

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Penelitian

4.1.1 Potensi Bakteri Endofit dari Tanaman Mangrove

4.1.1.1 Isolat Bakteri Endofit Asal Tanaman Mangrove

Hasil Isolasi bakteri endofit dari tanaman mangrove di berbagai wilayah di Kota Kendari dan Kabupaten Konawe Selatan diperoleh sebanyak 43 isolat bakteri. Hasil isolasi dari wilayah Kota Kendari Kelurahan Lahundape diperoleh 9 isolat bakteri. Sedangkan dari wilayah Kabupaten Konawe Selatan diperoleh 34 isolat bakteri endofit yang tersebar pada beberapa desa yaitu 6 isolat diperoleh di Desa Tanjung Tiram, 20 isolat di Desa Lalowaru, dan 8 isolat dari Desa Tondonggeu. Isolat bakteri endofit asal tanaman mangrove disajikan pada Tabel 4.1 dan hasil lengkapnya disajikan pada Lampiran 3.1.

Tabel 4.1 Isolat bakteri asal tanaman mangrove

NO	Lokasi Asal Isolat (Desa/ Kelurahan/Kabupaten)	Jumlah Perolehan Isolat Bakteri
1.	Lahundape/ Kota Kendari	9 isolat bakteri
2.	Tanjung Tiram/ Konawe Selatan	6 isolat bakteri
3.	Lalowaru/ Konawe Selatan	20 isolat bakteri
4.	Tondonggeu/ Konawe Selatan	8 isolat bakteri

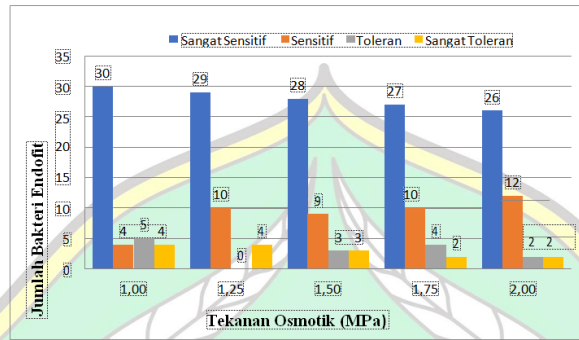
Berdasarkan Tabel di atas, isolat tertinggi ditemukan di Desa Lalowaru Kabupaten Konawe Selatan. Sedangkan isolat terendah ditemukan di Desa Tanjung Tiram Kabupaten Konawe Selatan. Perbedaan jumlah perolehan isolat bakteri dipengaruhi oleh karakteristik tanah dan kontaminasi

alat yang digunakan. Sopardi mengatakan bahwa jumlah bakteri dalam tanah bervariasi karena perkembangan mereka sangat bergantung pada keadaan tanah. Perbedaan karakteristik tanah setiap wilayah dapat dilihat pada (Lampiran 1.5). Wilayah dengan jumlah perolehan bakteri terbanyak menunjukkan keadaan tanah tersebut subur sesuai dengan pernyataan mukrin bahwa tanah yang subur mengandung sejumlah populasi mikroorganisme yang tinggi. Pada lokasi sampel yang sangat berlumpur banyak terkandung bahan organik yang dihasilkan dari tumbuhan mangrove, seperti yang dinyatakan oleh Sinatryani Tahun 2014 bahwa bahan organik yang dihasilkan mangrove akan dimanfaatkan oleh detritus dan terkubur bersama lumpur dan menjadi tempat hidup mikroorganisme dan mineral bagi kesuburan tanah. Penelitian yang dilakukan oleh Takdir dkk Tahun 2015 juga menambahkan terkait keberadaan bahan organik didalam tanah menunjukkan bahwa semakin tinggi bahan organik di dalam tanah, maka mikroorganisme tanah juga semakin tinggi. Sehingga berdasarkan hasil penelitian diperoleh isolat bakteri endofit yang berbeda-beda jumlahnya pada tiap lokasi pengambilan sampel.

4.1.2 Karakterisasi Potensi Isolat Bakteri Endofit Tolerean Kekeringan

Karakterisasi potensi bakteri endofit asal tanaman mangrove dilakukan untuk memperoleh bakteri endofit yang berperan sebagai penginduksi ketahanan tanaman terhadap kekeringan. Seleksi ini dilakukan melalui pengujian pada media NB (*Nutrient Broth*) yang mengandung PEG-6000 dengan indikator tingkat kekeruhan bakteri pada media tersebut. Jumlah isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman mangrove yang diseleksi menggunakan PEG-6000

disajikan pada gambar 4.2. Hasil seleksi bakteri endofit toleran cekaman kekeringan pada tekanan -2,00 MPa disajikan pada Tabel 4.2. dan hasil lengkap uji toleran cekaman kekeringan disajikan pada Lampiran 3.2.



Gambar 4.2 Grafik hasil seleksi Isolat bakteri endofit menggunakan PEG 6000

Hasil pengujian toleransi bakteri endofit dari tanaman mangrove pada media NB (*Nutrient Broth*) yang ditambahkan dengan PEG-6000 diperoleh karakteristik bakteri berdasarkan nilai *Optical Density* (OD) pada tekanan osmotik -1,00 MPa didapatkan 30 isolat bakteri sangat sensitif, 4 isolat bakteri sensitif, 5 isolat bakteri toleran dan 4 isolat bakteri sangat toleran. Pada tekanan osmotik -1,25 MPa diperoleh 29 isolat bakteri sangat sensitif, 10 isolat bakteri sensitif, dan 4 isolat bakteri sangat toleran. Untuk tekanan osmotik -1,50 MPa diperoleh 28 isolat bakteri sangat sensitif, 9 isolat bakteri sensitif, 3 isolat bakteri toleran dan 3 isolat bakteri sangat toleran. Pada tekanan osmotik -1,75 MPa diperoleh 27 isolat bakteri sangat sensitif, 10 isolat bakteri sensitif, 4 isolat bakteri toleran, dan 2 isolat bakteri sangat toleran. Sedangkan pada tekanan osmotik -2,00 MPa ditemukan 26 isolat bakteri sangat sensitif, 12 isolat bakteri sensitif, 2 isolat bakteri toleran, dan 2 isolat bakteri sangat toleran terhadap kekeringan.

Tabel 4.2 Bakteri Endofit asal tanaman mangrove yang sangat toleran terhadap cekaman kekeringan pada tekanan -2,00 MPa.

Kode isolat	Nilai <i>Optical Density</i> (OD) Pada Tekanan Osmotik (Mpa)					Toleransi Cekaman Kekeringan	Lokasi Asal Isolat (Desa/Kelurahan)
	-1,00	-1,25	-1,50	-1,75	-2,00		
L1BO2	0,308	0,392	0,454	0,207	0,372	Sensitif	Lalowaru
L1BO3	0,145	0,537	0,315	0,163	0,368	Sensitif	Lalowaru
LH1B3	0,296	0,201	0,282	0,393	0,403	Toleran	Lahundape
LH2B2	0,230	0,325	0,280	0,335	0,327	Sensitif	Lahundape
LH2B3	0,392	0,320	0,323	0,394	0,363	Sensitif	Lahundape
LH3B1	0,339	0,294	0,298	0,394	0,303	Sensitif	Lahundape
LH3B3	0,303	0,527	0,344	0,341	0,359	Sensitif	Lahundape
LW1B3	0,481	0,354	0,364	0,351	0,408	Toleran	Lalowaru
LW1B4	0,252	0,338	0,287	0,398	0,306	Sensitif	Lalowaru
LW2B1	0,358	0,509	0,308	0,376	0,380	Sensitif	Lalowaru
LW2B2	0,457	0,395	0,541	0,542	0,709	Sangat Toleran	Lalowaru
LW2B3	0,418	0,533	0,511	0,402	0,455	Toleran	Lalowaru
LW3B1	0,272	0,259	0,271	0,295	0,336	Sensitif	Lalowaru
LW3B2	0,304	0,267	0,312	0,279	0,390	Sensitif	Lalowaru
TG1B2	0,152	0,336	0,310	0,229	0,360	Sensitif	Todonggea
TG3B2	0,398	0,287	0,405	0,371	0,367	Sensitif	Todonggea

Tabel 4.2 menunjukkan bahwa hasil seleksi bakteri endofit asal tanaman mangrove memiliki kemampuan yang berbeda-beda pada setiap tekanan osmotik yang diberikan. Hasil uji seleksi toleran cekaman kekeringan diperoleh bahwa 16

isolat bakteri endofit asal tanaman mangrove yang sangat toleran pada tekanan osmotik PEG-6000 (-2,00 MPa). Dengan demikian bakteri endofit tersebut sangat potensial sebagai penginduksi ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan.

