JURNAL BIOLOGI UDAYANA

P-ISSN: 1410-5292 E-ISSN: 2599-2856

Volume 29 | Nomor 2 | Desember 2025

DOI: https://doi.org/10.24843/JBIOUNUD.2025.v29.i02.p03

Eksplorasi dan karakterisasi mikroorganisme tanah andosol sebagai dasar pengembangan agen hayati tanah

Exploration and characterization of andosol soil microorganisms as a basis for the development of soil biological agents

Ayu Putri Ningsih*, Eko Prasetya, Puji Prastowo, Rini Hafzari

Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan, Medan, Indonesia, 20221
**Email: ayuputriningsih@unimed.ac.id*

Diterima
31 Oktober 2025

Disetujui
13 Januari 2026

INTISARI

Tanah Andosol yang terbentuk dari pelapukan abu vulkanik kaya mineral merupakan habitat potensial bagi mikroorganisme tanah yang memiliki peran penting dalam menjaga keseimbangan ekosistem serta berpotensi dimanfaatkan sebagai sumber agen hayati. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi dan mengkarakterisasi mikroorganisme tanah Andosol dari lahan pertanian kentang di Desa Situnggaling, Kabupaten Karo, Sumatera Utara. Isolasi dilakukan menggunakan metode pour plate dengan pengenceran bertingkat (10^{-1}–10^{-5}) pada media selektif SCA, Starch-M Protein Agar, ISP-2, dan ISP-4, yang menghasilkan 34 isolat bakteri Gram positif berdasarkan uji KOH 3% dan pewarnaan Gram. Karakterisasi morfologi koloni menunjukkan variasi bentuk, tepi, elevasi, tekstur, dan warna yang umumnya putih hingga krem dengan tekstur bertepung, sedangkan pengamatan mikroskopis memperlihatkan bentuk filamen bercabang atau batang dengan hifa tidak bersekat. Uji biokimia menunjukkan 22 isolat katalase positif, 4 positif Simmons' Citrate, 11 bersifat motil, 14 mampu memfermentasi seluruh gula yang diuji, 2 menghasilkan gas, dan 8 positif H_2S, yang mengindikasikan adanya keragaman fisiologis dan metabolik yang tinggi. Analisis molekuler berbasis gen 16S rRNA terhadap dua isolat terpilih, yaitu ISP 4 10-4 O P2 dan ISP 4 10-3 O PS, menunjukkan tingkat kemiripan masing-masing sebesar 84,81% dan 95,69% terhadap anggota genus Bacillus. Tingkat kemiripan yang berada di bawah ambang batas identifikasi spesies (>98%) menunjukkan bahwa kedua isolat tersebut hanya dapat diidentifikasi hingga tingkat genus dan berpotensi memiliki variasi genetik yang berbeda dari isolat yang telah dilaporkan sebelumnya. Hasil penelitian ini menegaskan bahwa tanah Andosol memiliki keanekaragaman mikroorganisme dan berpotensi sebagai sumber kandidat agen hayati yang dapat dikaji lebih lanjut pada penelitian lanjutan.

Kata kunci: Mikroorganisme tanah, Tanah andosol, Metabolit sekunder, Bacillus, 16S rRNA

ABSTRACT

Andosol soil, derived from the weathering of mineral-rich volcanic ash, is a potential habitat for microorganisms producing bioactive secondary metabolites that play a role in maintaining ecosystem balance, increasing nutrient availability, stimulating plant growth, and controlling pathogens. This study aims to characterize Andosol soil microorganisms from potato farmland in Situnggaling Village, Karo Regency, North Sumatra, to identify their potential in increasing nutrient levels. Isolation was carried out using the pour plate method using serial dilutions (10^{-1}–10^{-5}) on selective media SCA, Starch-M Protein Agar, ISP-2, and ISP-4, resulting in 34 Gram-positive bacterial isolates based on the 3% KOH test and Gram staining. Morphologically, the colonies showed variations in shape, edge, elevation, texture, and color, generally white to cream with a starchy texture, while microscopically they showed branched filamentous or rod-shaped forms with non-septate hyphae. Biochemical tests revealed 22 isolates were catalase-positive, 4 were Simmons' citrate-positive, 11 were motile, 14 were able to ferment all tested sugars, 2

produced gas, and 8 were H_2S-positive, indicating high physiological and metabolic diversity. Genetic analysis based on 16S rRNA markers identified two superior isolates, namely ISP 4 10-4 O P2 and ISP 4 10-3 O PS, with a similarity level of 84.81% to Bacillus firmicutes and 95.69% to Bacillus cereus. Identity values below 97% indicate the potential of both as variants or candidate new species, confirming that Andosol soil has high genetic diversity and great potential as a source of bioactive compounds, industrial enzymes, and bioremediation agents.

Keywords: Soil microorganisms, Andosol soil, Secondary metabolites, Bacillus, 16S rRNA

PENDAHULUAN

Indonesia menghadapi tantangan lingkungan yang semakin kompleks, khususnya terkait penurunan kualitas lahan akibat degradasi lahan yang merupakan perubahan sifat fisik, kimia, dan biologis tanah akibat aktivitas manusia sehingga menurunkan produktivitas serta fungsi ekologisnya dalam mendukung pertanian berkelanjutan (Wahyunto & Dariah, 2014). Degradasi lahan meliputi erosi, penurunan kandungan bahan organik, serta gangguan keseimbangan nutrien tanah yang berdampak negatif terhadap kemampuan tanah dalam mendukung pertumbuhan tanaman dan kehidupan organisme tanah. Penurunan kesuburan tanah yang disebabkan oleh alih fungsi lahan, penggunaan pupuk kimia secara intensif, dan deforestasi telah memperparah erosi serta pencemaran tanah, yang selanjutnya berdampak pada penurunan hasil pertanian, melemahnya ketahanan pangan, dan meningkatnya risiko bencana alam (Soekamto & Fahrizal, 2019; Putri, 2024; Rifandi & Putra, 2024). Secara global, diperkirakan sekitar 20-40% daratan telah mengalami degradasi dengan tingkat keparahan yang berbeda-beda, dengan kerusakan sekitar 20 juta hektar lahan subur setiap tahun dan sepertiga lahan pertanian dunia telah menjadi lahan kritis dalam empat dekade terakhir (UNCCD, 2022; AbdelRahman, 2023). Kondisi ini juga tercermin di Indonesia, di mana pada tahun 2020 luas lahan kritis telah mencapai sekitar 14 juta hektar atau sekitar 7% dari total wilayah nasional, dengan Provinsi Sumatera Utara tercatat sebagai daerah dengan luas lahan kritis terbesar, yaitu lebih dari 1 juta hektar (UNCCD, 2022; Rizqiyah, 2023).

Permasalahan terkait degradasi lahan ini mendorong perlunya upaya rehabilitasi dan peningkatan kualitas tanah yang lebih inovatif dan berkelanjutan. Salah satu pendekatan yang menjanjikan adalah pemanfaatan mikroorganisme tanah, terutama pada tanah andosol. Tanah andosol sendiri merupakan jenis tanah vulkanik yang berwarna hitam atau coklat tua, gembur, ringan, dan licin. Tanah ini kaya akan bahan organik tinggi sehingga memiliki potensi yang baik dalam bidang pertanian dan kehutanan (Agustina et al., 2024). Dalam ekosistem tanah, mikroorganisme tanah merupakan komponen penting yang terlibat dalam berbagai proses biokimia yang menentukan kesehatan dan kesuburan tanah, seperti dekomposisi bahan organik, siklus nutrien, dan pembentukan struktur tanah. Keberagaman mikroba tanah, termasuk bakteri, fungi, protozoa, dan actinobacteria, berperan dalam menyediakan nutrien yang tersedia bagi tanaman serta mendukung stabilitas ekosistem tanah (Harefa & Lase, 2024). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa komunitas bakteri tanah yang beragam memainkan peran penting dalam meningkatkan kesuburan tanah melalui berbagai mekanisme seperti pelarutan fosfat, fiksasi nitrogen, dan produksi metabolit yang merangsang pertumbuhan tanaman (*plant growth-promoting bacteria*/PGPB). Contoh genera bakteri yang berperan sebagai agen pemacu pertumbuhan tanaman termasuk *Bacillus*, *Pseudomonas*, dan Rhizobium, yang telah dikaitkan dengan peningkatan ketersediaan nutrien dan efisiensi penggunaan nutrien oleh tanaman (Basoka et al., 2025). Selain itu, kelompok *Actinomycetes* (filum *Actinobacteria*) juga merupakan bagian dari

komunitas mikroba tanah yang memiliki kapasitas menghasilkan metabolit sekunder yang penting baik untuk interaksi mikroba tanaman maupun kompetisi antar mikroorganisme. Genom *Actinomycetes* umumnya mengandung *biosynthetic gene clusters (*BGC) yang dapat mengkode enzim seperti *non-ribosomal peptide synthetase* (NRPS) dan *polyketide synthase* (PKS), yang berperan atas sintesis berbagai metabolit bioaktif termasuk antibiotik, siderofor, dan peptida. Metabolit-metabolit ini berperan dalam dinamika komunitas mikroba tanah dan dapat memodulasi fungsi ekosistem tanah melalui interaksi kompetitif, antagonistik, atau simbiotik (Schniete & Fernandez-Martinez, 2024).

