

**PENYUSUNAN MODUL *EUBACTERIA* UNTUK BIOLOGI SMA
KELAS X MELALUI ISOLASI DAN KARAKTERISASI BAKTERI
SELULOLITIK PADA TANAH KEBUN TEH JAMUS NGAWI
JAWA TIMUR**

Endang Kartikasari¹⁾, Ani Sulistyarsi²⁾, Pujiati³⁾
^{1,2,3)}Pendidikan Biologi, FKIP, Universitas Pgrri Madiun
¹⁾endangkartika080@gmail.com, ²⁾anismasa81@yahoo.com, ³⁾pujiati@unipma.ac.id

ABSTRACT

Cellulose degrading bacteria is called cellulolytic bacteria. Cellulose is the most organic compound in nature, because the structure of the whole plant material consists mostly of cellulose. A network consisting of several layers of cellulose fibers is the main reinforcing element of plant cell walls. Fallen leaves on the ground allows that the cellulose content in the soil is high, it is likely to be able to find a cellulose degrading bacteria in the ecosystem. Bacteria in the soil will degrade cellulose to monosaccharide molecules are easily absorbed by plants which will then be used for growth. This study includes qualitative research, using qualitative descriptive approach refers to the description of the results of isolation and characterization of cellulolytic bacteria that live in soil Jamus Tea Gardens.

Soil samples were grown in media order CMC (carboxy methyl cellulose) and then in the characterization based on macroscopic and microscopic as well as measuring the potential or the activity of cellulolytic bacteria were seen from the clear zone that appears around the colony. Result of isolation and characterization of cellulolytic bacteria on tea garden soil Jamus got 8 isolates consisting of 4 genus namely Bacillus, Pseudomonas Cellulomonas and Micrococcus. The potential of cellulolytic bacteria from 8 isolates produced clear zones all of which were marked that all isolates were found capable of producing cellulase enzymes. The modified proteolytic bacteria validation results showed that the average rate of 86.25% was considered appropriate for use without revision.

Keywords: Isolation, Characterization, Cellulolytic Bacteria, Jamus Land

PENDAHULUAN

Berbagai jenis dan macam sumber bahan ajar dapat digunakan dalam pembelajaran. Salah satu bentuk sumber belajar dan bahan ajar yaitu cetakan seperti buku, modul, ensiklopedia, dan bentuk cetakan lainnya. Keberadaan modul dan penggunaannya dapat membuat peserta didik atau siswa mampu belajar sendiri. Modul merupakan salah satu bentuk inovasi bahan ajar yang dapat dipakai dalam proses belajar mengajar. Dalam konteks pembelajaran, modul dapat diartikan sebagai suatu unit lengkap yang berdiri sendiri dan terdiri dari rangkaian kegiatan belajar yang disusun untuk membantu siswa mencapai tujuan pembelajaran (Puspitaningrum, 2013).

Salah satu modul pembelajaran yang dapat diterapkan yaitu modul berbasis riset. Yahya (dalam Usmeldi 2016) menjelaskan keuntungan dari pembelajaran

berbasis riset adalah memberi kesempatan kepada peserta didik untuk berlatih melakukan pengamatan, merumuskan hipotesis, mengumpulkan dan menganalisis data, serta menyimpulkan. Modul berbasis riset memiliki manfaat lain yaitu konten modul lebih baik karena berdasarkan penelitian dan mampu menimbulkan penguatan dalam meningkatnya ruang keterlibatan peserta didik. Penyusunan modul berbasis riset dapat diaplikasikan di SMA kelas X pada materi *Eubacteria*. Dalam penyusunan modul bakteri diperlukan sumber data dari hasil penelitian sehingga dapat disusun menjadi modul berbasis penelitian.

Data hasil penelitian tentang bakteri ini dapat melalui isolasi dan karakterisasi yang dapat diambil dari sampel tanah, air, maupun udara. Tanah merupakan media tumbuh bagi tumbuhan yang ada di bumi, serta sebagai tempat hidup organisme tanah. Di dalam tanah terdapat berbagai jenis mikroorganisme yang berperan penting dalam penyediaan unsur hara bagi tanaman. Partikel organik atau daun yang jatuh di tanah menjadi tempat hidup bagi bakteri, jamur dan mikroorganisme lainnya.