Isolat bakteri endofit asal tanaman mangrove mampu bertahan hidup hingga tekanan osmotik -2,00 MPa. Stres kekeringan secara drastis mempengaruhi jumlah isolat bakteri yang toleran terhadap kekeringan. Jumlah bakteri endofit yang dapat mentoleransi tingkat kekeringan semakin berkurang seiring dengan peningkatan tekanan osmotik. Pada tekanan osmotik -1,00 MPa jumlah bakteri endofit sangat toleran kekeringan yaitu 4 isolat bakteri, tetapi pada tekanan osmotik -1,25 MPa, - 1,50 MPa, -1,75 MPa, dan - 2,00 MPa jumlah isolat bakteri yang sangat toleran semakin berkurang dengan jumlah isolat pada masing-masing tekanan osmotik yaitu 4 isolat bakteri, 3 isolat bakteri, 2 isolat bakteri, dan 2 isolat bakteri secara berturut-urut.

Berdasarkan hasil uji toleransi terhadap kekeringan menggunakan *polyethylene glycol* (PEG) 6000, diperoleh 16 isolat bakteri endofit yang memiliki nilai OD tertinggi yang diisolasi dari tanaman mangrove yaitu bakteri dengan kode isolat L1B02, L1B03, LH1B3, LH2B2, LH2B3, LH3B1, LH3B3, LW1B3, LW1B4, LW2B1, LW2B2, LW2B3, LW3B1, LW3B2, TG1B2, TG3B2. Selanjutnya akan digunakan pada uji kemampuan menghasilkan IAA, uji kemampuan memfiksasi nitrogen, dan uji kemampuan dalam melarutkan fosfat.

4.1.2.1. Uji Kemampuan Menghasilkan IAA

Hasil uji kemampuan bakteri endofit menghasilkan hormon IAA dari 16 isolat bakteri diperoleh 15 isolat yang mampu menghasilkan hormon IAA.

Kemampuan isolat bakteri endofit dalam menghasilkan hormon IAA ditandai dengan perubahan warna supernatan kultur isolat bakteri menjadi merah muda. Perubahan warna yang terjadi bervariasi terhadap tingkat kepekatan warna yaitu tampak merah muda pekat, warna merah pudar dan tidak berwarna merah muda. Hasil pengukuran nilai absorbansi dan perubahan warna pada supernatant kultur bakteri dapat dilihat pada Tabel 4.3

Tabel 4.3 Hasil pengukuran nilai absorbansi kultur bakteri

NO	Kode isolat	Nilai absorbansi	Keterangan
1.	LH2B2	0,795	++
2.	LH2B3	0,540	++
3.	LH3B1	0,589	++
4.	LH3B3	0,489	+
5.	LW1B3	0,275	-
6.	LW1B4	0,378	++
7.	LW2B1	0,405	++
8.	LW3B1	0,705	++
9.	TG1B2	0,360	++
10.	TG3B2	0,719	++
11.	L1BO2	0,275	+
12.	L1BO3	0,567	++
13.	LH1B3	0,426	++
14.	LW2B2	0,408	++
15.	LW3B2	0,491	++
16.	LW2B3	0,498	++

Keterangan :

- Tidak menghasilkan IAA
- + Menghasilkan IAA kategori rendah
- ++ Menghasilkan IAA kategori tinggi

Hasil pengujian bakteri endofit dalam memproduksi hormon IAA (Gambar 4.3) menunjukkan bahwa masing-masing isolat bakteri endofit memiliki kemampuan yang berbeda dalam mensintesis hormon IAA dari L- triptofan. Menurut Pattern dan Glick hasil yang berbeda antara setiap konsentrasi IAA isolat bakteri dapat dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi triptofan yang ditambahkan

ke media. Perbedaan ini juga diduga karena kondisi masing-masing lokasi pengambilan sampel, lama inkubasi dan kemampuannya dalam mengkonversi triptofan yang terkandung dalam media menjadi IAA serta larutan standar IAA yang digunakan. Kemampuan bakteri endofit dalam melarutkan IAA ini ditandai dengan adanya perubahan warna merah muda dalam tabung reaksi.

Isolat yang mampu melarutkan IAA diberi tanda + (positif), sedangkan yang tidak mampu melarutkan IAA diberi tanda- (negatif). Terdapat 15 supernatant kultur bakteri yang mampu memproduksi hormon IAA tertinggi diantaranya isolat bakteri dengan kode isolat LH2B2, LH2B3, LH3B1, LH3B3, LW1B4, LW2B1, LW3B1, TG1B2, TG3B2, L1B02, L1B03, LH1B3, LW2B2, LW3B2, dan LW2B3 sedangkan yang tidak mampu memproduksi hormon IAA yaitu bakteridengan kode isolat LW1B3.



Gambar 4.3 Hasil uji IAA . (a) perubahan warna merah muda dan (b) tidak terjadi perubahan warna merah muda.

4.1.2.2 Uji Kemampuan Memfiksasi Nitrogen

Hasil pengujian kemampuan bakteri dalam memfiksasi nitrogen terhadap 16 isolat bakteri endofit didapatkan 16 isolat bakteri endofit asal tanaman mangrove yang memiliki kemampuan dalam memfiksasi nitrogen yakni LH2B2, LH2B3, LH3B1, LH3B3, LW1B3, LW1B4, LW2B1, LW3B1, TG1B2, TG3B2, L1B02, L1B03, LH1B3, LW2B2, LW3B2, LW2B3. Pengujian ini dilakukan dengan menggunakan media burk salt sebanyak 20 ml dan

dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dishaker dengan kecepatan 150 rpm selama 48 jam. Kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi nitrogen ini ditandai dengan adanya kekeruhan media dalam tabung reaksi. Adapun hasil uji kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi nitrogen dapat dilihat pada Tabel 4.4 dan perbandingan warnanya dapat dilihat pada Lampiran 3.4.

Tabel 4.4 Hasil Uji Nitrogen Bakteri Endofit

NO	Kode Isolat	Indikator warna isolat	Keterangan
1.	LH2B2	Keruh	+
2.	LH2B3	Keruh	++
3.	LH3B1	Keruh	++
4.	LH3B3	Keruh	++
5.	LW1B3	Keruh	++
6.	LW1B4	Keruh	++
7.	LW2B1	Keruh	++
8.	LW3B1	Keruh	++
9.	TG1B2	Keruh	++
10.	TG3B2	Keruh	++
11.	L1BO2	Keruh	++
12.	L1BO3	Keruh	++
13.	LH1B3	Keruh	++
14.	LW2B2	Keruh	++
15.	LW3B2	Keruh	++
16.	LW2B3	Keruh	++

Keterangan : + Memfiksasi nitrogen kategori rendah;
++ Memfiksasi nitrogen kategori tinggi.