Keberadaan tanah andosol di Indonesia, terutama di daerah dengan aktivitas vulkanik tinggi, menyediakan habitat ideal yang kondusif bagi komunitas mikroorganisme mikroorganisme yang kompleks dan beragam. Keberagaman ini dapat menjadi sumber agen hayati potensial yang mendukung produktivitas tanah dan pertumbuhan tanaman melalui peningkatan ketersediaan nutrien, dekomposisi bahan organik, serta produksi metabolit bioaktif. Namun, kajian mengenai keragaman mikroorganisme tanah Andosol berbasis pendekatan kultur dan identifikasi molekuler masih terbatas, khususnya pada lahan pertanian dataran tinggi vulkanik. Oleh karena itu, eksplorasi dan karakterisasi mikroorganisme tanah Andosol melalui pendekatan fenotipik dan molekuler menjadi langkah awal yang penting dalam mengidentifikasi kandidat agen hayati tanah yang berpotensi untuk dikaji lebih lanjut.

MATERI DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Penelitian ini telah dilaksanakan dari bulan Mei 2025 sampai dengan Bulan Desember 2025, di Desa Situnggaling, Kec. Merek, Kab. Karo tepatnya di kaki lereng sebelah barat Gn. Sipiso-piso Sumatera Utara untuk pengambilan sampel tanah Andosol, dan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Medan di Jalan Willem Iskandar, Pasar V Medan Estate, Percut Sei Tuan, Deli Serdang untuk melakukan isolasi, identifikasi makroskopis dan mikroskopis, isolasi dan sekuensing gen 16S rRNA dilakukan di PT Widya Life Science, Yogyakarta.

Bahan dan Alat

Adapun alat dan bahan yang digunakan, yaitu: mikropipet, tip, cawan petri, erlenmeyer, tabung reaksi, beaker glass, gelas ukur, objek dan cover glass, batang pengaduk, batang spreader, timbangan analitik, media nutrient agar, media ISP 4, media ISP 2, media SCA, media SMPA, aquadest, NaCl, agar bakteriologi, media TSIA, media SIM, media simmon-sitrat, kristal violet, iodin, alkohol 96%, safranin, alkohol 70%, dan ampisilin.

Pengambilan Sampel Tanah Andosol

Sampel tanah andosol diperoleh di kaki lereng Gunung Sipiso-piso, yang berlokasi di Desa Situnggaling, Kecamatan Merek, Kabupaten Karo, Sumatera Utara. Pengambilan sampel dilakukan di tanah pertanian tanaman kentang seluas 450 meter^2 dengan teknik *simple random sampling*. Dilakukan pengacakan dalam pengambilan sampel secara zig-zag, sehingga didapatkan 17 sampel tanah Andosol. Sampel diambil dengan variasi kedalaman 0-40 cm, 40-80 cm, dan 80-120 cm dari atas permukaan tanah menggunakan spatula steril, kemudian sampel dimasukkan ke dalam *cooling box*.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu untuk mencegah terjadinya kontaminasi oleh mikroorganisme lain selama proses kerja. Proses sterilisasi dimulai dengan mencuci peralatan hingga bersih, diikuti dengan pembersihan menggunakan alkohol 70%, lalu dikeringkan. Setelah kering, alat-alat tersebut dibungkus dengan kertas, dan dimasukkan ke dalam autoklaf. Sterilisasi dengan autoklaf dilakukan selama 15 menit pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi (Rizqiyah, 2023). Bahan seperti aquades steril dan media agar juga disterilkan menggunakan autoklaf dengan kondisi yang sama. Sementara itu, peralatan laboratorium berbahan kaca, seperti cawan petri, jarum ose, dan tabung reaksi, disterilkan menggunakan oven pada suhu 160°C selama 120 menit (Agustina et al., 2024).

***Pre-Treatment* Sampel Tanah Andosol**

Sampel tanah dikeringkan dengan udara pada suhu ruang selama tujuh hari di dalam laminar air flow untuk mengurangi kelembapan dan menekan pertumbuhan mikroorganisme lain yang tidak diinginkan. Setelah proses pengeringan, sampel dihancurkan secara manual dan diayak menggunakan saringan steril untuk menghilangkan partikel kasar. Sampel tanah dicampurkan dengan kalsium karbonat ($CaCO_3$) dalam rasio 10:1 (b/b) kemudian diinkubasi selama dua hari pada suhu 30 °C dalam cawan Petri steril tertutup untuk menstimulasi pertumbuhan mikroorganisme yang diinginkan. Selanjutnya, suspensi tanah-$CaCO_3$ (20 g) dibuat dalam 180 mL air suling steril dan diinkubasi pada *rotary shaker* dengan kecepatan 200 rpm, selama 28-30 °C, 30 menit untuk mendispersikan mikroorganisme di dalamnya secara merata sebelum dilakukan proses isolasi (Anggelina et al., 2021; Penggele, 2021). Penelitian ini menggunakan satu jenis perlakuan awal (*pre-treatment*), yaitu kombinasi pengeringan udara dan penambahan $CaCO_3$, sehingga seluruh isolat yang diperoleh berasal dari skema pre-treatment yang sama.

Isolasi dan Pemurnian Mikroorganisme

Sebanyak 1 gram sampel tanah andosol dimasukkan ke dalam 9 ml akuades steril, kemudian dihomogenkan untuk memperoleh suspensi dengan pengenceran 10^{-1}. Selanjutnya dilakukan pengenceran bertingkat hingga 10^{-4} dengan cara memindahkan 1 mL suspensi dari masing-masing pengenceran ke 9 mL akuades steril berikutnya. Suspensi dari pengenceran 10^{-2}, 10^{-3}, dan 10^{-4} kemudian ditanam menggunakan metode *pour plate* dengan meneteskan 1 mL suspensi ke dalam cawan petri steril, lalu ditambahkan 15-20 mL media selektif *Starch Casein Agar* (SCA). Media SCA dilengkapi dengan antibiotik nistatin (50 µg/mL) dan ampisilin (5 µg/mL) untuk menekan pertumbuhan jamur dan bakteri kontaminan lain (Albarano et al., 2020; Arulprakasam & Dharumadurai, 2021). Campuran suspensi dan media dihomogenkan, kemudian cawan diinkubasi pada suhu ruang selama minimal tujuh hari hingga koloni mikroorganisme muncul. Koloni yang tumbuh selanjutnya dimurnikan pada media SCA baru untuk memperoleh isolat tunggal yang siap diidentifikasi secara morfologi makroskopis dan mikroskopis (Hudoyo, 2020). Media dan perlakuan awal (*Pre-Treatment*) yang digunakan dalam penelitian ini umumnya diaplikasikan untuk memperkaya *Actinomycetes*, yang merupakan entitas paling dominan dalam tanah. Namun, metode pendekatan tersebut juga memungkinkan terisolasinya bakteri tanah lain yang memiliki ketahanan tinggi terhadap kondisi selektif.