Kebun Teh Jamus yang memiliki luas total 478,2 ha dan yang ditanami teh 418 ha. Tanah perkebunan teh adalah tanah yang cukup subur, memiliki kandungan bahan organik cukup, tidak bercadas. Menurut Reanida (dalam Nurrochman 2015) daun yang gugur di atas tanah memungkinkan bahwa kandungan selulosa di tanah tersebut tinggi, maka besar kemungkinan untuk dapat menemukan bakteri pendegradasi selulosa di dalam ekosistem.

Bakteri pendegradasi selulosa disebut dengan bakteri selulolitik. Selulosa merupakan senyawa organik yang paling banyak di alam, karena struktur bahan seluruh tumbuhan sebagian besar terdiri atas selulosa. Suatu jaringan yang terdiri atas beberapa lapis serat selulosa adalah unsur penguat utama dinding sel tumbuhan.

Selulosa merupakan senyawa polisakarida yang mempunyai rumus $(C_6H_{10}O_5)_n$ dimana n berkisar dari 2000 sampai 3000, selulosa terdapat dalam tanaman sebagai komponen penyusun dinding sel (Pujiati, 2014). Selulase merupakan enzim yang banyak digunakan. Beberapa Industri yang menggunakannya yaitu industri kimia, batu bara, pupuk organik, dan bahan pakan. Selain itu selulase dapat dimanfaatkan dalam proses fermentasi biomassa yang mengandung selulosa menjadi biofuel, seperti bioethanol. Enzim selulase diperoleh dari campuran enzim

endoglukanase, eksoglukanase, dan β -glukosidase. Selulase dapat diproduksi oleh jamur, bakteri, tumbuhan, dan ruminansia (Sulistiyarsi, dkk 2016).

METODE PENELITIAN

Penelitian bersifat deskriptif kualitatif yang mengacu pada pendeskripsian hasil karakterisasi bakteri selulolitik yang hidup di tanah kebun teh Jamus sebagai penyusun modul materi biologi SMA kelas X materi *Eubacteria*. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biologi, Prodi Pendidikan Biologi, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan, Universitas PGRI Madiun. Penelitian dilakukan pada bulan April-Agustus 2017. Analisis data dalam penelitian dengan cara mengkarakterisasi bakteri yang telah ditemukan. Data yang diperoleh akan dianalisa secara kualitatif serta diuraikan dalam bentuk deskriptif sehingga dapat mempermudah dalam penyusunan buku pendamping dalam bentuk buku nonteks dibandingkan secara inferensial.

Sampel tanah diambil pada 2 titik yang berbedayaitu pada daerah ketinggian 800 m dpl, dan 1100 m dpl, dan pada kedalaman 15cm dari permukaan tanah. Sampel dalam tabung reaksi pada pengenceran 10^{-8} , dan pengenceran 10^{-9} diambil sebanyak 1 ml dengan menggunakan mikropipet, kemudian diteteskan ke dalam cawan petri yang berisi medium CMC agar. Setelah membeku diinkubasi pada suhu ruang selama 48 jam, sehingga ada terlihat koloni-koloni bakteri yang tumbuh. Pengamatan makroskopis pada medium CMC Agar miring meliputi bentuk koloni, warna koloni, permukaan koloni (kasar atau licin) dan tepian koloni.

Uji morfologis secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan pengecatan Gram dengan prosedur, mengambil satu ose dari stiap koloni dari isolasi, selanjutnya difiksasi di atasnya api, ditetesi gention violet dan dibiarkan 2-3 menit, selanjutnya ditetesi larutan Iodium lugol, dicuci dengan air mengalir, kemudian ditetesi alkohol sedikit demi sedikit sampai larutan yang mengalir tidak berwarna dan dibiarkan 2-3 menit, terakhir diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 10 x 100. Sel yang telah terwarnai bersifat gram positif jika sel berwarna biru gelap atau ungu dan bersifat gram negatif bila sel berwarna merah muda (Lamid dkk, 2011).