4.1.2.3 Uji Kemampuan Melarutkan Fosfat

Hasil pengujian kemampuan melarutkan fosfat (Gambar 4.4) terhadap 16 isolat bakteri diperoleh 12 isolat bakteri endofit asal tanaman mangrove yang memiliki kemampuan dalam melarutkan fosfat dalam medium selektif *pikovskaya agar*, yakni LH2B2, LH3B1, LH3B3, LW1B3, LW1B4, LW2B1, LW3B1, TG1B2, TG3B2, LW2B2, LW3B2, LW2B3. Kemampuan isolat bakteri endofit ini ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar koloni bakteri. Zona

bening yang terbentuk merupakan indikasi bahwa isolat bakteri tersebut mampu melarutkan fosfat kompleks. Zona bening pada medium *pikovskaya agar* dapat terbentuk akibat pelarutan enzim kitinase.

Hal ini sejalan dengan penelitian Suryadi yang menyatakan zona bening terbentuk akibat enzim kitinase dikeluarkan dari sel bakteri untuk memecah makromolekul kitin menjadi molekul kitin yang lebih kecil. Gohel menjelaskan bahwa aktivitas kitin secara kualitatif ditentukan oleh adanya zona bening di sekitar koloni bakteri yang tumbuh pada medium *pikovskaya*. Adapun hasil uji fosfat isolat bakteri endofit setelah diinkubasi dapat dilihat pada Tabel 4.5

Tabel 4.5 Hasil Uji Fosfat Isolat Bakteri Endofit

Kode Isolat	Diameter Koloni (mm)	Diameter Zona Bening (mm)
LH2B2	8 mm	22 mm
LH2B3	12 mm	-
LH3B1	8 mm	20 mm
LH3B3	8 mm	14 mm
LW1B3	8 mm	19 mm
LW1B4	8 mm	12 mm
LW2B1	10 mm	15 mm
LW3B1	9 mm	12 mm
TG1B2	9 mm	22 mm
TG3B2	8 mm	17 mm
L1BO2	8 mm	-
L1BO3	8 mm	-
LH1B3	7 mm	-
LW2B2	8 mm	20 mm
LW3B2	8 mm	28 mm
LW2B3	8 mm	25 mm

Isolat yang mampu melarutkan fosfat diberi tanda + (positif), sedangkan yang tidak mampu melarutkan fosfat diberi tanda - (negatif). Adapun indeks kelarutan fosfat isolat bakteri endofit tertinggi didapatkan pada bakteri dengan kode isolat LW3B2 sedangkan indeks kelarutan sedang didapatkan pada

bakteri dengan kode isolat LH3B3, LW1B4 dan LW3B1. Berdasarkan uji yang dilakukan dapat dilihat pada Tabel 4.6

Tabel 4.6 Indeks Kelarutan Fosfat Isolat Bakteri Endofit

Kode isolat	Nilai IKF	Kriteria	Kerangan
LH2B2	3,75	Sangat tinggi	++
LH2B3	-	-	-
LH3B1	3,5	Sangat tinggi	++
LH3B3	2,7	Sedang	+
LW1B3	3,3	Sangat tinggi	++
LW1B4	2,5	Sedang	+
LW2B1	2,5	Sedang	+
LW3B1	2,3	Sedang	+
TG1B2	3,4	Sangat tinggi	++
TG3B2	3,1	Sangat tinggi	++
L1B02	-	-	-
L1B03	-	-	-
LH1B3	-	-	-
LW2B2	3,5	Sangat tinggi	++
LW3B2	4,5	Sangat tinggi	++
LW2B3	4,1	Sangat tinggi	++

Keterangan :
 - Tidak dapat melarutkan fosfat
 + Melarutkan fosfat kategori rendah;
 ++ Melarutkan fosfat kategori tinggi.



Gambar 4.4 Uji fosfat, (a) tidak ada kelarutan fosfat (b) nilai IKF sedang, dan (c) nilai IKF tertinggi

4.1.2.4 Karakter Morfologi Bakteri Endofit

Berdasarkan hasil pengamatan yang dilakukan, terhadap karakter morfologi bakteri endofit dari tanamana mangrove disajikan pada Tabel 4.7

Tabel 4.7 Hasil pengamatan morfologi bakteri endofit asal tanaman mangrove

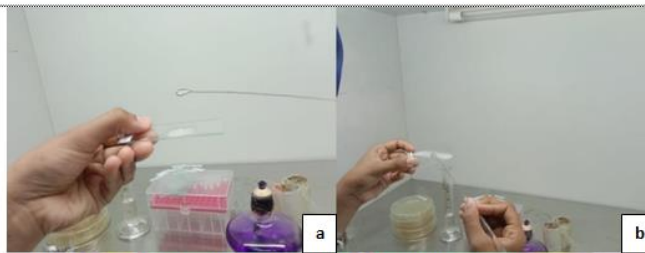
Kode Bakteri	Karakter Morfologi			
	Bentuk Koloni	Tepian Koloni	Warna Koloni	Elevasi
LH2B2	Tidak Beraturan	Rata	Putih Susu	Cembung
LH2B3	Tidak Beraturan	Berombak	Putih Susu	Cembung
LH3B1	Tidak Beraturan	Rata	Putih Kecoklatan	Cembung
LH3B3	Bulat Sedang	Berombak	Putih Kekuningan	Cembung
LW1B3	Bulat	Rata	Putih	Cembung
LW1B4	Bulat Sedang	Bergerigi	Putih Kekuningan	Rata
LW2B1	Bulat	Bergerigi	Putih Susu	Cembung
LW2B2	Bulat	Bergerigi	Putih Kekuningan	Cembung
LW2B3	Tidak Beraturan	Bergerigi	Putih Kecoklatan	Cembung
LW3B1	Bulat Sedang	Bergerigi	Putih Kecoklatan	Cembung
LW3B2	Bulat	Rata	Putih Kecoklatan	Rata
TG1B2	Bulat	Bergerigi	Putih Kecoklatan	Cembung
TG3B2	Bulat Sedang	Berombak	Putih Kekuningan	Cembung
L1BO2	Bulat	Rata	Putih Kekuningan	Rata
L1BO3	Bulat	Rata	Putih Kekuningan	Rata
LH1B3	Bulat	Berombak	Putih Susu	Rata

Hasil pengamatan karakter morfologi bakteri endofit menunjukkan adanya perbedaan bentuk yaitu bentuk bulat, bulat sedang dan tidak beraturan. Tepi koloni ada yang rata, bergerigi, dan berombak. Keenam belas isolat memiliki elevasi cembung dan rata. Warna atau pigmentasinya bermacam- macam ada yang berwarna putih, putih susu, putih kecoklatan dan putih kekuningan.

4.1.2.5 Uji Gram KOH 3 %

Hasil pengujian reaksi Gram (Tabel 4.8) yang dilakukan diperoleh hasil isolat bakteri yang mengandung gram positif sebanyak 9 isolat dengan kode LH2B2, LH3B3, LW1B3, LW1B4, LW2B1, LW2B2, LW2B3, LW3B2, dan LH1B3 yang ditandai dengan tidak adanya lendir pada hasil uji, sedangkan hanya terdapat 7 isolat bakteri dengan kode LH3B1, LW3B1, TG1B2, TG3B2, L1B02, dan L1B03 yang mengandung gram negatif yang ditandai dengan adanya lendir

pada isolat yang diuji (Gambar 4.5). Menurut Jawetz (2005), perbedaan kedua bakteri gram didasarkan pada perbedaan struktur dinding sel yang berbeda dan dapat merupakan prosedur penting dalam klasifikasi bakteri.



Gambar 4.5. (a) Bakteri Gram Positif dan (b) Bakteri Gram Negatif

Bakteri gram negatif menghasilkan lendir dikarenakan memiliki dinding sel yang sensitif dibandingkan dengan bakteri gram positif dan tidak memiliki ketahanan terhadap penghambat basa seperti larutan KOH. Sehingga apabila sel bakteri negatif direaksikan dengan larutan KOH, maka dinding sel bakteri akan pecah dan terjadi lisis sehingga DNA tidak terikat. DNA bersifat sangat kental di dalam air, sehingga akan membentuk lender.

