur jumlah mikroorganismenya, antara lain dengan hitung cawan (*plate count*), hitungan mikroskopis langsung (*direct microscopic count*), atau secara elektronis dengan bantuan alat yang disebut penghitung *coulter* (*coulter counter*). Pengukuran jumlah mikroorganismenya dilakukan pada khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) yang digunakan dalam pembuatan anggur, roti, dan bir.

Dalam kegiatan ini, Anda akan diajak untuk menghitung jumlah sel mikroorganismenya dengan menggunakan metode hitungan mikroskopis langsung (*direct microscopic count*). Pada metode hitungan mikroskopis langsung, sampel ditaruh di suatu ruang hitung (seperti **hemasitometer**) dan

jumlah sel dapat ditentukan secara langsung dengan bantuan mikroskop. Keuntungan metode ini ialah pelaksanaannya cepat dan tidak memerlukan banyak peralatan. Kelemahannya ialah tidak dapat membedakan sel-sel yang hidup dari yang mati. Dengan perkataan lain, hasil yang diperoleh tidak membedakan sel-sel yang hidup dari yang mati. Hasil yang diperoleh ialah jumlah total sel yang ada di dalam populasi. Pada beberapa macam sel eukariotik, penambahan zat warna tertentu (misalnya biru metilen sebanyak 0,1%) pada sampel yang akan dihitung dapat membedakan sel hidup dari sel mati.

Sel khamir, misalnya, baik sel hidup maupun mati akan menyerap biru metilen. Namun, hanya sel hidup yang mampu mereduksi zat warna tersebut secara enzimatik menjadi tidak berwarna. Jadi, sel-sel mati akan tampak biru.

B. KEGIATAN PERCOBAAN

1. Judul Percobaan: Menghitung Jumlah Mikroorganisme

a. Tujuan percobaan

Menghitung sel khamir dengan menggunakan mikroskopis langsung.

b. Alat dan bahan

- 1) Hemasitometer *levy* dengan garis-garis pembagian Neubaver.
- 2) Pipet pasteur.
- 3) Suspensi khamir (*Saccharomyces cerevisiae*) yang telah diencerkan sedemikian sehingga tampak hanya sedikit keruh (suspensi demikian akan mengandung kurang lebih 500 sel dalam 80 kotak kecil, yaitu luasan $0,2 \text{ mm}^2$, pada hemasitometer).

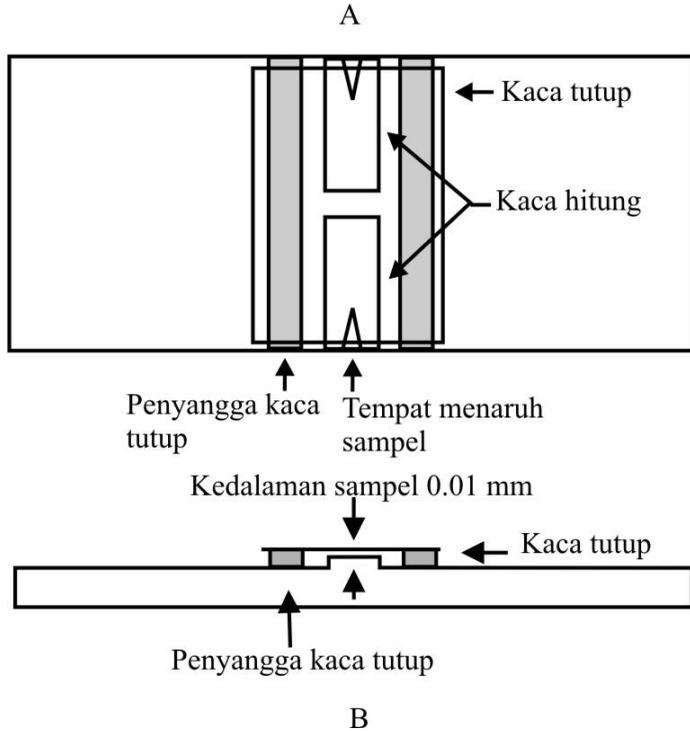
c. Cara kerja

- 1) Bersihkan permukaan hitung hemasitometer dengan secarik kertas lensa yang telah dibasahi dengan setetes air suling. Juga, bersihkan kaca tutup hemasitometer sampai tidak lagi tertinggal sisa-sisa minyak pada permukaannya.
- 2) Letakkan kaca tutup hemasitometer di atas permukaan hitung hemasitometer.
- 3) Kocoklah suspensi sel khamir baik-baik (jagalah agar sumbat tabung tidak terbasahi). Dengan menggunakan pipet pasteur, ambillah

suspensi sebanyak 0,1 sampai 0,5 ml. Pengambilan suspensi dengan pipet pasteur dapat dilakukan dengan cara memasukkan pipet tersebut ke dalam tabung suspensi, lalu menutup lubang pangkal pipet dengan telunjuk Anda.