Karakterisasi Morfologi Isolat Mikroorganisme

Karakterisasi morfologi isolat aktinomisetes dilakukan dengan 2 cara yaitu pengamatan morfologi secara makroskopis dengan memperhatikan bentuk koloni, elevasi koloni, bentuk tepi koloni, warna permukaan koloni, warna sebalik koloni, dan bentuk permukaan koloni. Setelah identifikasi makroskopis berdasarkan *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology*, selanjutnya dilakukan identifikasi secara mikroskopis untuk mengetahui bentuk sel dan tipe gram pada mikroorganisme. Kaca preparat atau objek glass dibersihkan terlebih dahulu menggunakan alkohol 95%. Isolat actinomycetes yang tumbuh pada media diambil menggunakan jarum ose, lalu dioleskan pada kaca preparat dan ditetesi dengan aquades. Preparat kemudian difiksasi di atas api bunsen. Setelah proses fiksasi, kaca preparat ditetesi larutan kristal violet hingga seluruh area isolat tertutup, didiamkan selama 1 menit, lalu dibilas hingga bersih menggunakan aquades. Selanjutnya, kaca preparat ditetesi larutan iodine, dibiarkan selama 1 menit, kemudian kembali dibilas dengan aquades. Proses berikutnya ditetesi alkohol 95%, dibiarkan selama 30 detik, dan dibilas lagi dengan aquades. Pada tahap akhir, kaca preparat ditetesi larutan safranin, dibiarkan selama 30 detik, lalu dibilas menggunakan aquades. Preparat yang telah dibersihkan dikeringkan pada suhu ruang, kemudian diamati menggunakan mikroskop (Abna et al., 2020; Huang et al., 2024).

Uji Biokimia

Uji KOH 3% digunakan untuk memastikan sifat Gram-positif isolat berdasarkan reaksi pembentukan lendir pada dinding sel (Febriana & Susilastuti, 2024). Uji katalase dilakukan dengan meneteskan larutan H_2O_2 3% pada satu ose isolat mikroorganisme yang diletakkan di atas kaca preparat, di mana munculnya gelembung menandakan hasil positif (Lanti et al., 2025). Uji *Simmons' Citrate* dilakukan dengan menusukkan isolat ke media miring *Simmons Citrate* Agar dalam tabung reaksi untuk menguji kemampuan memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon (Nazari et al., 2022). Uji motilitas dilakukan dengan menusukkan isolat ke dalam media SIM (*Sulfide Indole Motility*) untuk menilai kemampuan bergerak isolat dalam medium semi padat (Dwiyanti et al., 2025). Uji fermentasi karbohidrat, produksi H_2S, dan gas dilakukan menggunakan media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dengan mengamati perubahan warna, pembentukan gas, dan endapan hitam sebagai hasil reaksi fermentatif (Anggelina et al., 2021). Uji biokimia yang digunakan dalam penelitian ini umumnya diaplikasikan dalam karakterisasi *Actinomycetes* tanah, namun parameter yang diuji, seperti aktivitas enzimatik dan pemanfaatan substrat, bersifat umum dan relevan untuk karakterisasi bakteri tanah lain. Oleh karena itu, uji biokimia dalam penelitian ini digunakan sebagai karakterisasi fenotip awal isolat, sedangkan penentuan afiliasi taksonomi dilakukan berdasarkan analisis sekuens gen 16S rRNA.

Analisis Bioinformatika dan Filogenetik

Analisis bioinformatika dilakukan melalui tiga tahapan utama, yaitu perakitan *contig* hasil sekuensing gen 16S rRNA, analisis kesamaan sekuens, dan konstruksi pohon filogenetik. Data hasil sekuensing gen 16S rRNA dalam format *chromatogram* (.ab1) terlebih dahulu diperiksa kualitasnya menggunakan *BioEdit*, kemudian sekuens *forward* dan *reverse* digabung menjadi satu urutan konsensus (*contig*) menggunakan MEGA 12. Urutan konsensus tersebut dianalisis dengan BLASTn pada situs NCBI untuk menentukan spesies terdekat berdasarkan persentase kesamaan dan nilai *E-value*. Sekuens dengan kemiripan tertinggi beserta beberapa sekuens referensi diunduh dari GenBank, kemudian

disejajarkan menggunakan *ClustalW*. Hasil penyelarasan digunakan untuk membangun pohon filogenetik dengan metode *Neighbor-Joining* (NJ) dan pengujian *bootstrap* sebanyak 1000 kali, guna menggambarkan hubungan kekerabatan evolusioner antara isolat uji dengan spesies referensi (Chen et al., 2015; Rath et al., 2022).

Analisis data

Analisis data yang digunakan pada penelitian ini adalah analisis deskriptif kualitatif dan kuantitatif. Data kualitatif meliputi data hasil isolasi, identifikasi, karakterisasi morfologi (makroskopis dan mikroskopis), dan sekuensing genetik isolat mikroorganisme asal tanah andosol. Data kuantitatif meliputi jumlah isolat mikroorganisme tanah andosol yang berhasil diperoleh melalui isolasi dan pemurnian.

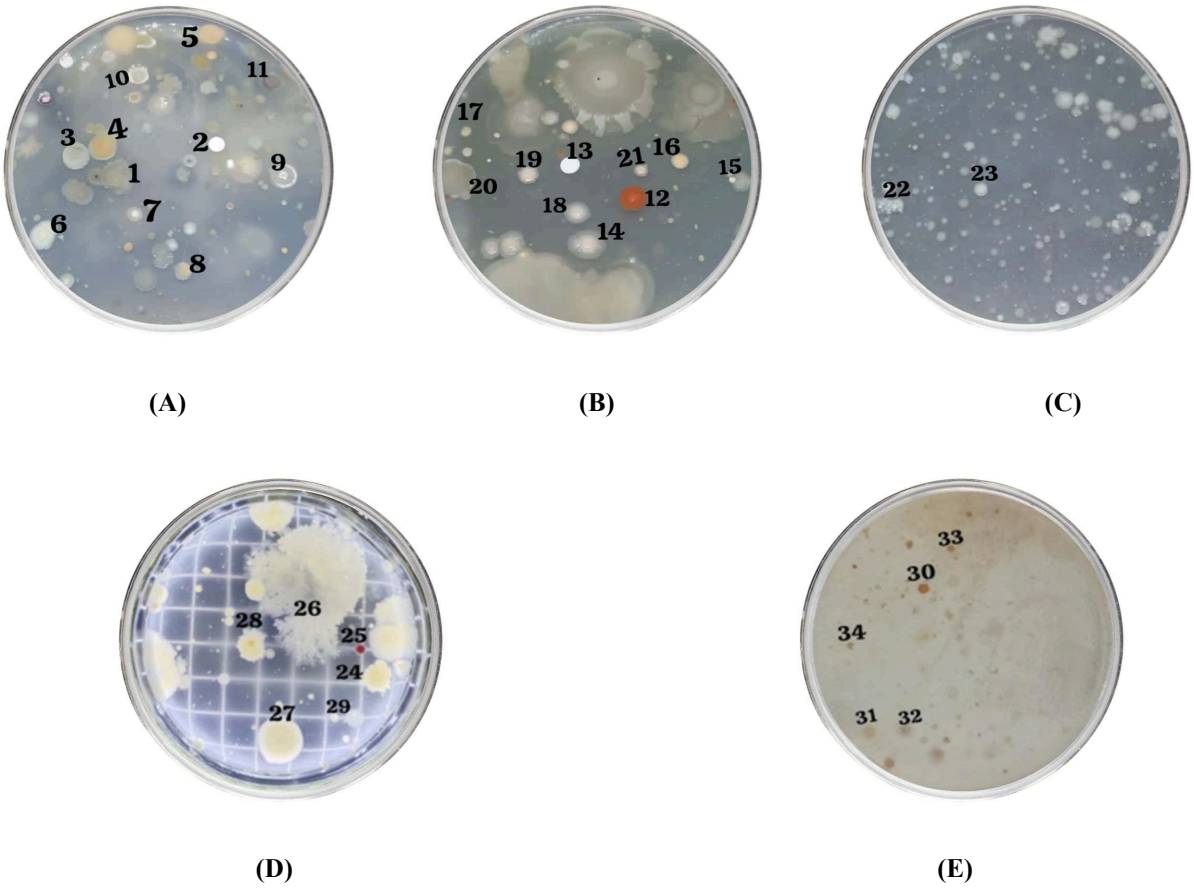
HASIL

Isolasi dan Pemurnian Mikroorganisme

Isolasi mikroorganisme berhasil dilakukan dari sampel tanah Andosol melalui satu skema pre-treatment yang meliputi pengeringan udara, penambahan $CaCO_3$, pengenceran bertingkat, dan penanaman secara pour plate pada empat media selektif, yaitu *Starch Casein Agar* (SCA), *Starch-M Protein Agar* (SMPA), ISP-2, dan ISP-4. Koloni mikroba mulai tampak setelah masa inkubasi selama 5-7 hari pada suhu 28-30 °C. Penggunaan media berbasis pati dan kasein diketahui mendukung pertumbuhan mikroorganisme tanah dengan kemampuan metabolik beragam, sehingga efektif dalam meningkatkan jumlah isolat yang diperoleh (Prudence et al., 2020; Koech et al., 2025). Melalui proses isolasi tersebut, diperoleh total 34 isolat dengan distribusi jumlah koloni yang bervariasi antar media. Media ISP-4 menghasilkan jumlah isolat tertinggi, yaitu 11 isolat, diikuti oleh media SMPA sebanyak 10 isolat, media SCA sebanyak 8 isolat, dan media ISP-2 sebanyak 5 isolat. Perbedaan jumlah isolat antar media menunjukkan adanya selektivitas media terhadap karakter fisiologis dan metabolik mikroorganisme tanah Andosol, sehingga penggunaan beberapa media selektif memungkinkan diperolehnya isolat dengan keragaman yang lebih luas.