Tabel 4.8 Pengamatan uji reaksi gram KOH 3%

NO	Kode Bakteri	Gram
1.	LH2B2	Positif (+)
2.	LH2B3	Negatif (-)
3.	LH3B1	Negatif (-)
4.	LH3B3	Positif (+)
5.	LW1B3	Positif (+)
6.	LW1B4	Positif (+)
7.	LW2B1	Positif (+)
8.	LW2B2	Positif (+)
9.	LW2B3	Positif (+)
10.	LW3B1	Negatif (-)
11.	LW3B2	Positif (+)
12.	TG1B2	Negatif (-)
13.	TG3B2	Negatif (-)
14.	L1BO2	Negatif (-)
15.	L1BO3	Negatif (-)
16.	LH1B3	Positif (-)

4.1.3 Hasil Uji Kelayakan bahan ajar leaflet materi archaeobacteria dan eubacteria

Uji kelayakan bahan ajar *leaflet* materi archaeobacteria dan eubacteria dilakukan dengan melibatkan dosen-dosen Institut Agama Islam Negeri (IAIN) Kendari dan sebagai validator ahli materi dan ahli media, Kelayakan bahan ajar *leaflet* ini dinyatakan layak berdasarkan hasil validasi dari ahli materi dan ahli media. Penelitian ini akan dibatasi pada beberapa tahap. Tahap-tahap tersebut yaitu: a) Tahap pengumpulan informasi; b) Tahap perencanaan; dan c) Tahap pembuatan bahan ajar; d) Tahap validasi dan uji kelayakan media bahanajar. Penjelasan tahap-tahap tersebut adalah sebagai berikut.

a. Tahap pengumpulan informasi

Tahap awal yang dilakukan adalah dengan melakukan tinjauan standar isi. Isi dari *leaflet* ini dimaksudkan untuk dapat digunakan sebagai suplemen dalam pembelajaran materi *archaeobacteria* dan *eubacteria*. Setelah materi telah ditentukan, langkah selanjutnya yaitu melakukan studi pustaka guna memperoleh materi yang dibutuhkan dalam penyusunan bahan ajar *leaflet*.

b. Tahap pengumpulan perencanaan

Tahap perencanaan mengacu pada proses pembuatan kisi-kisi instrument penelitian yang akan digunakan sebagai kriteria penilaian *leaflet*. Kisi-kisi yang telah dibuat maka langkah selanjutnya adalah membuat instrumen penelitian uji kelayakan *leaflet*. Instrument yang digunakan dalam penelitian ini adalah lembar validasi yang akan diberikan kepada validator. Lembar validasi digunakan untuk mengetahui kelayakan dari bahan ajar *leaflet* yang dikembangkan. Penilaian ahli

materi mengacu pada aspek materi yang dimuat dalam *leaflet* dan penilaian ahli media mengacu pada aspek pemanfaatan dan tampilan.

c. Tahap pembuatan bahan ajar

Tahap pembuatan media *leaflet archaeobacteria* dan *eubacteria* menggunakan situs canva. Sebuah aplikasi yang dapat digunakan oleh seluruh kalangan dikarenakan terdapat fitur gratis pengguna. Langkah-langkah yang dilakukan dalam pembuatan bahan ajar ini yaitu: 1) Membuat daftar susunan materi yang akan ditampilkan pada *leaflet*; 2) Mengumpulkan komponen-komponen yang akan digunakan dalam pembuatan *leaflet archaeobacteria* dan *eubacteria* seperti materi dan gambar; 3) Menentukan desain *leaflet*; 4) Menyusun *leaflet archaeobacteria* dan *eubacteria*; 5) Melakukan pengecekan pada *leaflet* apabila terdapat kesalahan; dan 6) Penyesuaian akhir.

d. Tahap validasi dan uji kelayakan produk

Tahap validasi bahan ajar dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui tingkat kelayakan bahan ajar *leaflet archaeobacteria* dan *eubacteria* berdasarkan penilaian dari ahli materi dan ahli media. Validasi bahan ajar ini dilakukan oleh ahli materi yang berkompeten di bidang Biologi dan ahli media yang berkompeten dalam bidang media pembelajaran. Bahan ajar *leaflet archaeobacteria* dan *eubacteria* yang telah divalidasi kemudian akan direvisi sesuai saran dan masukan yang telah diberikan oleh ahli materi dan media saat proses validasi.

4.1.3.1 Validasi Ahli Media

Ahli media menilai *leaflet archaeobacteria* dan *eubacteria* berdasarkan pemanfaatan dan tampilan yang disajikan. Ahli media yang menjadi validator

dalam penelitian ini adalah dosen Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan, Institut Agama Islam Negeri (IAIN) Kendari yaitu ibu Nourma Yulita, S.Pd, M.Pd Data validasi diperoleh dengan cara memberikan angket kepada ahli media. Selanjutnya ahli media akan melihat dan menilai *leaflet archaeobacteria* dan *eubacteria* dengan didampingi oleh peneliti, sehingga ahli media dapat mengajukan pertanyaan, komentar, dan saran secara langsung-hal-hal yang berkaitan dengan media yang di kembangkan. Komentar dan saran inilah yang nantinya akan digunakan sebagai pedoman revisi *leaflet archaeobacteria* dan *eubacteria* yang dikembangkan. Data hasil validasi ahli media dapat dilihat pada Tabel 4.9.

Tabel 4.9 Aspek Penilaian Indikator pertama oleh Ahli Media

No.	Indikator	Penilaian	Kriteria
A. Kualitas Grafik			
1	Proporsional Layout (tata letak teks dan gambar)	5	Sangat Baik
2	Kesesuaian pemilihan Background	5	Sangat Baik
3	Kesesuaian proporsi warna	5	Sangat Baik
B. Kualitas Gambar			
4	Kemenarikan sajian gambar	5	Sangat Baik
5	Kesesuaian gambar dengan Materi	5	Sangat Baik
C. Kualitas Kemasan			
6	Kemenarikan desain cover	5	Sangat Baik
7	Kelengkapan informasi pada kemasan luar	5	Sangat Baik
D. Efisiensi Program			
8	Kebebasan memilih materi untuk dipelajari	5	Sangat Baik
Jumlah		40	
Rata-rata penilaian		5,00	

Tabel 4.9 adalah hasil penilaian ahli media dengan jumlah skor sebanyak 40 dan rata-rata 5,00. Maka apabila dikonversikan kedalam data kualitatif termasuk dalam kategori “Sangat Baik”. penilaian ahli media tidak perlu direvisi lagi. Ahli media menilai media dari aspek tampilan. Penilaian dari ahli media ini akan dijadikan acuan untuk merevisi bahan ajar *Leaflet* sebelum dilakukan uji coba lapangan. Ahli media pada uji coba validator ini adalah ibu Nourma Youlita, M.Pd., beliau adalah dosen Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan Institut Agama Islam Negeri (IAIN) Kendari.