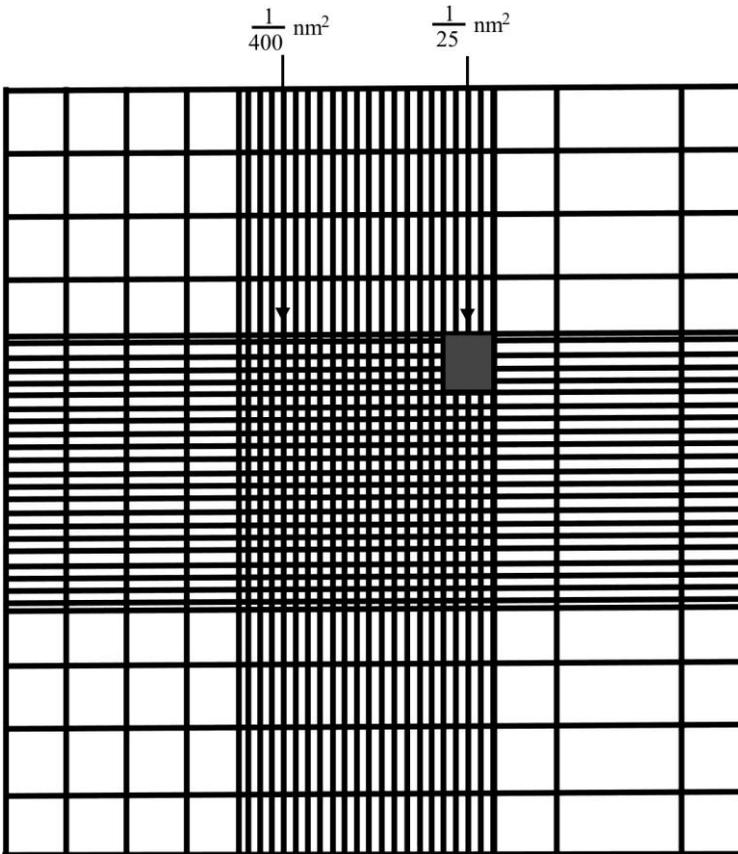
- 4) Dengan cermat, taruhlah ujung pipet pasteur Anda pada lekukan berbentuk V pada tepi kaca tutup hemasitometer (lihat Gambar 1.1A) dan biarkan ruang hemasitometer terpenuhi suspensi secara kapiler.
- 5) **Perhatian:** gunakanlah telunjuk Anda untuk mengatur aliran suspensi untuk mencegah terbanjirinya bagian bawah kaca tutup oleh aliran yang berlebihan. Usahakanlah agar tidak ada cairan masuk di antara kaca tutup dan penyangga kaca tutup (lihat Gambar 1.1B) karena hal tersebut akan menambah kedalaman cairan di bawah kaca tutup yang sebenarnya harus berukuran tepat 0,1 mm. Apabila sampai terjadi hal demikian, seluruh prosedur harus diulang kembali dari awal.
- 6) Taruhlah hemasitometer di atas meja mikroskop dengan hati-hati. Amatilah dengan objektif berkekuatan rendah dan hitunglah jumlah sel yang terdapat pada 80 buah kotak kecil yang terletak di dalam kotak bagian tengah yang berukuran 1 mm^2 itu (lihat Gambar 1.2).
- 7) Cara menghitung: pembagian hemasitometer dapat dilihat pada Gambar 1.2. Seluruhnya ada sembilan area, masing-masing berukuran 1 mm^2 . Kotak yang di tengah (semua sisinya dibatasi dengan garis ganda) juga berukuran 1 mm^2 dan dibagi menjadi 25 kotak besar. Setiap kotak besar ini dibagi lagi menjadi 16 kotak kecil. Dengan demikian, di dalam kotak tengah tersebut, seluruhnya terdapat 400 kotak kecil (25×16).
- 8) Contoh penghitungan: andaikanlah menurut pengamatan Anda terdapat 500 sel khamir di dalam 80 kotak kecil. Maka itu, jumlah sel khamir yang terdapat di dalam setiap ml suspensi asal dapat dihitung dengan cara berikut.
 - a) 80 kotak kecil mempunyai luas $0,2 \text{ mm}^2$. Jadi, di dalam setiap mm^2 terdapat 500×5 atau 2500 sel.
 - b) Kedalaman cairan di bawah hemasitometer ialah 0,1 mm. Maka itu, volume cairan yang tercakup oleh kotak berukuran 1 mm^2 ialah $0,1 \text{ mm}^3$. Artinya, terdapat $2500 \text{ sel}/0,1 \text{ mm}^3$ atau $25000 \text{ sel}/\text{mm}^3$.

- c) $1 \text{ ml} = 1 \text{ cm}^3$ atau 1000 mm^3 . Maka itu, jumlah sel khamir yang terdapat di dalam suspensi asal ialah $2,5 \times 10^7$ sel/ml.



Gambar 1.1

- A. Tampak atas hemasitometer memperlihatkan tempat menaruh sampel.
 B. Tampak samping hemasitometer memperlihatkan jarak sebesar 0,1 mm antara permukaan hitung bagian atas hemasitometer dan permukaan bawah kaca tutup.



Gambar 1.2
Pembagian neubaver pada hemasitometer memperlihatkan garis-garis pada kotak tengah yang berukuran 1 mm^2 (keempat sisinya dibatasi dengan garis ganda).

2. Judul Percobaan: Identifikasi Bakteri

Identifikasi bakteri tidak dapat dilakukan hanya melalui pengamatan morfologi koloni ataupun mikroskopik bakteri, tetapi juga perlu dilakukan pengamatan ciri-ciri fisiologi, patogenitas, dan serologinya.

Untuk mengidentifikasi bakteri, meskipun tidak ada skema klasifikasi yang diakui secara “resmi” atau secara internasional, skema klasifikasi yang paling terkenal dan yang paling umum digunakan ialah *Bergey's Manual of*

Determinative Bacteriology. Buku ini memuat ciri-ciri bakteri yang telah dikenal.

