

Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Karbonoklastik Dari Kawasan Karst Hungayono Gorontalo

Dewi Farhamni^a, Vrilianika Vrilianika^a, Fatma Novriyanti Abdul^b, Muh Ikram Nur^c, Latifa Tangkudung^d, Yuliana Retnowati^a

^aJurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Prof. Dr. Ing. B.J. Habibie, Kabupaten Bone Bolango 96119, Gorontalo, Indonesia

^bJurusan Teknik Arsitektur, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Prof. Dr. Ing. B.J. Habibie, Kabupaten Bone Bolango 96119, Gorontalo, Indonesia

^cJurusan Teknik Sipil, Fakultas Teknik, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Prof. Dr. Ing. B.J. Habibie, Kabupaten Bone Bolango 96119, Gorontalo, Indonesia

^dJurusan Ilmu dan Teknologi Kebumihan, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Gorontalo, Jl. Prof. Dr. Ing. B.J. Habibie, Kabupaten Bone Bolango 96119, Gorontalo, Indonesia

Corresponding author : yuliana.retnowati@ung.ac.id

ABSTRAK

Ekosistem karst menyediakan lingkungan unik yang mendukung keberagaman mikroba, termasuk bakteri karbonoklastik yang mampu menginduksi presipitasi kalsium karbonat. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri karbonoklastik dari kawasan Karst Hungayono, Gorontalo, serta menyeleksi isolat potensial penginduksi presipitasi kalsium karbonat berbasis aktivitas urease sebagai kandidat awal bioagen biobeton. Sampel tanah dikumpulkan dari tiga lokasi karst, kemudian dilakukan isolasi bakteri menggunakan media presipitasi kalsium karbonat (CCP). Analisis morfologi koloni, pewarnaan Gram, dan uji aktivitas urease dilakukan untuk menentukan karakteristik dan kemampuan presipitasi bakteri. Dua isolat bakteri (K1 dan K2) berhasil diperoleh, di mana isolat K2 menunjukkan aktivitas urease positif yang ditandai dengan perubahan warna media menjadi merah muda paling pekat secara kualitatif serta diduga membentuk endapan kalsium karbonat. Berdasarkan hasil pengamatan morfologi dan pewarnaan Gram, isolat K2 menunjukkan karakteristik sel Gram positif berbentuk basil, ciri yang umum dijumpai pada kelompok bakteri karbonoklastik yang berperan dalam proses presipitasi kalsit terinduksi mikroba (MICP); identifikasi molekuler lanjutan tetap diperlukan untuk memastikan genus dan spesiesnya secara pasti. Isolat K2 dari kawasan Karst Hungayono berpotensi dikembangkan sebagai kandidat bioaditif ramah lingkungan untuk material konstruksi. Studi ini menjadi data awal bagi pengembangan riset biokonstruksi berbasis bakteri lokal dari ekosistem karst.

Kata kunci: bakteri karbonoklastik; bakteri ureolitik; biomineralisasi mikroba; karst Hungayono; urease

ABSTRACT

Karst ecosystems provide unique environments that support diverse microbial communities, including carbonoclastic bacteria capable of inducing calcium carbonate precipitation. This study aimed to isolate and characterize carbonoclastic bacteria from the Hungayono Karst area, Gorontalo, and to select isolates with potential calcium carbonate-inducing, urease-based activity as an early-stage bioconcrete agent candidate. Soil samples were collected from three karst sites, followed by bacterial isolation using calcium carbonate precipitation (CCP) medium. Colony morphology, Gram staining, and urease activity tests were performed to identify the characteristics and biomineralization potential of the isolates. Two bacterial isolates (K1 and K2) were successfully obtained, both showing positive urease activity indicated by a color change to pink, with isolate K2 showing the most intense qualitative color change and a presumed calcium carbonate deposit. Based on colony morphology and Gram-staining results, isolate K2 exhibited Gram-positive, rod-shaped cells, a trait commonly found among carbonoclastic bacteria involved in microbially induced calcite precipitation (MICP); further molecular identification is still required to confirm its genus and species. Isolate K2 from the Hungayono Karst region shows promise as a candidate eco-friendly bioadditive for construction materials. This study provides preliminary data for the advancement of bioconstruction research using local karst-derived bacteria.