Pengukuran potensi bakteri selulolitikdapat diukur dengan menginokulasikan bakteri pada medium yang mengandung selulosa murni, seperti *carboxy methyl*

cellulose (CMC) dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu ruang. Koloni yang tumbuh dicuci dengan larutan *Congo Red* 0,1% selama sepuluh menit dan dibilas menggunakan NaCl 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening di daerah sekitar koloni. Setelah diinkubasi 48 jam pada suhu ruang, disekitar isolat bakteri yang memiliki aktivitas selulolitik akan terlihat zona bening. Indeks selulolitik diukur dengan cara berikut:

$$IS = \frac{X_1 - X_2}{X_2}$$

Keterangan : IS = Indeks aktivitas selulolitik
 X₁ = Diameter zona bening
 X₂ = Diameter koloni

Modul disusun berdasarkan Direktorat Tenaga Kependidikan Nasional (2008) struktur penulisan suatu modul dibagi menjadi beberapa bagian yaitu : Judul, daftar isi, peta Informasi , pendahuluan/tinjauan umum materi, hubungan dengan materi atau pelajaran yang lain, uraian Materi, *glossary* atau daftar isitilah, tes Akhir. Sebagai hasil dari penelitian digunakan untuk bahan penyusunan Modul materi *Eubacteria*. Dilakukan validasi terlebih dahulu oleh dosen pendamping dan guru.

Rumus penilaian validasi :

$$\text{Prosentase nilai} = \frac{\sum \text{skor yang diperoleh}}{\sum \text{Skor maksimal}} \times 100\%$$

$$\text{Rata-rata prosentase} = \frac{\sum \text{prosentase nilai}}{\sum \text{aspek penilaian}}$$

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik morfologi isolat bakteri secara makroskopis dan mikroskopis dapat diamati sebagai berikut :

Tabel 1. Hasil Penelitian

No	Kode isolat	Bentuk	Tepi	Elevasi	Warna	Ukuran	Bentuk sel	Gram
----	-------------	--------	------	---------	-------	--------	------------	------

1.	KJA1	Circular	Filamentous	Flat	Putih kekuningan	Small	Basil	(+)
2.	KJA2	Rhizoid	Lobate	Flat	Putih pekat	moderate	Basil	(+)
3.	KJA3	Circular	Entire	Flat	Pink	moderate	Basil	(-)
4.	KJA4	Circular	Entire	Flat	Putih	moderate	Cocus	(+)
5.	KJB1	Circular	Entire	Flat	Kuning	moderate	Basil	(+)
6.	KJB2	Rhizoid	Filamentous	Flat	Putih bening	small	Basil	(+)
7.	KJB3	Circular	Entire	Flat	Putihkekuningan	Moderate	Basil	(-)
8.	KJB4	Circular	Entire	Flat	Putih pekat	Small	Cocus	(+)

Hasil karakterisasi makroskopis dan mikroskopis dari 8 isolat yang ditemukan yaitu berdasarkan bentuknya isolat berbentuk circular dan rhizoid, tepi berbentuk entire, lobate dan filamentous, elevasi berbentuk flat, warna putih kekuningan, putih pekat, pink, dan kuning, bentuk sel dominan basil. Hasil dari identifikasi 4 genus yang mendekati ciri-ciri bakteri selulolitik, yaitu genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Cellulomonas* dan *Micrococcus*. Penamaan genus tersebut berdasarkan pada *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*.

Tabel 2. Tabel Temuan Jenis Bakteri Selulolitik

Genus	800 mdpl	1100 mdpl
<i>Pseudomonas sp</i>	✓	✓
<i>Bacillus sp</i>	✓	✓
<i>Cellulomonas</i>	-	✓
<i>Micrococcus</i>	✓	✓

Genus *Bacillus* yang mempunyai ciri-ciri bentuk sel batang, gram positif, berwarna putih atau putih kekuningan, termasuk bakteri aerob, mampu menghasilkan endospora, tepi tidak teratur, berukuran antara 0,5-1,0 mm, ciri-ciri ini berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. Hasil penelitian Mukminin (2014) juga menyebutkan bentuk sel genus *Bacillus* adalah batang pendek dan lurus, berukuran antara 0,5-0,25 x 1,2-10 μm , dan golongan bakteri ini termasuk gram positif. Berdasarkan ciri-ciri diatas yang tergolong dalam genus *Bacillus* adalah isolat KJA1, KJA2 dan KJB2.