Secara morfologis, koloni yang tumbuh menunjukkan variasi karakter, meliputi permukaan koloni kering hingga berkerut, warna pigmen putih, krem, hingga cokelat, serta pembentukan struktur menyerupai miselium bercabang (Prudence et al., 2020). Tanah Andosol yang kaya bahan organik dan fosfat terikat diketahui mendukung keberadaan mikroorganisme dengan aktivitas metabolik tinggi, termasuk mikroorganisme yang berperan dalam proses dekomposisi dan siklus hara tanah (Alfikri et al., 2019).

Proses pemurnian isolat dilakukan menggunakan teknik streak plate pada media yang sama hingga diperoleh koloni tunggal dengan morfologi homogen. Pemurnian ini bertujuan untuk memastikan bahwa isolat yang diperoleh berasal dari satu jenis mikroorganisme dan bebas dari kontaminan. Hasil pemurnian menunjukkan pertumbuhan koloni yang seragam, yang mengindikasikan keberhasilan proses isolasi. Secara keseluruhan, hasil ini menegaskan bahwa tanah Andosol merupakan habitat potensial bagi mikroorganisme tanah dengan keanekaragaman morfologi yang tinggi, hal ini sejalan dengan laporan isolasi mikroorganisme dari ekosistem vulkanik dan lahan pertanian sebelumnya (Schniete & Fernandez-Martinez, 2024).



Gambar 1. Hasil Isolasi Mikroorganisme dari Sampel Tanah Andosol (A) Isolat Mikroorganisme pada media ISP 4; (B) Isolat Mikroorganisme pada media SMPA; (C & D) Isolat Mikroorganisme pada media SCA; (E) Isolat Mikroorganisme pada media ISP 2.

Karakterisasi Makroskopis dan Mikroskopis

Berdasarkan pengamatan pada media diferensial ISP-4, ISP-2, SCA, dan SMPA, seluruh isolat menunjukkan keragaman morfologi koloni yang jelas, meliputi perbedaan bentuk, tepi, elevasi, ukuran, tekstur, dan pigmentasi. Bentuk koloni yang diamati bervariasi, dengan sebagian besar isolat memiliki bentuk *irregular* dan tepi koloni bertipe *undulate* hingga *lobate*. Elevasi koloni menunjukkan variasi antara *flat*, *raised*, dan *convex*. Koloni dengan elevasi flat tumbuh menyebar di permukaan media, sedangkan koloni *convex* tampak lebih kompak. Ukuran koloni berkisar dari *small* hingga *large*, sementara tekstur koloni menunjukkan variasi antara *dry*, *rough*, dan *smooth*. Pigmentasi koloni yang diamati meliputi warna putih, kuning muda, abu-abu, hingga krem. Variasi morfologi koloni ini menggambarkan heterogenitas karakter visual isolat yang diperoleh pada berbagai media pertumbuhan.

Tabel 1. Karakterisasi Makroskopis Koloni Isolat Mikroorganisme Tanah Andosol

Kode Isolat	Bentuk	Tepi	Elevasi	Ukuran	Tekstur	Pigmentasi
ISP 4 10-4 N	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
ISP 4 10-3 Krem 2	*Circular*	*Entire*	*Raised*	*Moderate*	*Smooth*	*Non-pigmented (cream)*
ISP 4 10-4 O K2	*Irregular*	*Undulate*	*Flat*	*Moderate*	*Rough*	*Pigmented (yellowish)*

Tabel 1 (lanj.). Karakterisasi Makroskopis Koloni Isolat Mikroorganisme Tanah Andosol

Kode Isolat	Bentuk	Tepi	Elevasi	Ukuran	Tekstur	Pigmentasi
ISP 4 10-3 O P52	*Irregular*	*Lobate*	*Flat*	*Moderate*	*Rough*	*Pigmented (light brown)*
ISP 4 10-4 O P	*Circular*	*Entire*	*Raised*	*Small*	*Smooth*	*Pigmented (light yellow)*
ISP 4 10-4 O P2	*Irregular*	*Undulate*	*Flat*	*Moderate*	*Rough*	*Non-pigmented (white)*
ISP 4 10-3 O Krem 1	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
ISP 4 10-4 O K	*Circular*	*Entire*	*Raised*	*Moderate*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
ISP 4 10-3 O Putih	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
ISP 4 10-3 O PS	*Irregular*	*Undulate*	*Flat*	*Small*	*Dry*	*Pigmented (yellowish)*
ISP 4 10-3 O KM	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
ISP 2 10-3 BIS 3	*Circular*	*Entire*	*Raised*	*Moderate*	*Smooth*	*Pigmented (orange-red)*
ISP 2 10-3 BIS 1	*Irregular*	*Lobate*	*Umbonate*	*Large*	*Rough*	*Non-pigmented (white)*
ISP 2 10-3 BIS 2	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Moderate*	*Smooth*	*Non-pigmented (cream)*
ISP 2 10-2 P15C	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
ISP 2 10-1 P15C	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SCA 10-2 P15C P3	*Irregular*	*Lobate*	*Raised*	*Large*	*Rough*	*Non-pigmented (white)*
SCA 10-2 P5P	*Circular*	*Entire*	*Raised*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (cream)*
SCA 10-1 P15C	*Irregular*	*Undulate*	*Flat*	*Moderate*	*Rough*	*Non-pigmented (white)*
SCA 10-2	*Irregular*	*Undulate*	*Flat*	*Small*	*Dry*	*Non-pigmented (white)*
SCA 10-3 P15C	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Moderate*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SCA 10-2 HI	*Circular*	*Entire*	*Flat*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SMPA 10-3 P5P 4	*Circular*	*Entire*	*Flat*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SMPA 10-3 BIS	*Circular*	*Entire*	*Raised*	*Small*	*Smooth*	*Pigmented (yellowish)*
SMPA 10-4 BIS	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Small*	*Smooth*	*Pigmented (red)*
SMPA 10-3 P15C	*Irregular*	*Lobate*	*Umbonate*	*Large*	*Rough*	*Non-pigmented (white)*
SMPA 10-2 BIS	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Moderate*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SMPA 10-1 P5P	*Circular*	*Entire*	*Raised*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SMPA 10-3 P5P 7	*Circular*	*Entire*	*Convex*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SMPA 10-3 P5P 6	*Irregular*	*Undulate*	*Flat*	*Small*	*Dry*	*Pigmented (light brown)*
SMPA 10-5 P5P 12	*Circular*	*Entire*	*Flat*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SMPA 10-3 P5P 2	*Circular*	*Entire*	*Flat*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white)*
SMPA 10-3 P5P 8	*Irregular*	*Undulate*	*Flat*	*Small*	*Rough*	*Pigmented (brownish)*
SMPA 10-3 P5P 1	*Circular*	*Entire*	*Flat*	*Small*	*Smooth*	*Non-pigmented (white*

Berdasarkan hasil karakterisasi mikrokopis menggunakan mikroskop cahaya, didapatkan bahwa semua isolat yang diamati menunjukkan morfologi sel berbentuk batang atau filamen, dengan karakter Gram positif, yang ditandai dengan warna ungu pada dinding sel setelah pewarnaan Gram. Hal tersebut mengindikasikan keberadaan lapisan peptidoglikan yang tebal, dan sesuai dengan ciri umum bakteri tanah.

Uji Biokimia

Uji KOH 3% dilakukan untuk menentukan sifat Gram dari isolat mikroorganisme berdasarkan reaksi antara larutan kalium hidroksida (KOH) dengan komponen dinding sel bakteri. Reaksi positif yang ditunjukkan oleh terbentuknya lendir atau benang yang kental ketika ose diangkat, yang mengindikasikan bahwa dinding sel bakteri bersifat tipis dan mudah terurai (Gram-negatif). Sebaliknya, tidak terbentuknya lendir menunjukkan bahwa isolat tergolong Gram-positif, karena dinding selnya memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dan tidak mudah terurai oleh KOH. Berdasarkan uji KOH 3%, didapatkan seluruh isolat tidak menghasilkan reaksi lendir setelah penambahan larutan KOH 3%. Suspensi isolat tetap homogen dan tidak menunjukkan adanya viskositas saat disentuh dengan ose. Hasil ini menunjukkan bahwa semua isolat tergolong bakteri Gram-positif (Tilahun, 2020; Swiecimska et al., 2023).