Keywords: carbonoclastic bacteria; Hungayono karst; microbial biomineralization; urease activity; ureolytic bacteria

Citation format:

Farhamni, et al. 2025. Isolasi dan Karakterisasi Bakteri Karbonoklastik Dari Kawasan Karst Hungayono Gorontalo. *Jambura Edu Biosfer Journal.*, vol, 7, no.2. pp 68—64, doi:<https://doi.org/10.34312/jebj.v7i2.34949>

1. Pendahuluan

Kawasan karst adalah ekosistem khas yang terbentuk melalui proses pelarutan batuan kapur (kalsium karbonat) oleh air yang mengandung karbon dioksida, menghasilkan bentang alam unik seperti gua, celah, dan sistem aliran air bawah tanah. Khotimah *et al.* (2024) menyebutkan bahwa wilayah karst dikenal sebagai kawasan yang memiliki bentangan batuan kapur yang tinggi dan luas, yang tersebar di berbagai belahan dunia. Di Indonesia, wilayah karst mencakup area sekitar 154.000 km², yang hanya menyumbang sekitar 0,08% dari total daratan negara ini (Aprilia *et al.* 2021). Matalauni, *et al.* (2025) menjelaskan bahwa wilayah karst di Provinsi Gorontalo merupakan salah satu bentang alam yang tersebar luas di wilayah selatan Gorontalo. Berdasarkan Peta Geologi Sulawesi Utara, Bolaang Mongondow, dan Gorontalo, sebaran kawasan karst di Gorontalo berada di bagian selatan Kabupaten Gorontalo, sekitar Danau Limboto dan bagian selatan Kabupaten Bone Bolango.

Puspita *et al.* (2020) menyatakan bahwa kawasan karst terbentuk dari batuan karbonat melalui proses panjang, menghasilkan lanskap dengan hidrologi dan morfologi khas. Selain sebagai kawasan geologi yang dilindungi, karst memiliki mikrohabitat ekstrem nutrisi rendah, kelembapan tinggi, dan cahaya minim yang mendukung kehidupan mikroorganisme adaptif, termasuk bakteri dengan metabolisme unik. Hal ini menjadikan karst sebagai tempat potensial untuk eksplorasi mikroba yang masih belum banyak dipelajari. Berdasarkan laporan Retnowati *et al.* (2024), kawasan karst Gorontalo menunjukkan kondisi fisikokimia tanah (pH, suhu, dan kelembapan) serta vegetasi yang beragam. Dalam laporan tersebut juga disebutkan bahwa mikroorganisme dapat tumbuh dan berasosiasi dengan tanaman di daerah karst.

Eksplorasi bakteri ureolitik dari kawasan karst penting dilakukan karena mikroba tersebut berpotensi menginduksi presipitasi kalsium karbonat terinduksi mikroba (MICP) yang dapat mendukung pengembangan material konstruksi ramah lingkungan. Penelitian mengenai isolasi bakteri ureolitik/MICP dari Karst Hungayono masih terbatas, sehingga data awal karakter morfologi, aktivitas urease, dan potensi presipitasi CaCO₃ diperlukan sebagai dasar riset biokonstruksi lokal. Bakteri karbonoklastik, yang menghasilkan kalsium karbonat (CaCO₃), ditemukan di lingkungan karst dan sedimen, dan mencakup genus seperti *Sporosarcina*, *Bacillus*, *Brevundimonas*, dan *Lysinibacillus*. Bakteri ini berpotensi memperkuat beton melalui biobeton yang mampu meningkatkan ketahanan, memperbaiki sifat beton, serta menekan biaya perawatan. Dengan membentuk kristal CaCO₃, bakteri ini juga berfungsi sebagai self-healing concrete yang dapat menutup retakan mikro secara otomatis (Jayaraman *et al.*, 2019).