Genus *Pseudomonas* memiliki ciri-ciri bentuk circular, tepi koloni entire, permukaan koloni dilihat dari samping flat, bentuk selnya basil, gram negatif, pigmen warnanya kuning, pink, atau hijau kecoklatan, termasuk bakteri aerob, ditemukan di tanah atau air, ciri-ciri ini berdasarkan *Bergey's Manual of*

Determinative Bacteriology, Berdasarkan deskripsi tersebut maka isolat KJA3 dan KJB1 masuk dalam genus *Pseudomonas*.

Bakteri *Cellulomonas* berbentuk batang tidak beraturan dengan ukuran 0,5 0,6 x 2,0-5,0 μm . Pada kultur yang sudah tua batangnya biasanya pendek. Bakteri ini bersifat anaerob fakultatif, Gram positif dan tidak memiliki spora. Jika ditumbuhkan pada media pepton yeast agar, koloni yang terbentuk berwarna kuning. Suhu optimum untuk pertumbuhannya adalah 30°C. *Cellulomonas* termasuk kedalam bakteri selulitik, kebanyakan bakteri ini terdapat di dalam tanah. Berdasarkan ciri diatas maka isolat KJB3 termasuk genus *Cellulomonas*.

Bakteri genus *Micrococcus* dapat digambarkan sebagai Gram positif, non motif, berbentuk kokus, dengan koloni melingkar, Cairan berwarna kuning yang halus, cembung, utuh dan pucat. Organisme ini terjadi di berbagai lingkungan termasuk debu, air, susu, produk susu dan tanah. Berdasarkan ciri diatas maka isolat KJA4 dan KJB4 masuk dalam genus *Micrococcus*.

Variasi genus yang ditemukan pada sampel disebabkan perbedaan jumlah kandungan zat organik yang dapat memicu tumbuhnya bakteri, menurut waluyo (2011) senyawa zat organik tersebut merupakan akumulasi sisa-sisa tanaman yang sebagian telah diuraikan, dan bahan organik ini sebagian besar tersusun oleh mikroba atau bakteri, sehingga pengaruh mikroorganisme di sekitarnya juga berpengaruh pada pertumbuhan bakteri. Cahaya juga berpengaruh, sebagian besar bakteri adalah chemotrophe, karena itu pertumbuhannya tidak tergantung pada cahaya matahari tetapi ada beberapa spesies, cahaya matahari dapat membunuhnya karena pengaruh sinar ultraviolet, faktor kelembaban, semua bakteri tumbuh baik pada media yang basah dan udara yang lembab. Menurut Albihad (2014) semakin tinggi tempat, maka semakin lembab dan dingin suatu daerah tersebut. Penambahan ketinggian menyebabkan suhu udara semakin turun. Laju penurunan suhu umumnya sekitar 0,6°C setiap penambahan ketinggian sebesar 100m dpl Whitten *et al* (dalam Fatchurrozaq, 2013). Variasi ini tidak hanya terlihat dari keadaan alami, tetapi juga pada pewarnaan gram yang dihasilkan oleh bakteri dan bentuk sel dari masing-masing koloninya. Hasil isolasi bakteri diketahui adanya bakteri yang mampu tumbuh dengan tingkat pertumbuhan yang berbeda-beda jumlahnya. Hal ini disebabkan oleh perbedaan tingkat adaptasi isolat bakteri dengan medium

pertumbuhannya, masing-masing isolat bakteri yang tumbuh diamati karakter morfologinya. Perbedaan warna gram menunjukkan perbedaan struktur dinding sel bakteri. Umumnya bakteri gram negatif memiliki dinding sel dengan kandungan lipida yang tinggi, sehingga lipida larut oleh aseton alkohol. Bakteri gram positif memiliki struktur dinding sel berkomposisi peptidoglikan yang membentuk persenyawaan kompleks kristal violet-yodium ribonukleat dan tidak larut dalam aseton alkohol.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Potensi Atau Aktivitas Bakteri Selulolitik