Pada uji katalase didapatkan sebanyak 22 isolat menunjukkan hasil positif, yang ditandai dengan terbentuknya gelembung oksigen segera setelah penetesan larutan H_2O_2 3% pada permukaan koloni. Reaksi positif ini menunjukkan bahwa isolat memiliki aktivitas enzim katalase yang tinggi. Sifat ini sesuai dengan karakteristik umum mikroorganisme yang bersifat aerob obligat, sehingga memerlukan enzim katalase untuk melindungi diri dari akumulasi radikal oksigen beracun selama proses respirasi (Sapkota et al., 2020; Ngamcharungchit et al., 2023).

Hasil pengamatan uji *Simmon's citrate* menunjukkan bahwa sebagian besar isolat tidak menunjukkan pertumbuhan koloni yang disertai perubahan warna medium dari hijau menjadi biru, menandakan reaksi negatif terhadap uji sitrat. Hal ini menandakan tidak adanya kemampuan memanfaatkan sitrat. Terdapat 4 isolat yang menunjukkan reaksi positif, yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru, menunjukkan bahwa isolat mampu menghasilkan enzim sitrat *permease* yang memungkinkan transport dan pemanfaatan sitrat sebagai sumber karbon (Sapkota et al., 2020).

Berdasarkan hasil pengamatan uji motilitas, terdapat 23 isolat *non-motil* menunjukkan pertumbuhan yang terpusat hanya di sepanjang garis tusukan tanpa penyebaran ke sekitar medium, menandakan hasil negatif terhadap uji motilitas. Hal ini mengindikasikan bahwa isolat bersifat non-motil. Karakter ini sesuai dengan sifat khas mikroorganisme yang tidak memiliki flagela dan pertumbuhannya bersifat filamen tetap, bukan pergerakan bebas seperti bakteri motil pada umumnya (Prudence et al., 2020).

Berdasarkan uji fermentasi karbohidrat memperlihatkan bahwa 14 isolat mampu memfermentasi seluruh jenis gula yang diuji, ditandai dengan perubahan warna medium menjadi kuning akibat penurunan pH akibat pembentukan asam. Terdapat 5 isolat yang hanya memfermentasi glukosa dan 16 isolat tidak memfermentasi sama sekali. Hal ini menandakan adanya variasi aktivitas enzim glikosidase dan kemampuan katabolisme substrat karbon (Nazari et al., 2022). Selain itu, terdapat 2 isolat yang menghasilkan gas dan 8 isolat positif pada uji H_2S. Hal ini mengindikasikan adanya aktivitas enzim desulfurase yang berpotensi berperan dalam biosintesis metabolit sekunder yang mengandung gugus sulfur (Schniete & Fernandez-Martinez, 2024). Pola hasil biokimia ini memperlihatkan bahwa isolat mikroorganisme dari tanah andosol memiliki fleksibilitas metabolik yang luas (Swiecimska et al., 2023).

Tabel 2. Karakterisasi Uji Biokimia

	Karakterisasi Uji Biokimia							
Kode Isolat	**KOH 3%**	**Pewarnaan Gram**	**Katalase**	**Simmon's Citrate**	**Motilitas**	**Fermentasi Gula**	**H_2S**	**Gas**
ISP 4 10-4 N	+	+	+	-	-	A/A	-	-
ISP 4 10-3 Krem 2	+	+	+	-	-	A/A	-	-
ISP 4 10-4 O K2	+	+	+	-	-	A/K	-	-
ISP 4 10-3 O P52	+	+	-	-	-	K/A	-	-
ISP 4 10-4 O P	+	+	-	-	-	A/A	-	-
ISP 4 10-4 O P2	+	+	+	-	-	K/A	+	-
ISP 4 10-3 O Krem 1	+	+	-	-	-	A/A	-	-
ISP 4 10-4 O K	+	+	+	-	-	A/K	-	-
ISP 4 10-3 O Putih	+	+	+	+	-	K/A	-	-
ISP 4 10-3 O PS	+	+	-	-	-	K/K	-	-
ISP 4 10-3 O KM	+	+	-	-	-	A/A	+	-
ISP 2 10-3 BIS 3	+	+	+	-	-	A/K	-	-
ISP 2 10-3 BIS 1	+	+	+	-	-	K/K	-	-
ISP 2 10-3 BIS 2	+	+	-	-	-	A/A	-	-
ISP 2 10-2 P15C	+	+	+	+	-	K/K	-	-
ISP 2 10-1 P15C	+	+	+	-	-	A/K	-	-
SCA 10-2 P15C P3	+	+	-	-	+	K/A	+	-
SCA 10-2 P5P	+	+	+	+	-	K/K	-	-
SCA 10-1 P15C	+	+	+	-	-	K/A	-	+
SCA 10-2	+	+	-	-	-	A/A	-	-
SCA 10-3 P15C	+	+	-	-	+	K/K	-	+
SCA 10-2 HI	+	+	-	-	+	K/K	-	-
SMPA 10-3 P5P 4	+	+	+	-	+	A/A	-	-
SMPA 10-3 BIS	+	+	-	-	-	K/K	+	-
SMPA 10-4 BIS	+	+	+	-	-	A/A	-	-
SMPA 10-3 P15C	+	+	+	-	+	A/A	-	-
SMPA 10-2 BIS	+	+	+	+	-	K/K	-	-
SMPA 10-1 P5P	+	+	+	-	+	K/K	+	-
SMPA 10-3 P5P 7	+	+	-	-	-	A/A	+	-
SMPA 10-3 P5P 6	+	+	+	-	+	A/A	+	-
SMPA 10-5 P5P 12	+	+	+	-	+	A/A	-	-
SMPA 10-3 P5P 2	+	+	+	-	+	A/A	+	-
SMPA 10-3 P5P 8	+	+	+	-	+	K/K	-	-
SMPA 10-3 P5P 1	+	+	+	-	+	K/K	-	-

Sekuensing Gen 16S rRNA

Sekuensing gen 16S rRNA yang dilakukan dengan primer 27F dan 1492R, selanjutnya dilakukan pemeriksaan kualitas kromatogram menggunakan BioEdit. Hasil tersebut memperlihatkan bahwa sekuens memiliki nilai kualitas

pembacaan yang baik tanpa adanya *ambiguous base* (N). Setelah dilakukan perakitan sekuens *forward* dan *reverse*, diperoleh urutan konsensus (*contig*).

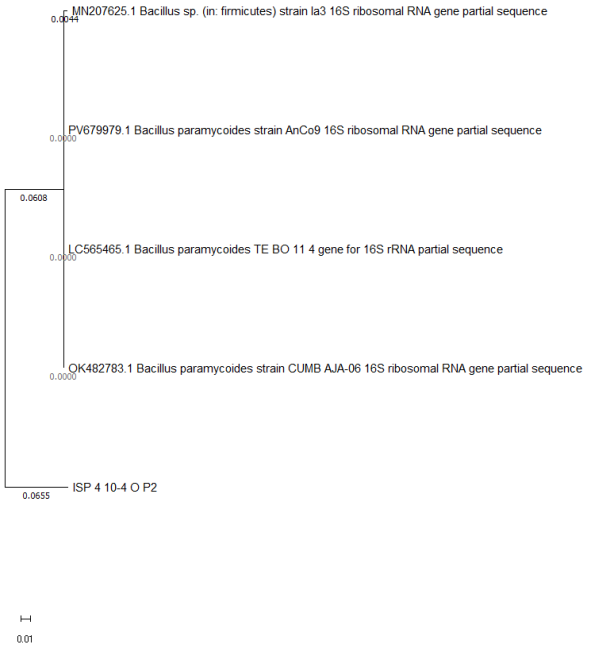
Analisis Bioinformatika dan Filogenetik

Hasil analisis sekuens 16S rRNA dari dua isolat terpilih menunjukkan tingkat kesamaan yang berbeda terhadap sekuens referensi *Bacillus* spp. Analisis BLAST di NCBI menunjukkan bahwa isolat ISP 4 10-4 O P2 memiliki identitas 84,81% terhadap *Bacillus firmicutes* (MN207625.1) dengan *E-value* 1e-158, sedangkan isolat ISP 4 10-3 O PS memiliki identitas 95,69% terhadap *Bacillus cereus* (KC136821.1) dengan *E-value* 0,0 (Tabel 3).