2. Metode Penelitian

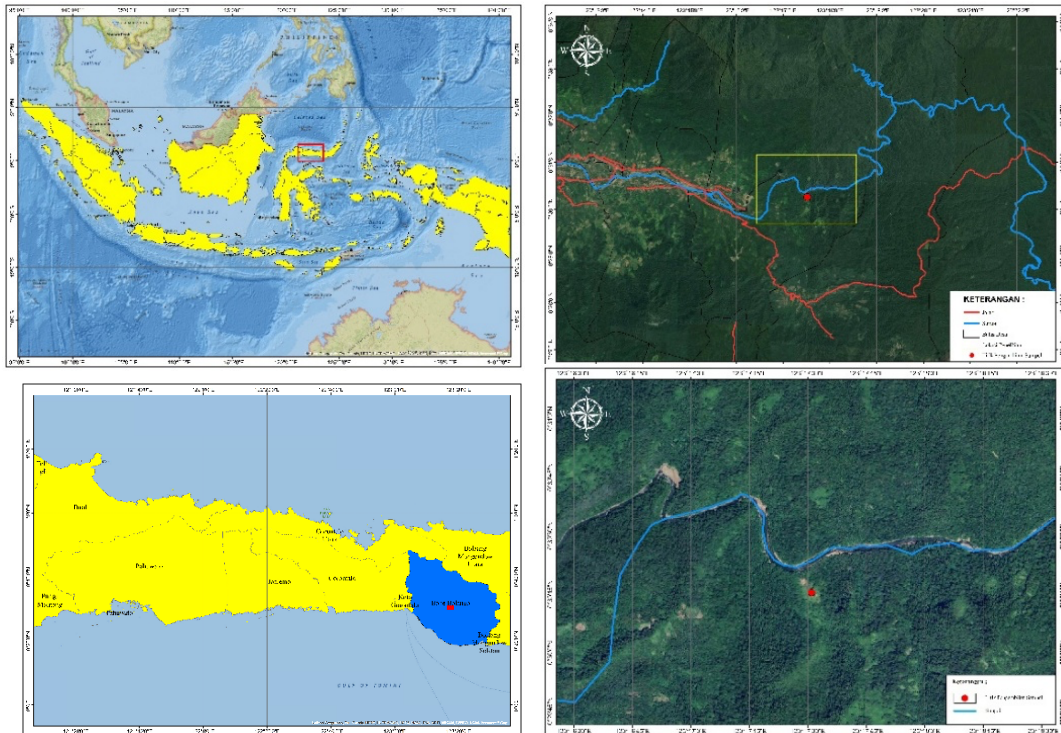
2.1 Sampling batuan kapur

Sampel batuan kapur diambil secara purposif di Kawasan Karst Hungayono, Kabupaten Bonebolango, pada 3 titik dengan kedalaman 10–15 cm menggunakan palu geologi karena sampel berupa fragmen batuan kapur. Sampel dimasukkan ke plastik steril, dilabeli sesuai Lokasi. Koordinat dicatat dengan aplikasi *GPS Maps Camera*, sedangkan pH dan kelembapan tanah diukur menggunakan *soil tester*. Sampel dari tiga titik lokasi tersebut dicatat lengkap dengan data koordinat, pH, dan kelembapan sebagai dasar karakterisasi lingkungan habitat bakteri sebelum dilakukan isolasi dan purifikasi.

2.2 Isolasi dan purifikasi bakteri karbonoklastik

Sampel batuan kapur sebanyak 10g per titik dari setiap lokasi dikumpulkan dan disimpan kedalam botol steril, kemudian dihancurkan dan dicampurkan ke dalam larutan fisiologis (NaCl 0,9%) sebanyak 9 mL untuk dibuat suspensi, yang selanjutnya diencerkan secara bertahap hingga 10⁻⁵, dan setiap tingkat pengenceran diinokulasikan kedalam medium CCP dengan dua kali ulangan (duplo). Sebanyak 100 µL suspensi ditanam pada media *selektif Calcium Carbonate Precipitation* (CCP) yang mengandung urea, NaHCO₃, NH₄Cl, *Nutrient Broth*, CaCl₂, agar, dan Nystatin sebagai agen antifungal untuk menekan kontaminasi jamur, dengan pH 6-8, yang diformulasikan secara mandiri di laboratorium sesuai komposisi tersebut, lalu diinkubasi pada suhu 30°C selama 7 hari. Koloni yang muncul kemudian dimurnikan dengan menggunakan metode goresan untuk memperoleh isolat

bakteri karbonoklastik murni, dengan pertumbuhan stabil pada media selektif sebagai indikator kemurnian isolat.