Kode Isolat	DiameterZona Bening	DiameterZona Koloni	Total Indeks Selulolitik (IS)
KJAI	10 mm	3 mm	2,3 mm
KJA2	10 mm	5 mm	1 mm
KJA3	12 mm	3 mm	3 mm
KJA4	11 mm	5 mm	1,2 mm
KJB1	10 mm	4 mm	1,5 mm
KJB2	7 mm	2 mm	2,5 mm
KJB3	12 mm	4 mm	2 mm
KJB4	9 mm	4 mm	1,25 mm

Aktivitas bakteri selulolitik dalam mendegradasi selulosa yang ditumbuhkan pada media *CMC Agar* ditunjukkan dengan terlihatnya areal bening (zona halo) yang muncul di sekitar koloni yang terbentuk. Aktivitas bakteri atau zona bening yang dihasilkan bakteri dari masing-masing koloni berbeda, dari 8 isolat semuanya menghasilkan zona bening. Mikroorganisme penghasil selulase jika ditumbuhkan pada medium yang mengandung substrat selulosa yang dapat dihidrolisis akan mengeluarkan enzim tersebut disekeliling koloni. Hal ini ditandai dengan adanya perubahan disekitar koloni tersebut. Perubahan disekitar koloni tersebut dapat dilihat dengan terbentuknya daerah bening.

Daerah bening terbentuk karena ikatan β 1,4 – Glikosida yang ada pada substrat *CMC* agar diputus oleh aktivitas enzim selulase yang dihasilkan oleh bakteri tersebut. Dari hasil pengukuran diameter daerah bening terlihat bahwa Isolat KJA3 memiliki aktivitas paling besar dalam menguraikan selulosa yaitu sebesar 3 mm dibandingkan dengan Isolat KJB1 yang hanya 1,2 mm, seperti terlihat pada tabel. Berbedanya diameter daerah bening yang dihasilkan berarti aktivitas selulase bakteri untuk menguraikan selulosa yang terdapat dalam medium juga berbeda. Ini

menunjukkan bahwa bakteri yang memiliki diameter daerah bening terbesar mempunyai aktivitas selulolitik yang besar pula.

Mikroorganisme yang menghasilkan zona bening disebabkan terjadinya pemecahan enzimatik selulosa yang sempurna sedangkan yang sedikit menghasilkan zona bening disebabkan karena isolat tersebut tidak terjadi pemecahan enzimatik selulosa yang sempurna dimana salah satunya tahapan enzim-enzim selulase terputus atau tidak menghasilkan enzim β glicosidase yang berperan penting dalam pemecahan rantai sellubiose menjadi glukosa. Isolat-isolat tersebut diperkirakan memecah selulosa bahan CMC hanya sampai pada tahap menghasilkan rantai-rantai pendek celobiose saja, yang bukan gula pereduksi.

Modul ini disusun berdasarkan hasil penelitian isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik di Kebun teh Jamus. Modul *Eubacteria* dibuat sesuai dengan SK KD pada SMA Kelas X. Isi modul yaitu berupa pendahuluan, petunjuk penggunaan modul, peta konsep, pengantar materi bakteri selulolitik, diskusi kelompok, tugas mandiri, dan bio info. Modul *Eubacteria* disusun untuk memudahkan siswa dalam proses pembelajaran karena dengan adanya modul siswa dapat belajar mandiri dan berpikir logis, memiliki rasa ingin tahu. Diakhir bab terdapat soal refleksi yang nantinya untuk membangun pengetahuan siswa. Hasil validasi dari dua validator yaitu:

$$\text{Presentase nilai} = \frac{\sum \text{skor yang diperoleh}}{\sum \text{Skor maksimal}} \times 100\%$$

$$\begin{aligned} \text{Presentase nilai} &= \frac{103,5}{120} \times 100\% \\ &= 86,25\% \end{aligned}$$