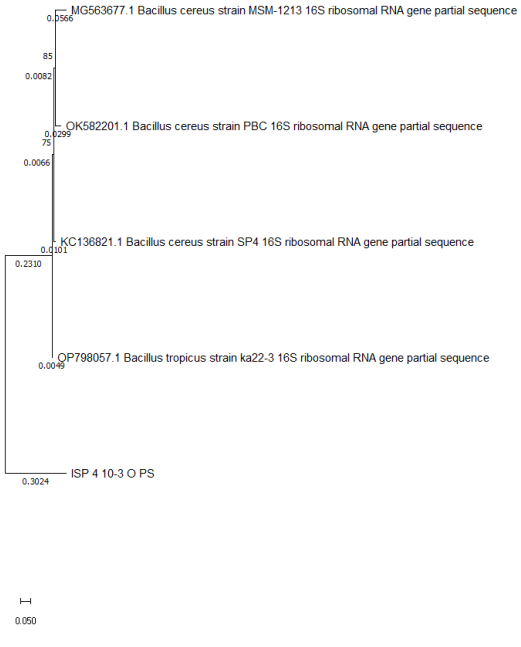
Tabel 3. Similaritas 16S rRNA

Isolat	Genus/Spesies Terdekat	Accesion No.	% Identitas	E-Value	Kelompok Filogenetik	Keterangan Filogenetik
ISP 4 10-4 O P2	*Bacillus firmicutes*	MN207625.1	84,81%	1e-158	Cluster *Bacillus paramycoides*	Panjang cabang pendek (0.000–0.06); bootstrap moderat
ISP 4 10-3 O PS	*Bacillus cereus*	KC136821.1	95,69%	0,0	Cluster *Bacillus cereus-group*	Panjang cabang relatif lebih besar (~0.30); bootstrap 75–85%

Analisis lanjutan dilakukan *Multiple Sequence Alignment* menggunakan ClustalW dan pohon filogenetik *Neighbor-Joining* (*bootstrap* 1000 kali) menunjukkan bahwa ISP 4 10-4 O P2 membentuk klaster dengan *Bacillus paramycoides*, dengan panjang cabang pendek (~0,000–0,06) dan dukungan *bootstrap* moderat (Gambar 1), sedangkan ISP 4 10-3 O PS tergabung dalam klaster *Bacillus cereus-group* dengan panjang cabang lebih besar (~0,30) dan *bootstrap* 75-85% (Gambar 2). Nilai identitas dan analisis filogenetik menunjukkan bahwa kedua isolat berafiliasi dengan genus *Bacillus*. Dikarenakan identitas sekuens 16S rRNA masing-masing di bawah 97%, kedua isolat hanya dapat ditentukan sampai tingkat genus.



Gambar 1. Pohon filogenetik *Neighbor-Joining* berdasarkan sekuens 16S rRNA isolat ISP 4 10-4 O P2 bersama sekuens referensi *Bacillus* spp. Nilai *bootstrap* (1000 *replicates*) ditampilkan di setiap *node*.



Gambar 2. Pohon filogenetik *Neighbor-Joining* berdasarkan sekuens 16S rRNA isolat ISP 4 10-3 O PS bersama sekuens referensi *Bacillus* spp. Nilai *bootstrap* (1000 *replicates*) ditampilkan di setiap *node*.

PEMBAHASAN

Isolasi dan Pemurnian Isolat Mikroorganisme

Beberapa studi menunjukkan bahwa perawatan kimiawi dengan $CaCO_3$ (*enrichment*/penambahan kapur) meningkatkan rasio isolat mikroorganisme dan mengurangi vegetatif bakteri dan jamur yang cepat tumbuh (Fang et al., 2017). Kombinasi pretreatment fisik/kimia dan media selektif (SCA/ISP/SMPA) terbukti meningkatkan jumlah dan keragaman mikroorganisme dalam studi-studi lapangan/eksperimental terbaru. Pekerjaan ringkas yang memadukan pengeringan/penambahan $CaCO_3$ dan berbagai media melaporkan hasil isolasi yang lebih kaya dibandingkan tanpa *pre-treatment* (Antido & Climacosa, 2022).

Karakterisasi Makroskopis dan Mikroskopis

Mayoritas isolat menunjukkan bentuk *circular* atau *irregular*. Tepi koloni umumnya *entire* (halus) pada isolat-isolat yang berkoloni *circular*, sedangkan isolat dengan bentuk *irregular* kebanyakan memiliki tepi *undulate* atau *lobate*. Pola ini terjadi berulang di sejumlah isolat pada media ISP-4, ISP-2, SCA, dan SMPA. Bentuk atau tepi menunjukkan perilaku pertumbuhan seperti penyebaran miselium, produksi massa aerial, sporulasi, serta pertumbuhan yang lebih terpusat. Media yang berbeda (ISP vs. SCA vs. SMPA) memengaruhi ekspresi bentuk dan tepi (Liunardo et al., 2024).

Ketinggian (Elevasi) koloni menunjukkan variasi yang beragam, seperti *flat*, *raised*, *convex*, atau memiliki tonjolan di tengah (*umbonate*). Sebagian besar sampel yang diamati memiliki koloni yang *flat* atau *raised*, sedangkan koloni yang menonjol di bagian tengah (*umbonate*) hanya ditemukan pada sejumlah kecil isolat. Ukuran koloni bervariasi dari kecil hingga besar, dan memperlihatkan tekstur kasar (*rough*) dan tepi berlekuk (*lobate*). Karakteristik elevasi dan ukuran koloni juga memiliki signifikansi biologis karena berhubungan dengan faktor-faktor seperti laju pertumbuhan mikroorganisme, produksi massa udara (aerial mass), dan efisiensi pemecahan substrat (sumber makanan) yang tersedia dalam medium pertumbuhan (Mondal & Thomas, 2022).

Tekstur koloni menunjukkan kombinasi *smooth*, *rough*, dan beberapa *dry*. Tekstur kasar atau *dry* sering diasosiasikan dengan sporulasi permukaan (*aerial hyphae*) pada mikroorganisme, sedangkan tekstur halus menunjukkan pertumbuhan yang kurang sporuler. Variasi warna yang teramati meliputi *non-pigmented* (*white* atau *cream*), *pigmented* (*yellowish*, *light brown*, *brownish*, *red*, *orange-red*). Pigmen menunjukkan metabolik seperti, produksi senyawa sekunder, pigmen *melanin-like* atau pigmen *polyketida*, dan sering digunakan sebagai kriteria awal membedakan jenis/strain. Pigmen juga memberikan gambaran bioprospeksi seperti senyawa antimikroba atau antioksidan (Naligama et al., 2022).

Karakterisasi mikroskopis melalui pewarnaan gram memberikan hasil yang mengonfirmasi identitas kelompok bakteri. Semua isolat yang menunjukkan warna ungu pada mikroskop menandakan isolat tergolong Gram positif, dengan kandungan peptidoglikan tinggi pada dinding selnya. Struktur ini membuat sel tahan terhadap pelarutan oleh alkohol selama proses pewarnaan, sehingga mempertahankan kompleks kristal violet-*iodine*. Bentuk sel *filamentous* dan bercabang menunjukkan ciri khas aktinobakteria, terutama *Streptomyces* dan kerabatnya, yang dikenal mampu menghasilkan beragam metabolit bioaktif (Naligama et al., 2022; Zakalyukina et al., 2024). Sementara itu, beberapa isolat

yang menunjukkan bentuk batang atau kokus Gram positif menunjukkan karakteristik anggota genus lain seperti *Bacillus* atau *Micrococcus*.