Pada praktikum ini, akan dilakukan pengujian fisiologi (biokimia) dan pewarnaan gram. Identifikasi bakteri terdiri atas fermentasi karbohidrat, produksi katalase, hidrolisis triptofan, hidrolisis urea, dan penggunaan sitrat. Hasil uji fisiologi esolat akan dibandingkan dengan data yang terdapat pada kunci taksonomi (pada lampiran).

a. *Tujuan*

Menerapkan pengetahuan Anda mengenai morfologi sel serta ciri-ciri fisiologi sel untuk mengidentifikasinya.

b. *Alat dan bahan*

- 1) 3 tabung Durham berisi kaldu glukosa
- 2) 3 tabung Durham berisi kaldu laktosa
- 3) 3 tabung agar miring sitrat Simmons
- 4) 3 tabung kaldu tripton 1%
- 5) 3 tabung kaldu urea
- 6) 3 kaca objek
- 7) reagen Kovac
- 8) larutan hidrogen peroksida 3%
- 9) masing-masing satu biakan berumur 24 jam: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Stapylococcus aureus*.

c. *Cara kerja*

- 1) Uji fermentasi karbohidrat
Inokulasikan satu lup penuh setiap biakan masing-masing ke dalam tabung Durham yang berisi kaldu glukosa dan kaldu laktosa. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.
Pengamatan: apabila setelah inkubasi pada tabung kecil terdapat gelembung udara, hal itu menunjukkan pembentukan gas hasil fermentasi. Catatlah hasil pengamatan Anda dalam tabel hasil pengamatan.
- 2) Uji penggunaan sitrat
Buatlah goresan pada agar miring sitrat Simmons. Sebaiknya digunakan jarum inokulasi (jarum tanam tajam) bukan dengan lup inokulasi. Kemudian, tusukkan jarum pada bagian medium yang

tebal di dasar tabung. Seluruh tabung diinokulasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Pengamatan: medium sitrat Simmons merupakan medium sintesis yang mengandung sitrat sebagai sumber karbon satu-satunya serta sebagai sumber nitrogen digunakan garam amonium. Medium ini mengandung indikator biru bromtimol yang dapat berubah warna dari hijau menjadi biru pada kondisi alkalin. Apabila organisme yang Anda uji dapat tumbuh dengan menggunakan sitrat sebagai sumber karbon satu-satunya, Anda akan melihat adanya pertumbuhan pada permukaan agar miring yang Anda gores di samping berubahnya warna medium menjadi biru. Catatlah hasil pengamatan pada tabel pengamatan.

3) Uji indol (hidrolisis triptofan)

Inokulasikan satu lup penuh biakan masing-masing ke dalam kaldu tripton 1%. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Kemudian, ke dalam suspensi biakan ditambahkan 10—12 tetes reagen Kovac.

Pengamatan: kaldu tripton mengandung asam amino triptofan. Bakteri tertentu dapat menghidrolisis triptofan menjadi indol dan asam piruvat apabila ada aktivitas triptofanase. Apabila dihasilkan senyawa indol, akan terbentuk lapisan berwarna merah (cincin indol) di permukaan atas suspensi setelah penambahan reagen kovac. Catatlah hasil pengamatan Anda dalam tabel pengamatan.

4) Uji hidrolisis urea

Inokulasikan satu lup penuh biakan masing-masing ke dalam kaldu urea. Seluruh tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Pengamatan: uji positif (apabila organisme yang Anda uji menghasilkan urea) ditandai dengan pembentukan warna merah keunguan setelah inkubasi. Kaldu urea merupakan larutan ekstrak khamir dan urea yang mengandung merah fenol sebagai indikator pH. Apabila ada aktivitas urease, amoniak akan dihasilkan, pH medium naik, dan akan terjadi perubahan warna merah fenol dari kuning (pH 6,8) menjadi merah keunguan (pH > 8,1). Catat hasil pengamatan pada tabel pengamatan.

5) Uji katalase

Letakan dua tetes hidrogen peroksida 3% pada kaca objek yang bersih. Secara aseptik, ambil satu lup biakan dan campurkan dengan larutan tersebut.

Pengamatan: uji positif ditandai dengan pembentukan gelembung-gelembung oksigen pada campuran tersebut. Aktivitas enzim katalase akan mengubah hidrogen peroksida menjadi molekul air dan oksigen.

Hasil percobaan Anda catat pada tabel berikut ini.

Tabel Hasil Pengamatan

Pengujian	Mikroorganisme		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
Fermentasi glukosa			
Fermentasi laktosa			
Penggunaan sitrat			
Hidrolisis triptofan			
Hidrolisis urea			
Katalase			

Hasil pengujian fisiologi ketiga isolat yang diamati dibandingkan dengan kunci taksonomi yang terlampir.

3. Judul Percobaan: Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram merupakan salah satu prosedur yang amat penting dan paling banyak digunakan dalam klasifikasi bakteri. Dengan metode ini, bakteri dapat dipisahkan secara umum menjadi dua kelompok besar, yaitu (1) organisme yang dapat menahan kompleks **pewarna primer** ungu kristal iodium sampai pada akhir prosedur (sel-sel tampak biru gelap atau ungu) yang disebut gram positif (+) serta (2) organisme yang kehilangan kompleks warna ungu kristal pada waktu pembilasan dengan alkohol, tetapi kemudian terwarnai oleh **pewarna tandingan**, safranin (sel-sel tampak merah muda), yang disebut gram negatif (-). Karena kemampuannya untuk membedakan suatu kelompok bakteri tertentu dari kelompok lainnya, pewarnaan gram disebut juga **pewarnaan diferensial**.

a. *Tujuan*

Dapat melakukan prosedur pewarnaan gram.