Gambar 1. Peta lokasi pengambilan sampel

2.3 Skrining bakteri karbonoklastik potensi bioaditif

Skrining bakteri karbonoklastik potensi bioaditif dilakukan melalui uji kualitatif enzim urease. Pengujian aktivitas enzim urease dilakukan dengan menggunakan media urea cair yang terdiri dari 0,9 g *Urea Base Broth* dan 5 mL larutan urea 40% per 100 mL media. Sebanyak satu ose isolat dimasukkan ke dalam 5 mL media tersebut, kemudian diinkubasi pada suhu ruang (20°C hingga 24°C) selama 24–48 jam. Aktivitas urease ditandai perubahan warna medium dari kuning/oranye menjadi merah muda akibat peningkatan pH oleh produksi amonia.

Isolat dengan aktivitas urease positif selanjutnya diamati morfologi selnya melalui pewarnaan Gram untuk menentukan jenis dinding sel (Gram positif atau Gram negatif). Preparat apusan bakteri difiksasi di atas gelas objek, kemudian diwarnai secara berurutan menggunakan kristal violet, larutan iodin, alkohol 96%, dan safranin, lalu diamati di bawah mikroskop cahaya pada perbesaran 40×.

3 Hasil dan Pembahasan

Sampel batuan kapur diperoleh dari tiga titik lokasi di Kawasan Karst Hungayono, Kabupaten Bone Bolango, pada koordinat 0,504076° N, 123,292232° E; 0,504005° N, 123,292208° E; dan 0,504101° N, 123,292020° E. Kondisi lingkungan pada lokasi pengambilan sampel menunjukkan pH tanah 6 dengan kelembaban 3%.

3.1 Deskripsi bakteri karbonoklastik di Kawasan Karst Hungayono

Isolasi bakteri karbonoklastik dilakukan untuk memperoleh isolat murni penginduksi kalsium karbonat (CaCO_3) dari sampel batuan kapur kawasan karst. Suspensi sampel ditumbuhkan pada media selektif CCP disuplementasi dengan Nystatin dan diinkubasi selama tujuh hari, kemudian koloni yang tumbuh dimurnikan hingga diperoleh isolat dengan pertumbuhan stabil. Hasil karakterisasi makroskopis menunjukkan terdapat dua isolat berbeda yang diperoleh dari tiga titik lokasi kawasan karst Hungayono yaitu isolat dengan kode K1 dan K2 berdasarkan warna, tepi, bentuk, elevasi, dan ukuran. Karakter makroskopis bakteri karbonoklastik disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Karakterisasi Makroskopis isolat bakteri dari batuan kapur

Isolat	Warna	Bentuk	Tepian	Permukaan	Ukuran
K1	Putih	Bulat (<i>Circular</i>)	Rata (<i>Entire</i>)	Datar (<i>Flat</i>)	Kecil (<i>Small</i>)
K2	Putih	Rizoid	Berserabut (<i>Filamentous</i>)	Datar (<i>Flat</i>)	Sedang (<i>Moderate</i>)

Berdasarkan hasil isolasi dan karakterisasi makroskopis pada Tabel 1, diperoleh dua isolat bakteri karbonoklastik dari berbagai tingkat pengenceran sampel kawasan karst Hungayono semua isolat menunjukkan warna koloni putih dengan elevasi (*flat*). Berdasarkan elevasi, sebagian besar isolat memiliki permukaan *flat*, menunjukkan pertumbuhan koloni yang tipis dan menyebar di media. Bentuk koloni pada isolat K1 yaitu *circular* dengan tepian *Entire* dan ukuran *small* sedangkan pada isolat K2 yaitu *rizoid* dengan tepian *Filamentous* dan ukuran *Moderat*. Karakter ini menunjukkan bahwa isolat bakteri karbonoklastik dari kawasan karst memiliki keragaman morfologi koloni yang dapat mencerminkan perbedaan adaptasi dan potensi fisiologis dalam proses biopresipitasi kalsium karbonat. Kandungan mineral kalsit pada batuan karst yang dapat mencapai 95% menyediakan substrat kaya kalsium yang mendukung pertumbuhan bakteri penginduksi presipitasi karbonat (Subah *et al.* 2023).