Uji Biokimia

Secara keseluruhan, kombinasi hasil uji KOH (+), Gram (+), katalase (+), dan motilitas (-) menunjukkan bahwa semua isolat mikroorganisme memiliki karakteristik Gram positif *non-motil*. Dinding sel yang tebal dengan peptidoglikan tinggi dan aktivitas katalase menegaskan sifat aerobik obligat dari kelompok ini (Mondal & Thomas, 2022; Naligama et al., 2022). Enzim katalase berfungsi melindungi sel dari efek toksik radikal oksigen (O_2^-, H_2O_2). Hasil positif pada sebagian besar isolat menunjukkan kemampuan adaptif terhadap kondisi oksidatif di lingkungan tanah. Aktivitas katalase juga berhubungan dengan potensi bioteknologis, misalnya dalam bioremediasi atau produksi enzim industri. Perbedaan pola fermentasi gula (A/A, K/A, K/K) menandakan bahwa isolat memiliki jalur metabolik berbeda dalam memanfaatkan karbohidrat (Khaochamnan et al., 2024). Isolat dengan hasil A/A diperkirakan memiliki aktivitas enzim glikosidase tinggi dan potensi untuk diaplikasikan dalam degradasi limbah lignoselulosa atau biokonversi senyawa organik (Zakalyukina et al., 2024).

Terdapat beberapa isolat yang dapat memanfaatkan sitrat sebagai sumber karbon. Kemampuan ini berkaitan dengan keberadaan enzim sitrat *permease* dan jalur TCA (siklus krebs) yang aktif. Isolat dengan kemampuan ini memiliki keunggulan kompetitif pada lingkungan miskin nutrien karena mampu memanfaatkan berbagai senyawa karbon kompleks. Kemampuan menghasilkan H_2S menandakan adanya aktivitas reduktase sulfur, seperti enzim tiosulfat reduktase, yang berperan dalam siklus sulfur tanah. Pola uji biokimia memberikan indikasi awal mengenai diversitas genus di antara isolat. Namun, karena uji biokimia tidak mampu membedakan spesies secara akurat, hasil ini sebaiknya dikombinasikan dengan analisis molekuler seperti sekuensing 16S rRNA untuk konfirmasi (Zakalyukina et al., 2024). Seluruh isolat mikroorganisme menunjukkan karakter biokimia khas Gram positif *non-motil*, sebagian besar katalase positif dan mampu memfermentasi gula secara parsial. Heterogenitas pada hasil fermentasi dan kemampuan memanfaatkan sitrat menunjukkan variasi metabolik yang tinggi, yang berpotensi dimanfaatkan untuk aplikasi bioteknologi seperti produksi enzim, antibiotik, dan bioremediasi.

Analisis Gen 16S rRNA

Pemilihan pasangan primer dan region hiper-variabel secara sistematis sangat mempengaruhi taksa yang terdeteksi (Nagai et al., 2024). Dalam penelitian ini, digunakan primer universal, sehingga hasil sekuensing tidak spesifik untuk filum tertentu. Kualitas sekuens yang diperoleh bersih dan bebas basa ambigu menunjukkan keberhasilan amplifikasi gen 16S rRNA. Gen 16S rRNA merupakan gen konservatif dan universal pada bakteri, yang sering digunakan sebagai marker molekuler untuk identifikasi taksonomi hingga tingkat genus, serta untuk analisis awal pada tingkat spesies. Gen ini andal untuk penempatan isolat pada tingkat genus, namun resolusinya menurun pada kelompok bakteri yang sangat berkerabat, misalnya *Bacillus cereus-group*. Studi terkini menegaskan bahwa 16S rRNA sering gagal membedakan spesies yang sangat dekat, sehingga persentase identitas BLAST dapat memberikan kesan tinggi antar-spesies yang berbeda. Oleh karena itu, kesimpulan taksonomi hingga tingkat spesies yang hanya berdasarkan 16S rRNA dianggap hipotesis

sementara dan memerlukan data genomik tambahan untuk konfirmasi (Matchado et al., 2024).

Analisis Bioinformatika dan Filogenetik

Hasil BLAST menunjukkan bahwa kedua isolat memiliki afinitas dengan genus *Bacillus*. Isolat ISP 4 10-4 O P2 memiliki identitas 84,81%, jauh di bawah ambang batas ≥97% yang umumnya digunakan untuk menetapkan satu spesies. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut kemungkinan merupakan strain baru atau takson berbeda dalam genus *Bacillus*, atau juga termasuk genus yang berkerabat dekat. Di sisi lain, isolat ISP 4 10-3 O PS memiliki identitas 95,69% dengan *Bacillus cereus*, yang menunjukkan hubungan taksonomi dekat tetapi belum mencapai ambang batas untuk dianggap identik pada tingkat spesies. Kondisi ini sejalan dengan temuan pada banyak studi, yang menyatakan bahwa sebagian besar spesies dalam *Bacillus cereus-group* memiliki kemiripan sekuens 16S rRNA tinggi (>97%) namun tetap berbeda secara genomik. Secara umum, identitas 16S ≥97–98,7% digunakan sebagai indikasi kedekatan spesies, sedangkan identitas 95-97% biasanya menunjukkan kedekatan tingkat genus atau kemungkinan spesies berbeda. Nilai <95% mengindikasikan kemungkinan genus berbeda atau divergensi yang lebih besar. Oleh karena itu, hasil identitas BLAST pada sekuens tunggal tidak dapat dianggap sebagai bukti taksonomi yang definitif. Data 16S rRNA dianggap sebagai indikator awal atau langkah skrining yang menunjukkan hubungan taksonomi, serta memandu perlunya analisis tambahan. Penentuan spesies secara definitif perlu dilakukan melalui metode yang lebih mendalam, seperti Analisis Sekuens Multilokus (MLSA) atau *Whole Genome Sequencing* (WGS) (Church et al., 2020).

SIMPULAN

Isolat mikroorganisme dari tanah Andosol menunjukkan keragaman morfologi dan fisiologi yang tinggi, termasuk variasi bentuk, tekstur, pigmentasi, dan aktivitas metabolik. Analisis gen 16S rRNA mengidentifikasi dua isolat unggul sebagai anggota genus *Bacillus*. Hal ini menunjukkan bahwa karakterisasi morfologi tidak selalu memperlihatkan afiliasi taksonomi. Hasil ini menegaskan bahwa tanah Andosol merupakan habitat potensial bagi berbagai mikroorganisme dengan keanekaragaman genetik dan fisiologis, yang selanjutnya dapat dikembangkan sebagai agen hayati tanah atau sumber senyawa bioaktif.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada Lembaga Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat (LPPM) Universitas Negeri Medan atas dukungan pendanaan melalui Hibah Penelitian Dasar Tahun 2025 dengan no 0271/UN33/KPT/2025 yang telah memungkinkan terlaksananya penelitian ini dengan baik. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada pihak laboratorium dan seluruh tim yang telah memberikan bantuan teknis serta fasilitas selama proses penelitian berlangsung.

KEPUSTAKAAN

AbdelRahman MA. 2023. An Overview of Land Degradation, Desertification and Sustainable Land Management using GIS and Remote Sensing Applications. Rendiconti Lincei. *Scienze Fisiche e Naturali* **34(3)**: 767-808.

Abna IM, Mahaysih PG, Amir M. 2020. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Tanah di Kelurahan Melayu Jakarta Timur. *Archives Pharmacia* **2(2)**: 102-111.

Agustina DT, Putri ARE, Rahmatia C, Kurniawan R. 2024. Identifikasi Jenis Tanah Di Kawasan Gunung Tujuh Resort Kerinci Utara, Taman Nasional Kerinci Seblat. *Jurnal Informatika, Sistem Informasi dan Kehutanan* **3(2)**: 86-95.

Albarano L, Esposito R, Ruocco N, Costantini M. 2020. Genome Mining as New Challenge in Natural Products Discovery. *Marine Drugs* **18(4)**: 199.

Alfikri MR, Sabrina T, Sahar A. 2019. Isolation, Purification and Potential Test of Actinomycetes in Increasing Phosphate Availability. *IC2RSE2019*, **388**.

Anggelina AC, Pringgenies D, Setyati WA. 2021. Presence of Biosynthetic Gene Clusters (NRPS/PKS) in Actinomycetes of Mangrove Sediment in Semarang and Karimunjawa, Indonesia. *Environment and Natural Resources Journal* **19(5)**: 391-401.

Arulprakasam KR, Dharumadurai D. 2021. Genome Mining of Biosynthetic Gene Clusters Intended for Secondary Metabolites Conservation in Actinobacteria. *Microbial Pathogenesis* **161**: 105252.

Antido JWA, Climacosa FMM. 2022. Enhanced isolation of Streptomyces from different soil habitats in Calamba city, Laguna, Philippines using a modified integrated approach. *International Journal of Microbiology* **2022(1)**: 2598963.

Basoka SW, Johan EA, Baihaqi B. 2025. Review Artikel: Mikroba, Tanaman dan Teknologi sebagai Integrasi Bioteknologi Mikrobial dalam Pertanian Modern. *Jurnal Minfo Polgan* **14(1)**: 1520-1526.