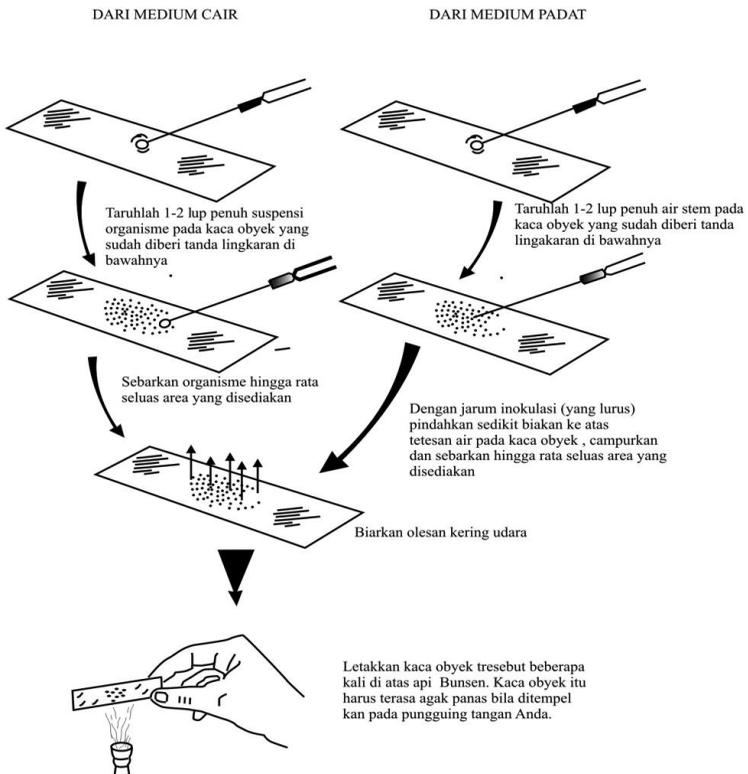
b. *Alat dan bahan*

- 1) 3 kaca objek
- 2) spidol permanen
- 3) lup inokulasi
- 4) biakan: *E. coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus subtilis* umur 24 jam dalam medium kaldu nutrien (NB)
- 5) pembakar bunsen
- 6) alkohol 95% untuk membersihkan kaca-kaca objek
- 7) pewarna gram: ungu kristal, larutan iodium gram, alkohol 95%; dan safranin
- 8) bak pewarna
- 9) akuades dalam botol pijit
- 10) kertas serap
- 11) mikroskop
- 12) minyak celup (minyak imersi)
- 13) kertas lensa

c. *Cara kerja*

- 1) Bersihkan seluruh kaca objek yang tersedia dengan alkohol 95%.
- 2) Lakukan penyiapan olesan bakteri yang diikuti fiksasi panas untuk masing-masing biakan *E. coli*, *S. aureus*, dan *B. subtilis* seperti yang terdapat pada Gambar 1.3. Berikan nama biakan pada setiap olesan di bagian sisi kaca sebaliknya.
- 3) Letakkan kaca-kaca objek yang mengandung olesan bakteri yang akan diwarnai di atas bak pewarna. Genangi olesan tersebut dengan ungu kristal selama satu menit.
- 4) Dengan menggunakan penjepit, kaca objek dimiringkan untuk membuang kelebihan ungu kristal. Olesan dibilas dengan akuades. Kaca objek ditiriskan dengan cara menegakkan salah satu sisinya di atas kaca serap. Letakkan kembali kaca objek di atas bak pewarna.
- 5) Genangi olesan dengan iodium gram selama dua menit. Ulangi langkah 4 untuk membuang kelebihan pewarna.

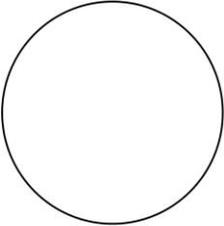
- 6) Cucilah olesan dengan alkohol 95% tetes demi tetes selama 10 detik sampai pewarna ungu kristal tidak tampak lagi mengalir dari kaca objek. Ulangi langkah 4.
- 7) Genangi olesan dengan safranin selama 30 detik. Miringkan kaca objek untuk membuang kelebihan safranin, bilas olesan dengan akuades.
- 8) Tiriskan kaca objek, serap kelebihan air dengan kertas serap.
- 9) Amati masing-masing preparat di bawah mikroskop pada perbesaran 400X dan 1000X. Gunakan minyak celup untuk perbesaran 1000X.



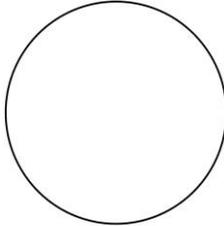
Gambar 1.3
Penyiapan Olesan Bakteri Diikuti Fiksasi Panas (Hidioetomo, 1990)

Gambarlah dalam ruangan yang tersedia di bawah ini sketsa organisme-organisme yang Anda amati pada tiap-tiap olesan dengan skala yang sesuai.

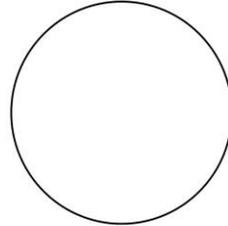
Namailah masing-masing organisme serta reaksi gramnya. Warnailah organisme pada gambar Anda sesuai dengan warna yang Anda amati.



Organisme :.....
Pembesaran :.....



Organisme :.....
Pembesaran :.....



Organisme :.....
Pembesaran :.....

Catatan

Pada umumnya, sebelum bakteri diwarnai, perlu dilakukan fiksasi. Fungsi fiksasi, antara lain untuk membunuh bakteri secara cepat dengan relatif tidak menyebabkan perubahan bentuk dan struktur bakteri, melekatkan bakteri di atas kaca objek, serta meningkatkan sifat afinitas pewarna. Cara fiksasi yang paling sering dilakukan dalam pewarnaan bakteri adalah cara fisik dengan pemanasan.

Ada empat tahap pewarnaan gram sebagai berikut.

1. Pemberian pewarna primer ungu kristal.
2. Penguatan pewarna primer dengan menambah larutan iodium gram. Pewarna akan terikat lebih kuat pada sel.
3. Pemucatan dengan alkohol 95%.
4. Pemberian pewarna tandingan safranin.

Pewarnaan gram termasuk pewarnaan diferensial karena dapat membedakan bakteri yang bersifat gram positif dari gram negatif. Bakteri gram positif dapat menahan pewarna primer sampai tahap akhir pewarnaan gram sel yang tampak berwarna ungu. Bakteri gram negatif akan kehilangan pewarna primer pada saat pembilasan dengan alkohol 95% dan akan menyerap pewarna tandingan safranin yang berwarna merah.