4.1.3.2 Validasi Ahli Materi

Ahli materi menilai bahan ajar *leaflet archaeobacteria dan eubacteria* berdasarkan materi yang disajikan. Ahli materi yang menjadi validator dalam penelitian ini adalah dosen Fakultas Tarbiyah dan Ilmu Keguruan, Institut Agama Islam Negeri (IAIN) Kendari yaitu ibu Andi Nurannisa Syam, M.pd Data validasi diperoleh dengan cara memberikan angket kepada ahli materi. Selanjutnya ahli materi akan melihat dan menilai *leaflet archaeobacteria dan eubacteria* dengan didampingi oleh peneliti, sehingga ahli materi dapat mengajukan pertanyaan, komentar, dan saran secara langsung hal-hal yang berkaitan dengan *leaflet* yang dikembangkan. Komentar dan saran inilah yang nantinya akan digunakan sebagai pedoman revisi *leaflet archaeobacteria dan eubacteria* yang dikembangkan. Data hasil validasi ahli materi dapat dilihat pada Tabel 4.10

Tabel 4.10 Aspek Penilaian Indikator kedua oleh Ahli Materi

No.	Indikator	Penilaian	Kriteria
A. Cakupan Materi			
1	Keluasan Materi (berapa banyak materi-materi yang dimasukkan ke dalam materi archaeobacteria dan eubacteria)	4	Baik
2	Kedalaman materi (detail konsep-konsep yang terkandung di dalamnya yang harus dipelajari atau dikuasai)	4	Baik
B. Akurasi (kebenaran dan ketetapan) bahan leaflet			
3.	Kejelasan Materi	4	Baik
4.	Struktur organisasi/ urutan isi materi	4	Baik
5	Kejelasan Bahasa Yang Digunakan	5	Sangat Baik
C. Kemuktakhiran			
6.	Kesesuaian dengan ilmu pengetahuan	4	Baik
D. Penyajian materi leaflet			
7.	Penyajian materi dilengkapi dengan ilustrasi gambar yang sesuai dengan pembahasannya	4	Baik
8.	Penyajian materi mengacu pada materi archaeobacteria dan eubacteria	5	Sangat Baik
Jumlah		34	
Rata-rata penilaian		4,25	

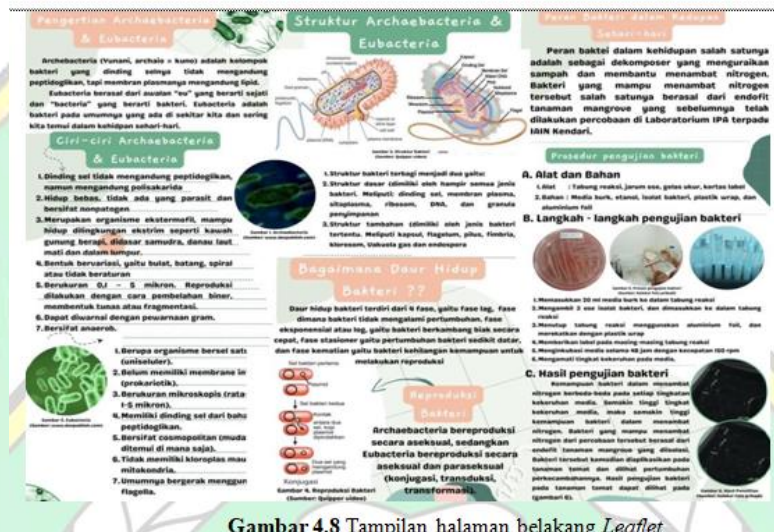
Tabel 4.10 di atas adalah hasil dari penilaian ahli materi dengan jumlah skor sebanyak 34 dengan rata-rata 4,25. Maka apabila dikonversikan kedalam data kualitatif termasuk dalam kategori “ Baik”. Dengan penilaian ahli materi tidak perlu direvisi lagi.

4.1.3.3 Tampilan *Leaflet* Archaeobacteria dan Eubacteria

Berikut adalah *Leaflet* Archaeobacteria dan Eubacteria yang telah direvisi sesuai arahan ahli materi dan ahli media.



Gambar 4.7 Tampilan halaman depan Leaflet



Gambar 4.8 Tampilan halaman belakang Leaflet

4.2 Pembahasan

4.2.1 Potensi Isolat Bakteri Endofit

Isolasi bakteri endofit pada tanaman mangrove dilakukan untuk memperoleh sejumlah isolat potensial yang berperan sebagai penginduksi ketahanan tanaman terhadap cekaman kekeringan. Hasil penelitian ini terdapat 43 isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman mangrove. Hasil isolasi dari wilayah kota Kendari Kelurahan Lahundape diperoleh 9 isolat bakteri.

Sedangkan dari wilayah Kabupaten Konawe Selatan diperoleh 34 isolat bakteri endofit yang tersebar pada beberapa desa yaitu 6 isolat diperoleh di Desa Tanjung Tiram, 20 isolat di Desa Lalowaru, dan 8 isolat dari desa Tondonggeu. Perbedaan perolehan jumlah isolat bakteri diduga disebabkan oleh karakteristik lingkungan hidup yang berbeda-beda pada tiap lokasi pengambilan sampel. Pada Wilayah Desa Lalowaru dengan jumlah isolat terbanyak memiliki karakter tanah yang berwarna coklat kehitaman dan sangat berlumpur. Pada Wilayah Desa Tondonggeu dan Desa Tanjung Tiram memiliki karakter tanah yang berwarna coklat dan struktur tanah agak berlumpur. Pada Wilayah Kelurahan Lahundape memiliki struktur tanah berwarna coklat dan berlumpur.

Wulandari (2019) menyatakan bahwa komposisi bakteri akan berbeda-beda pada setiap wilayah tergantung pada jenis tanah, spesies tumbuhan, musim yang berbeda, dan kondisi iklim. Hasanuddin (2020) menambahkan bahwa aktivitas mikroorganisme seperti bakteri dipengaruhi oleh eksudat yang dihasilkan oleh perakaran tumbuhan sehingga kelimpahan mikroorganisme lebih banyak. Mukrin (2019) juga menambahkan bahwa jumlah total mikroorganisme yang terdapat didalam tanah digunakan sebagai indeks kesuburan tanah (fertility indeks) tanpa mempertimbangkan hal-hal lain. Tanah yang subur mengandung sejumlah mikroorganisme, populasi yang tinggi ini menggambarkan adanya suplai makanan atau energi yang cukup ditambah lagi dengan temperatur yang sesuai, ketersediaan air yang cukup, kondisi ekologi lain yang mendukung perkembangan mikroorganisme pada tanah tersebut.

Hasil penelitian Takdir Wicaksono dkk, tahun 2015 tentang kajian

aktivitas mikroorganisme tanah pada beberapa cara penggunaan lahan di Desa Pal IX Kecamatan Sungai Kakap Kabupaten Kubu Raya menyimpulkan bahwa bahan organik tanah menentukan jumlah mikroorganisme di dalam tanah, semakin tinggi bahan organik di dalam tanah, maka mikroorganisme juga semakin tinggi. Penelitian sebelumnya melaporkan variasi jumlah isolat bakteri pada masing-masing lokasi pengambilan sampel yaitu dari tanaman tomat kultivar muna sehat diberbagai wilayah di Kabupaten Muna dan Kabupaten Muna Barat. Diperoleh sebanyak 123 isolat bakteri endofit yang tersebar pada beberapa desa yaitu 24 isolat diperoleh di Desa Sidamangura, 4 isolat di Desa Bumbu, 22 isolat dari Desa Lakumampo, 6 isolat dari Desa Lapokainse, 8 isolat dari Desa Maligano, 12 isolat dari Desa Kasaka, 17 isolat dari Desa Sawerigadi, 10 isolat dari Desa Liangkabori, 18 isolat dari Desa Tobeia dan 2 isolat dari Desa Lamorende. Variasi tersebut dikarenakan adanya suplai makanan atau energi, kondisi ekologis dan juga temperatur yang menyokong perkembangan bakteri endofit.

Keanekaragaman bakteriyang bervariasi juga dipengaruhi oleh temperatur.. Hal ini seperti ditunjukan pada penelitian kavamura (2013)terdapat 74 isolat bakteri dari endofit yang berhasil siolasi dari beberapa lokasi penelian didapatkan beberapa isolat bakteri toleran dilahan basah diantaranya yaitu *Careus jamaca*, *Melocatus* sp., *Pilosecereusgounellei*. Hal ini didukung oleh penelitian Behera et al. (2016) yang menyatakan bahwabakteri pada tanah mangrove tumbuh pada pH 5-7 dan suhu maksimum 40°C, yang menemukan bakteri anggota genus *seudomonas*, *Bacillus* dan *Serratia*.