3.2 *Skrining bakteri karbonoklastik potensi bioaditif*

Uji Kualitatif Keberadaan Enzim Urease

Isolat terpilih bakteri karbonoklastik dari tiga titik lokasi yang menunjukkan pertumbuhan koloni stabil selanjutnya dilakukan uji enzim urease untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim yang berperan penting dalam pembentukan endapan kalsium karbonat. Uji kualitatif keberadaan enzim urease bakteri karbonoklastik disajikan Tabel 2.

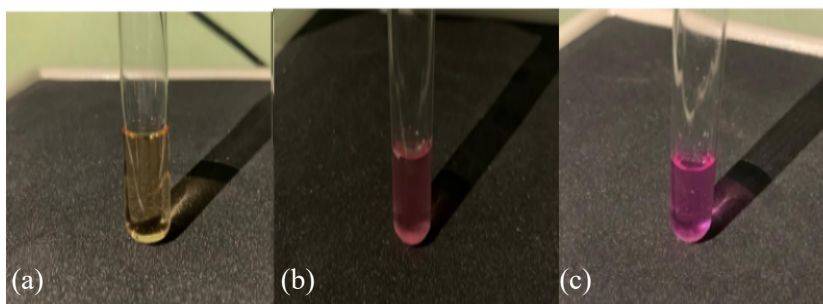
Tabel 2. Uji Kualitatif Enzim Urease

Isolat	Hasil
Kontrol	-
K1	+
K2	+

Keterangan : (+) = terdapat aktivitas enzim urease

(-) = tidak terdapat aktivitas enzim urease

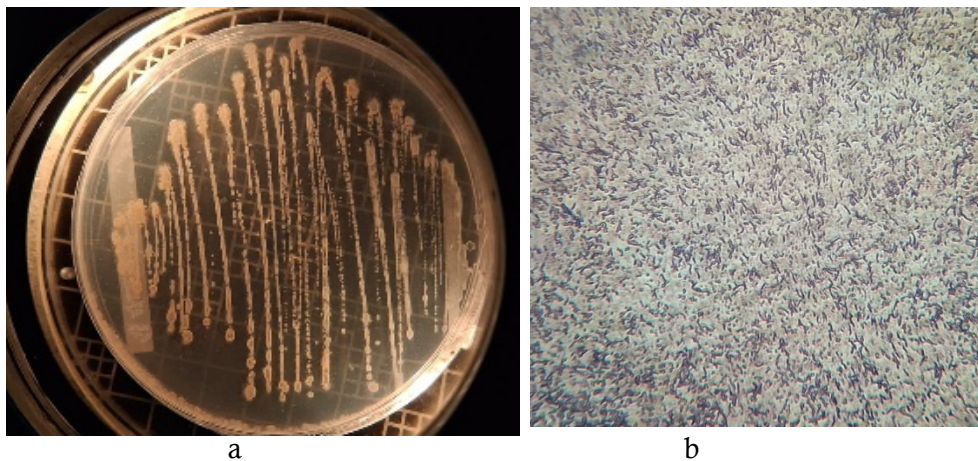
Berdasarkan hasil uji enzim urease, isolat bakteri yang menunjukkan perubahan warna medium menjadi merah muda, yaitu isolat K1 dan K2. Perubahan warna ini menandakan bahwa kedua isolat mampu menghasilkan enzim urease yang aktif. Pada uji kontrol, medium tetap berwarna kuning, menunjukkan tidak adanya aktivitas enzim. Hasil ini menunjukkan bahwa isolat K1 dan K2 memiliki kemampuan menghasilkan enzim urease, sehingga berpotensi digunakan lebih lanjut dalam proses bioaditif. Hasil uji enzim urease ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Hasil Uji Kualitatif Keberadaan Enzim Urease (a) Kontrol; (b) K1; (c) K2