KEGIATAN PRAKTIKUM 2

Mikroorganisme dalam Makanan dan Tanah

A. LANDASAN TEORI

Mikroorganisme terdapat di mana-mana, dari dasar laut sampai puncak-puncak gunung berselimutkan es, di dalam tanah dan debu, di udara, di dalam air dan susu, dalam makanan ataupun pada permukaan tubuh kita sendiri (kulit dan selaput lendir), puncaknya di segala macam tempat, serta lingkungan di muka bumi. Sesungguhnya, memang kita dikelilingi oleh bakteri, jamur, protozoa, dan mikroorganisme lainnya.

1. Mikroorganisme dalam Makanan

Mikroorganisme dapat menjadi bahan pangan ataupun mengubah bahan pangan menjadi bentuk lain. Proses yang dibantu oleh mikroorganisme misalnya melalui fermentasi, seperti keju, yoghurt, dan berbagai makanan lain, termasuk kecap dan tempe. Pada masa mendatang, diharapkan peranan mikroorganisme dalam penciptaan makanan baru, seperti mikroprotein dan protein sel tunggal. Mengetahui sifat dan cara hidup mikroorganisme juga akan sangat bermanfaat dalam perbaikan teknologi pembuatan makanan.

Aneka produk makanan memanfaatkan jasa mikroorganisme dalam pengolahannya. Peranan mikroorganisme dalam pengolahan makanan ini adalah mengubah bahan makanan menjadi bentuk lain sehingga nilai gizinya lebih tinggi, zat gizi lebih mudah diserap dan dimanfaatkan, serta mempunyai cita rasa yang lebih menarik. Perhatikan beberapa contoh jenis makanan dan mikroorganisme yang berperan dalam pengolahannya pada Tabel 1.1 berikut.

Tabel 1.1
Produk Makanan dan Mikroorganisme yang Berperan dalam Pengolahannya

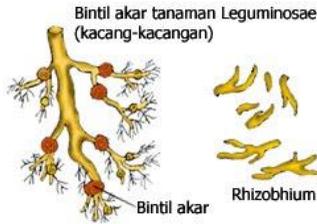
Produk Makanan	Bahan Mentah	Mikroorganisme Pengolah
Berbagai jenis kue	Tepung gandum	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Kopi	Biji kopi	<i>Erwinia dissolvens</i>
Kecap	Kedelai	<i>Aspergillus wentii</i>
Yoghurt	Susu	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> dan <i>L. acidophilus</i>
Keju	Susu	<i>Lactobacillus casei</i>
Nata de coco	Air kelapa	<i>Acetobacter xylinum</i>

Produk Makanan	Bahan Mentah	Mikroorganisme Pengolah
Oncom	Kacang tanah	<i>Neurospora crassa</i>
Tape	Umbi ketela pohon atau beras ketan	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>
Tempe	Kedelai	<i>Rhizopus oryzae</i>
Sayur asin	Sawi hijau	Bakteri asam laktat.

2. Mikroorganisme dalam Tanah

Tanah dengan nilai peroduktivitas yang tinggi tidak hanya terdiri atas komponen-komponen padat, cair, dan udara (gas), tetapi harus mengandung jasad hidup tanah yang cukup banyak. Adanya jasad hidup akan memengaruhi tingkat kesuburan tanah karena jasad hidup memegang peranan penting dalam proses-proses pelapukan bahan organik dalam tanah sehingga unsur hara menjadi lebih tersedia bagi tanaman. Mikroorganisme-mikroorganisme penghuni tanah merupakan campuran populasi dari (a) Protozoa, seperti Amoeba, Flagella, Ciliata; (b) bakteri (*Clostridium*, *Rhizobium*) dan sebagainya; (c) alga (ganggang), seperti alga biru, alga hijau, dan diatom; serta (d) jamur, terutama jamur bertingkat rendah, seperti jamur lendir, berbagai ragi, dan berbagai Phycomycetes dan Ascomycetes.

Bakteri *Rhizobium leguminosarum* adalah salah satu contoh kelompok bakteri ototrof yang berkemampuan sebagai penyedia hara bagi tanaman. Apabila bersimbiosis dengan tanaman legum, kelompok bakteri ini akan menginfeksi akar tanaman dan membentuk bintil akar di dalamnya. *Rhizobium* hanya dapat memfiksasi nitrogen atmosfer apabila berada di dalam bintil akar dari mitra legumnya. Peranan *rhizobium* terhadap pertumbuhan tanaman khususnya berkaitan dengan masalah ketersediaan hara bagi tanaman inangnya. *Rhizobium leguminosarum* terdapat pada hampir semua tanaman kacang-kacangan. Contoh jenis kacang-kacangan yang dikenal dan banyak ditanam di dunia adalah tanaman kedelai (*Glycine max*). Kedelai tergolong tanaman yang mampu mendapatkan hara nitrogen melalui simbiotik dengan bakteri *Rhizobium leguminosarum*.



Gambar 1.4
Bakteri Rizobium pada Bintil Akar Kacang-kacangan

B. KEGIATAN PERCOBAAN

1. Judul Percobaan: Jamur yang Dijumpai pada Makanan

a. Tujuan

Mengenal/mengamati bentuk jamur yang dijumpai pada bahan makanan.

b. Alat dan bahan

Alat

- 1) pipet
- 2) kaca objek
- 3) kaca penutup
- 4) mikroskop
- 5) jarum pentul

Bahan

- 1) jamur tempe (berwarna abu-abu)
- 2) jamur pada bonggol jagung (berwarna kuning)
- 3) jamur roti (berwarna hijau abu-abu)
- 4) jamur oncom (berwarna oranye/hitam)

c. Cara kerja

- 1) Ambil selembar jamur pada jamur tempe dan jamur yang terdapat pada bonggol jagung dengan menggunakan jarum pentul.
- 2) Letakkan pada kaca objek yang telah ditetesi dengan air, tutup dengan kaca penutup.
- 3) Amati di bawah mikroskop dengan pembesaran lemah.