Rojas (2001) juga menemukan bakteri anggota genus *Vibrio* pada tanah mangrove *Avicennia germinans*. Behera. (2016) juga menemukan anggota genus lainnya seperti *Azotobacters*, *Alcaligens*, *Klebsiella* dan *Micrococcus*. Perbedaan jenis bakteri dikarenakan perbedaan pada tanah mangrove di Mahanadi Delta, Odisha, India yang didominasi oleh mangrove *Avicennia* dan *Rhizophora*. Sengupta dan Chaudhuri (1991), juga menemukan lebih banyak genus bakteri rizosfer seperti anggota genus *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Clostridium*, *Klebsiella* dan *Rhizobium* dari sedimen, rizosfer dan permukaan akar dari spesies mangrove *Rhizophora*. Vazquez et al. (2000) juga menemukan bakteri rizosfer lain yaitu *Bacillus amyloliquefaciens*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus atrophaeus*, *Vibrio proteolyticus* dari tanah mangrove pesisir Semiriad.

Pusdiknakes (1989) melaporkan bahwa perolehan isolat bakteri juga dipengaruhi oleh berbagai kondisi yang ada termasuk pengaruh dari lingkungan luar misalnya adanya kontaminasi selama proses inkubasi. Hal ini didukung oleh penelitian Aryadi (2009) terdapat 23 isolat bakteri yang terkontaminasi diakibatkan ketidak sterilan selama proses inkubasi. Hasil ini menunjukkan bahwa prosedur yang salah selama proses penanaman bakteri menyebabkan bakteri terkontaminasi sehingga akan merusak atau memperlemah fungsi vital organisme dan kemudian akan membunuhnya. (Hollander, 1995: 76)

4.2.2 Karakterisasi Bakteri Endofit Toleran Kekeringan

Karakterisasi bakteri endofit dari hasil penelitian ini terdapat 43 isolat bakteri endofit yang berhasil diisolasi dari tanaman mangrove. Dari 43 isolat bakteri endofit, 2 isolat sangat toleran, 2 isolat bakteri toleran, 12 sensitif, dan 26

sangat sensitif pada tekanan osmotik -2,00 MPa. Isolat LW2B2 dan LW3B3 dikelompokkan dalam golongan yang sangat toleran karena memiliki nilai $OD > 0,5$ pada tekanan -2,00 MPa. Isolat LW2B3 dan LW1B3 termasuk dalam kategori toleran kekeringan karena semakin menurunnya tekanan osmotik nilai OD mengalami Penurunan hingga 0,455 pada tekanan osmotik -2,00. Isolat L1B02, L1B03, LW1B4, LW2B1, LW3B1, LW3B2, LH2B2, LH2B3, LH3B1, LH3B3, TG1B2, dan TG3B2 termasuk dalam kategori sensitif karena semakin menurunnya tekanan osmotik nilai OD mengalami penurunan hingga 0,367 pada tekanan osmotik - 2,00.

Tingginya tekanan osmotik di luar sel bakteri menyebabkan cairan di dalam sel akan terdifusi ke luar sel, sehingga kerusakan dinding mikroba akan menyebabkan terjadinya lisis. Menurut Aprilia (2014), toleran adalah suatu kondisi dimana bakteri masih mampu bertahan hidup dan bertahan pada lingkungan yang kurang menguntungkan yaitu kekeringan. Sedangkan, sensitif adalah keadaan dimana bakteri tidak mampu bertahan hidup karena lingkungan tidak mendukung kehidupannya. Perbedaan jumlah perolehan isolat bakteri pada masing-masing tekanan osmotik ini diduga dipengaruhi oleh pemberian konsentrasi *polyethylene glycol* (PEG) yang berbeda-beda hal ini sesuai dengan pernyataan Michel dan Kaufman (1973) bahwa tekanan yang dibuat melalui penambahan senyawa PEG yang bersifat larut air menyebabkan media kultur menjadi lebih kental karena terjadinya penurunan tekanan potensial air sehingga air yang ada di media lebih sulit digunakan oleh bakteri.

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa seleksi bakteri toleran

kekeringan secara invitro merupakan salah satu alternatif untuk mendapatkan mikroba toleran terhadap cekaman kekeringan seperti yang dilakukan oleh Forchetti (2007) bahwa seleksi toleransi kekeringan bakteri endofit secara invitro dapat dilakukan dengan memberikan simulasi kekeringan dengan menggunakan polyethylene glycol (PEG). Senyawa ini dapat menurunkan potensial osmotik larutan melalui aktivitas matriks sub-unit etena oksida yang mampu mengikat molekul air dengan ikatan hidrogen.

Penggunaan larutan PEG pada media invitro diharapkan dapat menciptakan potensial osmotik yang setara dengan kondisi tanah kapasitas lapang dan titik kelembapan kritis sehingga bakteri memberikan respon yang sama ketika mengalami cekaman di lapangan. (Athar and Johnson, 1997; Michel dan Kaufman, 1973). Menurut Scholoter (1997) bahwa bakteri yang memiliki nilai *Optical Density* (OD) lebih besar 0,5 pada tekanan osmotik tertentu dikategorikan sebagai bakteri yang sangat toleran terhadap kekeringan.

Hasil pengamatan menunjukan bahwa jumlah bakteri yang sangat toleran terhadap kekeringan akan berkurang dengan peningkatan tekanan osmotik yaitu 4, 4, 3, 2, dan 2 isolat bakteri endofit pada tekanan osmotik -1,00 MPa, -1,25 MPa, -1,50 MPa, -1,75 MPa, -2,00 MPa secara berturut-turut. Pemilihan level tekanan osmotik ditentukan dengan merujuk pada Michel dan Kaufman (1973) bahwa tekanan yang dibuat melalui penambahan senyawa PEG yang bersifat larut air menyebabkan media kultur menjadi lebih kental karena terjadinya penurunan tekanan potensial air sehingga air yang ada di media lebih sulit digunakan oleh bakteri.

Penggunaan PEG dalam melakukan seleksi bakteri toleran kekeringan telah dilakukan oleh beberapa peneliti sebelumnya untuk mendapatkan bakteri yang sangat toleran seperti yang Sandhya (2009) dari 81 isolat bakteri *Pseudomonas fluoresen* yang diisolasi pada bunga matahari hanya 26 isolat bakteri yang dapat mentoleransi tingkat kekeringan maksimum pada tekanan 70,73 MPa. Rahman dan Nutiyal (2002) menggunakan PEG untuk melakukan seleksi bakteri *Rhizobium* sp. NBRI 2505 *sesbania* untuk mendapatkan bakteri yang memiliki toleransi terhadap kekeringan. Demikian juga dengan penelitian yang dilakukan Vardharajula (2011) menguji kemampuan *Bacillus* sp terhadap toleransi kekeringan. Lebih lanjut Marulanda (2009) mengatakan mikroorganismenya *B. megaterium* memiliki toleransi tinggi terhadap defisit air yang disebabkan oleh tekanan osmotik (PEG).

Beberapa isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman mangrove menunjukkan sifat yang toleran dan sangat toleran terhadap kekeringan pada tekanan osmotik maksimum (-2,00 MPa), hal ini mengindikasikan bahwa isolat bakteri endofit yang diisolasi dari tanaman mangrove dapat dipromosikan sebagai bakteri yang dapat menginduksi ketahanan tanaman di lahan kering. Hasil penelitian pengujian 16 isolat bakteri endofit yang diperoleh dari hasil seleksi menggunakan *polyethylene glycol* (PEG) pada tekanan -2,00 MPa kemudian dilakukan pengamatan dalam menghasilkan hormon tumbuh berupa IAA, sebagai pelarut fosfat, sebagai pemfiksasi nitrogen dan menghasilkan gram positif.