Chen YL, Lee CC, Lin YL, Yin KM, Ho CL, Liu T. 2015. Obtaining long 16S rDNA sequences using multiple primers and its application on dioxin-containing samples. *BMC Bioinformatics* **16(18)**: S13.

Church DL, Cerutti L, Gürtler A, Griener T, Zelazny A, Emler S. 2020. Performance and application of 16S rRNA gene cycle sequencing for routine identification of bacteria in the clinical microbiology laboratory. *Clinical microbiology reviews* **33(4)**: 10-1128.

Dwiyani A, Retnowati Y, Sidik A, Kandowangko NY, Uno WD. 2025. Isolation and Characterisation of Actinomycetes in the Rhizosfer *Pandanus ammaryllifolius* Plants in Gorontalo. *Journal of Advanced Research* **2(1)**: 19-28.

Fang BZ, Salam N, Han MX, Jiao JY, Cheng J, Wei DQ, Xiao M, Li WJ. 2017. Insights on the effects of heat pretreatment, pH, and calcium salts on isolation of rare Actinobacteria from karstic caves. *Frontiers in Microbiology* **8**: 1535.

Febriana D, Susilastuti D. 2024. Pengaruh Keragaman Jenis Organisme Terhadap Kesuburan Tanah. *Agroscience* **14(1)**: 1-11.

Harefa L, Lase NK. 2024. Kajian Peran Mikroorganisme Tanah Dalam Pertanian Berkelanjutan. *Jurnal Ilmu Pertanian dan Perikanan* **1(2)**: 150-155.

Huang Q, Yang F, Cao H, Cheng J, Jiang M, Li M, Ini H, Xie L. 2024. Comparison of microbial diversity of two typical volcanic soils in Wudalianchi, China. *Microorganisms* **12(4)**: 656.

Hudoyo A. 2020. Evaluasi Lahan Kritis dan Upaya Rehabilitasinya di Indonesia. *Jurnal Bumi Indonesia* **9(1)**: 49-57.

Khaochamnan R, Suanyuk N, Lertcanawanichakul M, Pedpradab P. 2024. Biological characteristics of marine Streptomyces SK3 and optimization of cultivation conditions for production of compounds against Vibiriosis pathogen isolated from cultured white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). *PeerJ* **12**: e18053.

Koech SC, Plechata M, Pathom-Aree W, Kamenik Z, Jaisi A. 2025. Strategies for Actinobacteria Isolation, Cultivation, and Metabolite Production that Are Biologically Important. *ACS omega* **10(16)**: 15923-15934.

Lanti S, Retnowati Y, Kandowangko NY, Hasan AM, Katili A. S. 2025. Uji Viabilitas Micromonospora Sp. dari Rhizosfer Tumbuhan di Ekosistem Karst Gorontalo pada Medium Pertumbuhan Beras. *Journal of Advanced Research* **2(1)**: 29-34.

Liunardo JJ, Messerli S, Gregotsch AK, Lang S, Schlosser K, Ruckert-Reed C, Busche T, Kalinowski J, Zischka M, Weller P, Nouioui I, Neumann-Schaal M, Risdian C, Wink J, Mack M. 2024. Isolation, characterisation and description of the roseoflavin producer *Streptomyces berlinensis* sp. nov. *Environmental Microbiology Reports* **16(2)**: e13266.

Matchado MS, Rühlemann M, Reitmeier S, Kacprowski T, Frost F, Haller D, Baumbach J, List M. 2024. On the limits of 16S rRNA gene-based metagenome prediction and functional profiling. *Microbial Genomics* **10(2)**: 001203.

Mondal H, Thomas J. 2022. Isolation and characterization of a novel Actinomycetes isolated from marine sediments and its antibacterial activity against fish pathogens. *Antibiotics* **11(11)**: 1546.

Nagai T, Shiba T, Komatsu K, Watanabe T, Nemoto T, Maekawa S, Kobayashi R, Matsumura S, Ohsugi Y, Katagiri S, Takeuchi Y, Iwata T. 2024. Optimal 16S rRNA gene amplicon

sequencing analysis for oral microbiota to avoid the potential bias introduced by trimming length, primer, and database. *Microbiology spectrum* **12(12)**: e03512-23.

Naligama KN, Weerasinghe KE, Halmillawewa AP. 2022. Characterization of bioactive actinomycetes isolated from Kadolkele mangrove sediments, Sri Lanka. *Polish Journal of Microbiology* **71(2)**: 191.

Nazari MT, Machado BS, Marchezi G, Crestani L, Ferrari V, Colla LM, Piccin JS. 2022. Use of soil actinomycetes for pharmaceutical, food, agricultural, and environmental purposes. *3 Biotech* **12(9)**: 232.

Ngamcharungchit C, Chaimusik N, Panbangred W, Euanorasetr J, Intra B. 2023. Bioactive metabolites from terrestrial and marine actinomycetes. *Molecules* **28(15)**: 5915.

Penggele JC. 2021. *Pengaruh Pemberian Biochar Tongkol Jagung dengan Mikroba Azotobacter dan Actinomycetes terhadap Pertumbuhan Generatif Tanaman Kakao*. Universitas Hasanuddin: Makassar.

Prudence SM, Addington E, Castano-Espriu L, Mark DR, Pintor-Escobar L, Russell AH, McLean TC. 2020. Advances in actinomycete research: an ActinoBase review of 2019. *Microbiology* **166(8)**: 683-694.

Putri FA. 2024. Pengaruh Degradasi Lahan Terhadap Keberlanjutan Pertanian Padi di Indonesia Hasil Survei Pertanian Terintegrasi (SITASI) 2021. *In Seminar Nasional Official Statistics* 111-116.

Rath S, Paul M, Behera HK, Thatoi H. 2022. Response surface methodology mediated optimization of Lignin peroxidase from Bacillus mycoides isolated from Simlipal Biosphere Reserve, Odisha, India. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology* **20(1)**: 2.

Rifandi RA, Putra RIS. 2024. Kesadaran Masyarakat Pesisir Terhadap Degradasi Lahan: Studi Kasus di Pesisir Kota Semarang. *Jounal of Enviromental Science Sustainable* **5(1)**: 26-33.

Rizqiyah A. 2023. *Melihat Persebaran Lahan Kritis, Akibat Proyek Food Estate?*. Diakses 05 Januari 2025, dari https://goodstats.id/article/melihat-persebaran-lahan-kritis-akibat-proyek-food-estate XC1MW.

Sapkota A, Thapa A, Budhathoki A, Sainju M, Shrestha P, Aryal S. 2020. Isolation, characterization, and screening of antimicrobial-producing Actinomycetes from soil samples. *International journal of microbiology* **2020(1)**: 2716584.

Schniete JK, Fernandez-Martinez LT. 2024. Natural product discovery in soil actinomycetes: unlocking their potential within an ecological context. *Current Opinion in Microbiology* **79**: 102487.

Soekamto MH, Fahrizal A. 2019. Upaya Peningkatan Kesuburan Tanah pada Lahan Kering di Kelurahan Aimas Distrik Aimas Kabupaten Sorong. *Abdimas: Papua Journal of Community Service* **1(2)**: 14-23.

Swiecimska M, Golinska P, Goodfellow M. 2023. Generation of a high quality library of bioactive filamentous actinomycetes from extreme biomes using a culture-based bioprospecting strategy. *Frontiers in Microbiology* **13**: 1054384.

Tilahun R. 2020. Isolation of antibiotics producing Actinobacteria from biowaste soil samples. *Int. J. Microbiol. Biotechnol*. **5(4)**: 203-206.

UNCCD. 2022. *Global Land Outlook Second Edition: Land Restoration for Recovery and Resilience (Summary for Decision Makers)*. Diakses 03 Januari 2025, dari https://www.unccd.int.

Wahyunto W, Dariah A. 2014. Degradasi lahan di Indonesia: Kondisi existing, karakteristik, dan penyeragaman definisi mendukung gerakan menuju satu peta. *Jurnal Sumberdaya Lahan* **8(2)**: 132467.

Zakalyukina YV, Alferova VA, Nikandrova AA, Kiriy AR, Chernyshova AP, Kabilov MR, Baturina OA, Biryukov MV, Sergiev PV, Lukianov DA. 2024. Genomic and phenotypic characterization of Streptomyces sirii sp. nov., amicetin-producing actinobacteria isolated from bamboo rhizospheric soil. *Microorganisms* **12(12)**: 2628.