- 4) Catat dan gambarkan jamur yang Anda lihat dan beri nama bagian-bagian yang Anda lihat pada lembar pengamatan yang telah disediakan di belakang petunjuk praktikum ini.
- 5) Ulangi lagi dengan jamur kedua dan ketiga.

d. Pertanyaan

Pertanyaan ini merupakan salah satu komponen yang menjadi bahan penilaian. Jawablah pertanyaan berikut ini dan satukan dengan laporan praktikum yang Anda buat.

- 1) Sebutkan warna jamur yang Anda amati!
- 2) Mengapa makanan kita dapat berjamur?
- 3) Bagaimana caranya (minimal dua cara) mengatasi agar makanan tidak berjamur?

2. Judul Percobaan: Bakteri Rhizobium pada Bintil Akar

a. Tujuan

Mengamati bentuk bakteri Rhizobium.

b. Alat dan bahan

Alat

- 1) pinset
- 2) kaca objek
- 3) kaca penutup
- 4) mikroskop
- 5) silet/*cutter*

Bahan

Bintil kacang tanah atau kacang-kacangan lain.

c. Cara kerja

- 1) Ambil bintil kacang tanah dan bersihkan dari kepingan tanah.
- 2) Buatlah beberapa potongan bintil kacang tanah dengan cara memotong bintil kacang tanah dengan menggunakan pisau silet atau *cutter*, setipis mungkin.
- 3) Letakkan di atas kaca objek potongan bintil tadi, lalu tutup dengan kaca penutup.

- 4) Tekan hati-hati kaca penutup dengan pangkal pinset sehingga irisan kutil remuk.
- 5) Amatilah preparat di bawah mikroskop.
- 6) Gambarkanlah bentuk bakteri yang Anda lihat.

d. Pertanyaan

Pertanyaan ini merupakan salah satu komponen yang menjadi bahan penilaian. Jawablah pertanyaan berikut ini dan satukan dengan laporan praktikum yang Anda buat.

- 1) Apakah perbedaan bentuk bakteri Rhizobium dengan bakteri lainnya?
- 2) Apakah bakteri Rhizobium merugikan tumbuhan inangnya? Jelaskan!

Glosarium

- Bakteri autotrof : bakteri yang mampu membuat makanannya sendiri. Bakteri autotrof dibedakan dalam dua kelompok berdasarkan asal energi untuk menyintesis makanannya, yaitu *bakteri fotoautotrof* dan *bakteri kemoautotrof*.
- Bakteri heterotrof : bakteri yang makanannya berupa senyawa organik dari organisme lain. Bakteri heterotrof terbagi menjadi bakteri saprofit dan bakteri parasit.
- Sel prokariotik : sel yang tidak memiliki membran inti. MakhluK hidup uniseluler termasuk golongan sel prokariotik, contoh Bakteri (*Bacteria*) dan Sianobakteri (*Cyanobacteria*).
- Tanaman legum : salah satu hijauan pakan ternak, selain rumput. Istilah *legume* (dalam bahasa Indonesia berarti tanaman kacang-kacangan). Contohnya, kacang tanah (*Arachis hipogaeae*), kacang kedelai (*Glycine max*), kacang panjang (*Vigna sinensis*), kacang gude (*Cayanus cayan*), serta kalopo (*Calopogonium muconoides*).

Daftar Pustaka

Fardiaz, S. 1992. *Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Gramedia.

Hadioetomo, Ratna Siri. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*. Jakarta: PT Gramedia.

<http://aslam02.wordpress.com/materi/biologi-kelas-x/archaeobacteria-eubacteria/eubacteria/peranan-bakteri/>.

NN. 1981. *Petunjuk Kegiatan Biologi I untuk SMA*. Jakarta: Balai Pustaka.

Pelezar dan Chan. 1986. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta: UI.

Sembiring, M., dkk. 1995. *Praktikum Mikrobiologi*. Medan: FMIPA IKIP.

Suriawidia, U. 1986. *Mikrobiologi*. Jakarta: Universitas Terbuka.

Lembar Kerja

Praktikum Biologi 2 Mikroorganisme

Nama :
NIM :
UPBJJ :
.....

A. KEGIATAN PERCOBAAN 1: MIKROORGANISME DALAM AIR

1. Judul Percobaan: Menghitung Jumlah Mikroorganisme

a. Hasil pengamatan

- 1) Nama organisme :
 Jumlah sel :
- 2) Nama organisme :
 Jumlah sel :

b. Pembahasan

.....
.....
.....
.....

c. Kesimpulan

.....
.....
.....
.....

2. Judul Percobaan: Identifikasi Bakteri

a. Hasil pengamatan

Tabel hasil pengamatan

Pengujian	Mikroorganisme		
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>
Fermentasi glukosa			
Fermentasi laktosa			
Penggunaan sitrat			
Hidrolisis triptofan			
Hidrolisis urea			
Katalase			

Hasil ketiga isolat bandingkan dengan kunci taksonomi terlampir.

Hasil:

b. Pembahasan

.....
.....
.....
.....

c. Kesimpulan

.....
.....
.....
.....

3. Judul Percobaan: Pewarnaan Gram

a. Hasil pengamatan

Organisme : Organisme : Organisme :

Pembesaran..... X Pembesaran..... X Pembesaran..... X

b. Pembahasan

.....
.....
.....
.....

c. Kesimpulan

.....
.....
.....
.....