Kemampuan bakteri dalam mensintesis IAA tertinggi pada isolat LH2B2 sebesar 0,795 ppm diikuti oleh isolat TG3B2 sebesar 0,719 ppm dan

isolat LW3B1 sebesar 0,705 yang ditandai dengan perubahan warna kemerahan pada media, sementara yang terendah didapatkan pada bakteri dengan kode isolat LW1B3 dengan nilai 0,275 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa masing-masing isolat bakteri endofit memiliki kemampuan yang berbeda dalam mensintesis hormon IAA dari L-triptofan.

Hasil yang berbeda antara setiap konsentrasi IAA isolat bakteri dapat dipengaruhi oleh perbedaan konsentrasi L-triptofan yang ditambahkan ke media. Perbedaan ini juga diduga karena kondisi masing-masing lokasi pengambilan sampel, lama inkubasi dan kemampuannya dalam mengkonversi L-triptofan yang terkandung dalam media. Hal ini sesuai dengan pendapat Yurekli & Topcuoglu (2003) yang menyatakan bahwa, hasil produksi IAA pada medium yang mengandung prekursor L-Tryptophan dan diinkubasi dalam kondisi gelap pada suhu ruang memberi pengaruh terhadap produksi IAA dan berbanding lurus dengan kadar triptofan yang ditambahkan. Hal yang menentukan dalam produksi dari hormon IAA ini salah satunya adalah pH (derajat keasaman) yang optimal. Derajat keasaman yang optimal, kerja enzim akan optimal mengkonversi prekursor L-Tryptophan menjadi menjadi IAA. Adanya prekursor ini dapat memacu penambahan IAA pada isolat bakteri. Hal ini sesuai dengan pendapat Elsorra et al. (2007) bahwa meningkatkan produksi IAA tergantung dari banyaknya konsentrasi prekursor L-Tryptophan yang diberikan pada medium.

Pertumbuhan sel bakteri juga menjadi salah satu faktor yang berpengaruh dalam produksi IAA Isolat LH2B2 ini, mempunyai optical density sebesar 0,795 Semakin banyak sel bakteri, maka banyak juga prekursor yang

dikonversi menjadi IAA. Seiring dengan penambahan konsentrasi IAA, kerapatan atau optical density juga meningkat.

Penelitian sebelumnya melaporkan bahwa dari 9 isolat bakteri yang diisolasi hanya diperoleh 7 isolat yang mampu memproduksi hormon IAA pada medium mengandung tryptofan. Raid dan Sharma (2015) melaporkan bahwa hasil isolasi bakteri terhadap 3 isolat (P3, P9, dan P19) mampu menghasilkan hormon IAA. Isolat P19 merupakan isolat tertinggi dengan produksi IAA (50,25 mL⁻¹) sementara isolat P3 adalah penghasil IAA terendah (15,25 mL⁻¹). Istiqomah (2013) melaporkan bahwa dari 21 isolat bakteri yang diisolasi dari tanaman belimbing hanya diperoleh 2 isolat bakteri tertinggi dengan nilai absorbansi 7,333 ppm dan 7,944 ppm. Sementara isolat terendah diperoleh dengan nilai absorbansi 3,944 ppm.

Kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi nitrogen yang ditandai dengan tingkat kekeruhan pada media burk diperoleh pada 16 isolat bakteri endofit diantaranya LH2B2, LH2B3, LH3B1, LH3B3, LW1B3, LW1B4, LW2B1, LW3B1, TG1B2, TG3B2, L1B02, L1B03, LH1B3, LW2B2, LW3B2, dan LW2B3. Semakin tinggi tingkat kekeruhan pada media tersebut maka semakin tinggi kemampuan bakteri endofit dalam memfiksasi nitrogen. Hal ini sesuai dengan pendapat Purwowko (2017) bahwa tingkat kekeruhan pada media mempengaruhi dalam pengikatan nitrogen karena adanya enzim nitrogenase yang bekerja di bakteri tersebut. Penelitian Mirsha (2013) menunjukkan bahwa aktifitas maksimum enzim nitrogenase dari bakteri dengan menggunakan media burk memberikan aktifitas yang berbeda-beda sesuai dengan

jenis substratnya.

Haran dan Anshori (1992) menjelaskan bahwa perubahan warna pada media burk terjadi karena sifat indikator media yang berubah menjadi keruh, hal tersebut karena adanya aktivitas nitrogenase, didukung dengan Nurosid (2008) yang menyatakan bahwa media burk mampu menyediakan nutrisi yang dibutuhkan oleh bakteri penambat nitrogen. Perubahan warna keruh pada media burk menunjukkan bahwa terdapat aktivitas nitrogenase yang dilakukan oleh bakteri penambat nitrogen. Hal ini membuktikan bahwa dalam sampel tanaman mangrove yang diteliti, memiliki potensi sebagai mikroba pemfiksasi nitrogen yang ikut berperan dalam pertumbuhan tanaman, sehingga tanaman dapat tumbuh dengan baik.

Berdasarkan penelitian Ratna (2015) isolat bakteri dari tanaman apel didapatkan yaitu 4 isolat (TR1, TR2, TR4, dan TR5) yang dapat memfiksasi nitrogen dengan tingkat kekeruhan tertinggi. Penelitian yang dilakukan oleh Firrani (2011), didapatkan hasil bahwa kemampuan isolat bakteri tertinggi dari 5 isolat dalam menambat nitrogen N3, N6, dan N8 yaitu bakteri yang diisolasi dari tanaman kelapa sawit. Sulistiyani (2017) melaporkan bahwa dari 89 isolat bakteri endofit hanya diperoleh 16 isolat yang mampu memfiksasi nitrogen. Lebih lanjut Anugrah (2018) melaporkan dari penelitian yang dilakukan dengan menggunakan media NfB terdapat 5 isolat bakteri penambat nitrogen asal perakaran tanaman padi padi (*Oryza sativa*) dengan kode isolat K1, K4, K7, K15 dan K12.

Santoso (2019) melakukan penelitian isolasi bakteri pada sampel tanah

mangrove untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam proses penambatan nitrogen. Hasil uji bakteri didapatkan 3 isolat bakteri yang mampu memfiksasi nitrogen. Pada bakteri, fiksasi nitrogen terjadi dengan adanya oksigen dalam seluruh sel, tetapi tidak pada pemurnian penyiapan enzim, dan dalam hal ini nitrogenase dalam sel dianggap berbentuk oksigen yang dilindungi mikrolingkungan. Dalam proses kesuburan tanah tidak sedikit sumbagan yang diberikan oleh bakteri-bakteri yang mampu memfiksasi nitrogen yang diperlukan oleh tanaman. Bakteri-bakteri penambat nitrogen misalnya *Azotobacter* sp, *Rhizobium radicum*.

Kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat kategori sangat tinggi diperoleh pada isolat LH2B2 sebesar 3,75 mm yang ditandai dengan adanya zona bening disekitar media pikovskaya dan kemampuan bakteri dalam melarutkan fosfat kategori tinggi diperoleh pada isolat LW3B1 dengan nilai IKF 2,3. Hasil penelitian terhadap 12 isolat bakteri endofit menunjukan bahwa bakteri endofit memiliki kemampuan yang berbeda-beda secara genetik dalam menghasilkan jenis asam-asam organik yang berperanan dalam menentukan tinggi rendahnya dalam melarutkan fosfat hal ini sesuai dengan pendapat (Rachmiati, 1995) bahwa mikroorganisme mengekskresikan sejumlah asam organik berbobot molekul rendah seperti oksalat, suksinat, tartrat, sitrat, laktat, asetat, formiat, propionat, glikolat, glutamat, glioksilat, malat, fumarat. Meningkatnya asam-asam organik diikuti dengan penurunan pH. Perubahan pH berperanan penting dalam peningkatan kelarutan fosfat. Asam-asam organik akan bereaksi dengan bahan pengikat fosfat yaitu Ca^{2+} pada $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ yang ada di media pikovskaya,

membentuk khelat organik yang stabil sehingga mampu membebaskan ion fosfat terikat.