Hasil validasi Modul *Eubacteria* melalui isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik pada kebun teh Jamu yang dilakukan oleh 2 validator menunjukkan hasil yang bagus. Validasi Modul *Eubacteria* oleh validator 1 mendapatkan prosentase 91,66 % layak digunakan dilapangan tanpa revisi, dan oleh validator 2 mendapatkan prosentase 80,83% yang layak digunakan di lapangan dengan revisi, sehingga apabila di rata-rata hasil validasi modul *Eubacteria* memperoleh prosentase 86,25% atau cukup valid dan layak digunakan di lapangan dengan revisi kecil pada peta konsep. Menurut Akbar (2013) hasil validasi menunjukkan bahwa modul layak digunakan tanpa revisi.

SIMPULAN

Berdasarkan paparan data dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut :

1. Hasil isolasi dan karakterisasi bakteri selulolitik pada tanah kebun teh Jamus Ngawi ditemukan 8 isolat.
2. Jenis bakteri yang ditemukan berdasarkan penamaan genus *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology* bakteri selulolitik pada tanah kebun teh Jamus mengarah pada genus *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Micrococcus*, dan *Cellulomonas*.
3. Dari hasil pengukuran diameter daerah bening terlihat bahwa Isolat KJA3 memiliki aktivitas paling besar dalam menguraikan selulosa yaitu sebesar 3 mm dibandingkan dengan Isolat KJB1 yang hanya 1,2 mm.
4. Hasil Validasi Modul *Eubacteria* memperoleh prosentase 86,25% cukup valid dan layak digunakan di lapangan.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar, Sadun. (2013). *Instrumen Perangkat Pembelajaran*. Bandung : Remaja Rosdakarya offset.
- Breed, Robert. Murray dan Smith, Nathan. (1957). *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*. USA; Williams and Wilkins Pub.
- Direktorat Tenaga Kependidikan. (2008). Penulisan Modul. Departemen Pendidikan Nasional. (<https://www.Academia.Edu> Diunduh 20 Maret 2017).
- Lamid, M., Nugroho, P. T., Chusniati, S., Rochiman, K. (2011). Eksplorasi bakteri selulolitik asal cairan rumen sapi potong sebagai bahan inokulum limbah pertanian. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Hewan*. 4(1): 37-42.
- Mukminin, A. (2014). *Isolasi Bakteri Selulolitik Termofilik Dari Sumber Air Panas Pacet Mojokerto Dan Pengujian Aktifitas Enzim Selulase*. Ulu Maliki Malang.
- Nurrochman, F. (2015). *Eksplorasi Bakteri Selulolitik Dari Tanah Hutan Mangrove Baros, Kretek, Bantul, Yogyakarta*. Skripsi tidak diterbitkan. Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Pujiati., Kiswardianta, B. R., Solikati, W. (2014). Pengaruh konsentrasi dan lama inkubasi terhadap aktivitas enzim selulase darikapang *aspergillusniger*. *Jurnal LPPM*. 2(1): 19-24
- Puspitaningrum, D.S., (2013). *Pengembangan Modul Biologi Materi Keanekaragaman Mamalia Berbasis Potensi Lokal Untuk Siswa SMA/MA Kelas X Semester Genap*. (skripsi tidak diterbitkan. Universitas Islam Negeri Sunan Kalijaga.

- Sulistiyarsi, A., Pujiati., Ardhi, W. M. (2016). Pengaruh Konsentrasi dan Lama Inkubasi terhadap Kadar ProteinCrude Enzim Selulase dari Kapang *Aspergillus niger*. *Proceeding Biology Education Conference*. 13(1): 781 - 786.
- Usmeldi. (2016). Pengembangan Modul Pembelajaran Fisika Berbasis Riset Dengan Pendekatan Scientific Untuk Meningkatkan Literasi Sains Peserta Didik. *Jurnal penelitian dan pengembangan fisika*. 2(1): 1-8.
- Waluyo, L. (2007). *Mikrobiologi Umum*. UMM: Press.