B. KEGIATAN PERCOBAAN 2: MIKROORGANISME DALAM MAKANAN DAN TANAH

1. Judul Percobaan: Jamur yang Dijumpai pada Makanan

a. Hasil pengamatan

1) Jamur tempe	
Hasil pengamatan	Keterangan

2) Jamur pada bonggol jagung
Hasil pengamatan Keterangan

3) Jamur roti
Hasil pengamatan Keterangan

4) Jamur oncom
Hasil pengamatan

Keterangan

b. Pembahasan

.....
.....
.....
.....

c. Kesimpulan

.....
.....
.....
.....

d. Jawaban pertanyaan

1)
.....
.....
2)
.....
.....
3)
.....
.....

2. Judul Percobaan: Bakteri Rhizobium pada Bintil Akar

a. Hasil pengamatan

Keterangan

b. Pembahasan

.....
.....
.....
.....

c. Kesimpulan

.....
.....
.....
.....

d. Jawaban pertanyaan

1)
.....
.....
2)
.....
.....

Lampiran

KUNCI TAKSONOMI DIKOTOM UNTUK BEBERAPA MIKROORGANISME

Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 8th ed, 1974.

- A. Sel tunggal dan multiseluler mempunyai membran inti. DNA bergabung dengan protein yang bersifat basa, menghasilkan komponen-komponen mitosis, berproduksi secara aseksual, serta secara seksual dengan gametogenesis dan pembentukan zigot, sitoplasma mengalir, respirasi, dan fotosintesis berkaitan dengan organel, yaitu masing-masing mitokondria dan kloroplastid, retikulum endoplasma dengan ribosom yang melekat padanya, dan nutrien mungkin tidak dapat larut. Dunia tumbuh-tumbuhan (tidak dibagi lebih lanjut).
- AA. Sel tunggal atau gabungan sederhana sel-sel serupa tidak bermembran inti. DNA tidak bergabung dengan protein yang bersifat basa, komponen mitosis tidak dijumpai, membran plasma sering kali rumit, berkaitan dengan fungsi respirasi dan fotosintesis, ribosom tersebar, sitoplasma tidak bergerak, nutrien diperoleh dalam bentuk molekular, biasanya ber dinding sel kaku, serta mempunyai mekanisme pemindahan gen dan rekombinasi, tetapi tidak terjadi gametogenesis dan pembentukan zigot. Dunia procaryotae B, BB.
- B. Fototropik menggunakan air sebagai donor elektron dan menghasilkan oksigen apabila ada cahaya. Kebanyakan motil dengan cara meluncur, sitoplasma mengandung sistem ekstensif lamela fotosintetik yang berpasangan, fotopigmen yang khusus adalah klorofil a dan fikobiliprotein; uniseluler untuk membentuk rantai, yang uniseluler berproduksi dengan pembelahan biner, pembelahan bahurangkap atau pelepasan sel-sel apikal secara berurutan, yang berbentuk filamen bereproduksi dengan pembelahan sel interkalar, serta fragmentasi acak atau pelepasan terminal sel-sel motil yang pendek. Divisi Cyanobacteria (tidak dibagi lebih lanjut).
- BB. Sel uniseluler gabungan sederhana sel-sel serupa bergantung pada habitat, jumlah bidang pembelahan, dan pemisahan sel. Biasanya, pembelahan biner, tetapi kadang-kadang tidak menghasilkan sel anak berukuran sama. Dengan menguncup, ia dapat membentuk filamen, lurus, atau bercabang. Apabila motil dengan apendiks

unik flagella atau dengan cara melunjur, ia dapat membentuk endospora atau siste. Dinding sel kaku. Apabila melakukan fotosintesis, ia melakukannya pada kondisi anaerobik, membutuhkan donor elektron lain selain air, dan menggunakan satu atau lebih bakterioklorofil (a, b, c, atau d). Divisi bacteria C, CC.

- C. Terdapat bakterioklorofil, warna suspensi sel ungu lembayung, ungu, merah, oranye kecokelatan, cokelat, hijau; fotosintesis terjadi dalam keadaan anaerobik dan tidak menghasilkan oksigen, donor elektron ialah senyawa sulfur tereduksi, hidrogen molekular, atau senyawa organik; CO₂ difotoasimilasikan melalui siklus pentosa fosfat reduktif dan reaksi-reaksi selanjutnya yang mengikat karbon dioksida. Ordo Rhodospirillales (tidak dibagi lebih lanjut).
- CC. Tidak terdapat bakterioklorofil, energi diperoleh melalui oksidasi senyawa anorganik atau organik dan menggunakan karbon dioksida atau senyawa organik sebagai sumber utama karbon. Ordo – semua ordo yang tersisa D, DD.
- D. Memperoleh energi dari oksidasi senyawa-senyawa nitrogen, sulfur, atau besi, tetapi tidak menghasilkan metan dari CO₂ atau tidak memperoleh energi dari oksidasi senyawa-senyawa nitrogen, sulfur, atau besi, tetapi menghasilkan metan dari CO₂. Nitrobacteriaceae, Siderocapsiacea, Methanobacteriaceae (tidak dibagi lebih lanjut).
- DD. Energi diperoleh dari oksidasi senyawa organik yang merupakan sumber utama karbon. Sel tidak meluncur. Kelompok bakteri berselongsong, bakteri kuncup atau berapendiks; spiroketa; bakteri spiral atau lengkung; batang dan (kokus) gram negatif aerobik; batang gram negatif anaerobik fakultatif; bakteri gram negatif anaerobik: kokus dan kokobasilus gram negatif; gram negatif anaerobik. Bakteri berbentuk batang gram positif pembentuk endospora: bakteri pembentuk batang gram positif: tidak berspora, aktinomisetes, riketsia, mikoplasma E, EE.
- E. Sel berbentuk filamen dan berselongsong, kelompok: bakteri berselongsong (tidak dibagi lebih lanjut).
- EE. Sel tidak berbentuk filamen dan tidak berselongsong, sel mempunyai batas-batas baku, bukan parasit obligat intraseluler. Famili: Pseudomonadaceae, Enterobacteriaceae, Micrococcaceae, Streptococcaceae, Bacilliaceae, dan Myobacteriaceae FFF.
- F. Gram negatif G, GG.
- G. Aerobik. Pseudomonadaceae H, HH.
- H. Tumbuh pada 41°C, tetapi tidak tumbuh pada 4°C, motil, menghasilkan pigmen biru hijau yang dapat merembes

Pseudomonas aeruginosa.