Beberapa bakteri seperti *Bacillus*, *Pseudomonas* mengeluarkan asam-asam organik dan menurunkan pH di sekitarnya untuk memutuskan ikatan fosfat dalam tanah (Mojn and Radhakrishna, 2012). Rodriguez dan Fraga (1999) menyatakan, beberapa strain dari genus *Pseudomonas*, *Bacillus* dan *Rhizobium* yang diisolasi dari negara tropis diketahui dapat melarutkan fosfat dengan baik. Bakteri ini memiliki kemampuan terbesar sebagai biofertilizer dengan cara melarutkan unsur fosfat yang terikat pada unsur lain (Fe, Al, Ca, dan Mg), sehingga unsur P tersebut menjadi tersedia bagi tanaman (Marista, 2013).

Kumar (2016) melaporkan bahwa hasil screening pemacu pertumbuhan tanaman secara invitro menghasilkan 8 isolat *Pseudomonas* sp, spesies PPR1 sampai dengan PPR8. Dari 8 isolat tersebut hanya terdapat satu isolat yaitu PPR8 yang mampu melarutkan fosfat dan zink pada media inorganik (tricalcium, dicalcium, dan zink fosfat) dan pada senyawa organik (*calcium phytate phosfat*). Penelitian sebelumnya, Karnwal (2017) melaporkan bahwa bakteri strain *P. aeruginosa* (AK20 and AK31), strain *P. fluorescens* (AK18 and AK45) DAN strain *B. subtilis* (AK38) menunjukkan potensi sebagai pelarut fosfat.

Karpagan dan Nagalaksmi (2014) melaporkan bahwa hasil isolasi 37 isolat bakteri dari tanah pertanian menunjukkan zona bening pada pertumbuhan mikroba menggunakan medium agar pikovskya yang dianggap sebagai pelarut fosfat. Dari 37 isolat bakteri, 8 isolat genus *Pseudomonas* sp., *Bacillus* sp., dan *Rhizobium* sp menunjukkan indeks pelarutan fosfat (IPF) tertinggi berkisar antara

1,13-3,0 diantara 8 isolat terbaik, 3 strain menunjukan IPF maksimum yang terdapat pada isolat PSM1, PSM2, dan PSM6 dengan produksi fosfat sebesar 0,37 mgL-1, 0,30 mgL-1 dan 0,28 mg-L.

Pengujian reaksi gram pada bakteri menunjukkan bahwa dari 16 isolat bakteri endofit asal tanaman mangrove menghasilkan 9 isolat bakteri gram positif, dan 7 isolat bakteri gram negatif dengan menggunakan KOH 3%. Terbentuknya lendir tersebut dikarenakan pecahnya dinding sel bakteri akibat berada dalam larutan alkali tinggi ketika diberikan KOH 3%. Hal tersebut sesuai dengan pernyataan Soekirno (2008), yang menyatakan bahwa reaksi gram dapat dikonfirmasi dengan uji kelarutan kalium hidroksida (kori). Sedangkan bakteri gram positif tidak membentuk lendir karena dinding sel bakteri gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal.

Hasil penelitian sebelumnya terdapat 2 sampel yang memiliki lendir (Negatif) dengan persentase 40% sedangkan sampel tidak memiliki lendir (Positif) dengan persentase 100% dengan penggunaan metode uji gram KOH 3%. Aninditia (2013) melaporkan bahwa dari 12 isolat bakteri mendapatkan 7 isolat gram positif dan 4 isolat gram negatif. Alam (2018) melaporkan pengujian gram yang dilakukan diperoleh hasil isolat bakteri yang mengandung gram positif sebanyak 19 isolat yang ditandai dengan tidak adanya lendir pada hasil uji, sedangkan hanya terdapat 2 isolat bakteri yang mengandung gram negatif yang ditandai dengan adanya lendir pada isolat yang diuji.

Berdasarkan hasil penelitian, bahwa bakteri endofit mempunyai

kemampuan yang berbeda-beda sebagai pemacu pertumbuhan tanaman dalam cekaman kekeringan. Nair dan Padvaty (2014) melaporkan bahwa kemampuan mikroorganisme dipengaruhi oleh karakteristik lingkungan hidup, kondisi agroklimat dan kondisi ekologisnya. Selain itu perbedaan ini juga mempengaruhi terhadap sebaran jenis bakteri yang hidup pada lingkungan tertentu (Ryan, 2008). Sehingga berdasarkan hasil penelitian diperoleh isolat bakteri endofit yang berbeda-beda karakter morfologi maupun kemampuan biokimia dan fisiologisnya.

Validasi ahli media ajar pada materi archaeobacteria dan eubacteria memperoleh penilaian dengan kategori “sangat baik”. Ada catatan yang diberikan oleh validator yaitu sudah diperbaiki sesuai saran. Validasi ahli materi memperoleh penilaian dengan kategori “baik”. Ada catatan yang diberikan oleh validator yaitu mengganti pemilihan background, menambahkan informasi pada bagian isi materi dan memperbaiki tujuan pembelajaran. Validasi media dilakukan melalui validator ahli media dan validator ahli materi, tahap untuk mendapatkan hasil terbaik terhadap media *leaflet*. Pada tahap ini memperoleh penilaian dengan kategori “baik”. Ketetapan pemilihan materi terlihat cocok dengan desain digunakan.

Media pembelajaran yang layak harus sesuai dengan materi dan tujuan pembelajaran yang akan dicapai sesuai dengan pernyataan Sumiati (2017) bahwa penggunaan media pembelajaran termasuk didalamnya sumber belajar, dan alat-alat pelajaran, disesuaikan dengan isi atau materi pembelajaran dan tujuan yang hendak dicapai, menurut (Widyoko: 2011) media pembelajaran dinyatakan layak

berdasarkan konversi data kuantitatif ke data kualitatif dengan skala likert dan pedoman hasil data kuantitatif ke data kualitatif. Kelebihan media *leaflet* sebagai media pembelajaran yaitu simpel, ringkas dan mudah dibawa. Desain yang simpel tersebut membuat peserta didik tidak membutuhkan banyak waktu dalam memahami informasi yang disajikan.

Validasi uji kelayakan *leaflet* archaeobacteria dan eubacteria yang dilakukan oleh ibu Nourma Yulita S.Pd, M.Pd menunjukkan total nilai nyata 38. Nilai ini mendekati nilai sempurna untuk nilai kelayakan menyatakan bahwa *leaflet* layak digunakan dengan revisi sesuai saran yang telah diberikan. Adapun saran yang telah diberikan oleh validator adalah memperbaiki warna desain dari halaman depan belakang serta menambahkan keterangan pada gambar. Validasi uji kelayakan *leaflet* archaeobacteria dan eubacteria yang dilakukan oleh ibu Andi Nurannisa Syam, M.Pd menunjukkan total nilainya 34. Nilai ini mendekati nilai sempurna untuk nilai kelayakan *leaflet* archaeobacteria dan eubacteria yang dikembangkan.

Penilaian dari validator menyatakan bahwa *leaflet* layak digunakan dengan revisi sesuai saran yang telah diberikan. Adapun saran yang telah diberikan oleh validator adalah mengganti warna font pada lembar ke-dua. *Leaflet* dinyatakan layak karena menarik, sederhana dan sangat murah, mudah dibawa karena bentuknya kecil dan ringan bisa disimpan lama dan digunakan berulang-ulang, bisa dipelajari dan dibaca dimana saja dan kapan saja, Informasi didalamnya dapat mudah dibaca secara sekilas oleh pembacanya. Perpaduan teks, berwarna dan gambar dalam halaman cetak yang dikemas sedemikian rupa dapat

menambah daya tarik, serta dapat memperlancar pemahaman informasi yang disajikan.