- HH. Tidak tumbuh pada 41°C, tetapi tumbuh pada 4°C, menghasilkan pigmen kuning yang dapat merembes *Pseudomonas fluorescens*.
- GG. Anaerobik fakultatif. Enterobacteriaceae I,II
- I. Memfermentasi laktosa, Enterobacter, Escherichia, Citrobacter (peragi lambat dan gram positif tidak menentu), klebsielleJ,II
- J. Indol positif, merah metil positif, tidak dapat menggunakan sitrat; sebagai sumber karbon satu-satunya, VP negatif *Escherichia coli*
- JJ. Indol negatif, merah metil positif atau negatif, dapat atau tidak dapat; menggunakan sitrat sebagai sumber karbon satu-satunya, VP positif atau negatifK,KK
- K. Merah metil positif Citrobacter (tidak dibagi lagi lebih lanjut)
- KK. Merah metil negatif, enterobacter, klebsiella L,LL
- L. Motil, sitrat merupakan sumber karbon satu-satunya, VP positif *Enterobacter aerogenes*
- LL. Nonmotil, VP positif atau negatif, klebsiella tidak dibagi lebih lanjut
- II. Tidak memfermentasi laktosa. Erwardsiella, Salmonella, Shigella, Proteus, Yersinia M,MM
- M. Menghidrolisis urea. ProteusN,NN
- N. Indol positif *Proteus vulgaris*
- NN. Indol negatif *Proteus mirabilis*
- MM. Tidak menghidrolisis ureaO,OO
- O. Membentuk gas dari glukosa pada 37°C. Salmonella P,PP
- P. Tidak memfermentasi sukrosa, memfermentasi maltosa, motil *Salmonella typhinurium*.
- PP. Tidak memfermentasi sukrosa dan maltosa, nonmotil *Salmonella gallinarium*.
- OO. Tidak membentuk gas dari glukosa pada 37°C (tidak dibagi lebih lanjut).
- FF. Gram positifQ,QQ
- Q. Kokus. Micrococcaceae, StreptococcaceaeR,RR
- R. Gerombol atau paket beraturan atau tidak beraturan, koloni biasanya besar, tidak tembus pandang, katalase positif. Micrococcaceae S,SS
- S. Memfermentasi glukosa dalam keadaan anaerobik fakultatif,

- biasanya bergerombol tidak beraturan. *Staphylococcus*T,TT
- T. Koagulase positif, membentuk asam dari manifitol secara anaerobik *Staphylococcus aureus*,
- TT. Koagulase negatif, tidak membentuk asam dari manitol secara anaerobik *Staphylococcus epidermidis*
- SS. Tidak memfermentasi glukosa dalam keadaan anaerobik bersifat aerobik, membentuk gerombolan dan fetrad tidak beraturan. *Micrococcus* ... U,UU
- U. Koloni berpigmen kuning *Micrococcus luteus*
- UU. Koloni berpigmen merah *Micrococcus roseus*
- RR. Sel bulat atau lonjong, berpasangan, atau rantai dengan panjang berbeda-beda, koloni biasanya kecil, tembus pandang, katalase negatif Streptococcaceae V,VV
- V. Tidak tumbuh dalam kaldu NaCl 6,5% dan pada pH 9,6 *Streptococcus mitis*, *Streptococcus pyogenes* W,WW
- W. Tidak tumbuh pada 10 atau 45°C, hemolisis beta pada darah*Streptococcus pyogenes*.
- WW. Tidak tumbuh pada 10, tumbuh pada 45°C (kecuali *S. mitis*), hemolisis alfa pada darah *Streptococcus mitis*.
- VV. Tumbuh dalam kaldu NaCl 6,5% dan pH 9,6 *Streptococcus faecalis*.
- QQ. Batang. Mycobacteriaceae, Bacillaceae, Lactobacillaceae, kelompok coryneformX,XX
- X. Tidak menghasilkan endospora. Mycobacteriaceae, Lactobacillaceae, kelompok coryneformY,YY
- Y. Tahan asam. Mycobacteriaceae (tidak dibagi lebih lanjut).
- YY. Tidak tahan asam. Lactobacillaceae, kelompok coryneform tidak dibagi lebih lanjut
- XX. Menghasilkan endospora. BacillaceaeZ,ZZ
- Z. Katalase negatif, anaerobik. Clostridium (tidak dibagi lebih lanjut).
- ZZ. Katalase positif, aerobik. *Bacillus*a,aa
- a. Mengakumulasi nitrit dari reduksi nitrat, VP positif. *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* b,bb
- b. Koloni pada agar nutrin bundar atau tidak beraturan, permukaan suram, menjadi tebal dan tidak tembus pandang, mungkin keriput dan menjadi cokelat, dalam kaldu membentuk pelikel, sedikit keruh atau tidak sama sekali, tidak tumbuh pada agar anaerobik, memfermentasi sukrosa *Bacillus subtilis*.
- bb. Tidak dilanjutkan.

- aa. Tidak mengakumulasi nitrit negatif, tidak tumbuh pada dari reduksi nitrat, VP agar anaerobik *Bacillus negaterium*.