Isolat dengan intensitas warna merah muda paling pekat dipilih untuk dilakukan pewarnaan Gram dan pengamatan morfologi sel lebih lanjut, karena intensitas warna yang lebih pekat secara kualitatif mengindikasikan aktivitas urease yang lebih tinggi. Menurut Ulfa *et al.* (2016), hasil positif uji urease ditandai perubahan warna media dari kuning menjadi merah muda akibat peningkatan pH oleh amoniak hasil hidrolisis urea. Berdasarkan hasil uji enzim urease tersebut, isolat K2 dipilih karena menunjukkan perubahan warna medium menjadi merah muda paling pekat secara kualitatif dibandingkan isolat K1. Setelah pemilihan, isolat K2 dilakukan proses pemurnian untuk mendapatkan kultur murni (Gambar 3a).

Hasil pengamatan mikroskopis pada perbesaran 40× menunjukkan bahwa isolat K2 merupakan bakteri Gram positif berbentuk basil (batang) dengan sel berwarna ungu (Gambar 3b), menandakan dinding sel tebal dan kaya peptidoglikan. Karakter Gram positif berbentuk basil ini umum dijumpai pada beberapa genus bakteri karbonoklastik yang dilaporkan berperan dalam presipitasi kalsium karbonat melalui aktivitas ureasenya (Devinta & Zulaika, 2021; Oktavia *et al.* 2022), sehingga identifikasi molekuler lanjutan tetap diperlukan untuk memastikan genusnya secara pasti.



Gambar 3. Morfologi koloni dan morfologi sel isolat Murni K2 yang berpotensi bioaditif. a. Morfologi koloni isolat K2; b. Morfologi sel isolat K2 yang menunjukkan Gram positif berbentuk batang (perbesaran 40x)

4 Simpulan

Penelitian ini berhasil mengisolasi dan mengkarakterisasi bakteri karbonoklastik dari kawasan Karst Hungayono, Gorontalo, serta menyeleksi isolat potensial berdasarkan aktivitas ureasenya sebagai kandidat awal bioaditif biobeton. Dua isolat (K1 dan K2) berhasil diperoleh dan keduanya menunjukkan aktivitas urease positif; isolat K2 menunjukkan perubahan warna paling pekat secara kualitatif dan berdasarkan morfologi serta pewarnaan Gram. meskipun identifikasi molekuler lanjutan tetap diperlukan untuk memastikan spesiesnya. Kapasitas ureolitik isolat K2 mengindikasikan potensi keterlibatannya dalam proses presipitasi kalsit terinduksi mikroba (*Microbially Induced Calcite Precipitation/MICP*), yang secara teoretis dapat mendukung pematangan matriks beton. Temuan ini menjadi data awal yang menunjukkan bahwa bakteri karst lokal berpotensi dikembangkan sebagai bioagen ramah lingkungan bagi material konstruksi, yang perlu diuji lebih lanjut melalui identifikasi molekuler dan uji aplikatif sebelum diterapkan dalam praktik konstruksi.

Implikasi penelitian ini terletak pada penyediaan data awal genus bakteri karbonoklastik lokal yang berpotensi dikembangkan sebagai kandidat bioaditif ramah lingkungan bagi bidang teknik sipil berkelanjutan. Keberadaan strain mikroba lokal dengan aktivitas urease positif membuka peluang integrasi bioteknologi ke dalam inovasi material konstruksi. Penelitian ini turut memperkaya data keanekaragaman mikroba di ekosistem karst Gorontalo. Sebagai tindak lanjut, disarankan dilakukan

identifikasi molekuler untuk memastikan spesies isolat K2, uji produksi kristal CaCO_3 secara kuantitatif, serta uji aplikatif pada material beton dalam skala laboratorium sebelum dipertimbangkan untuk aplikasi industri.

5 Ucapan Terima Kasih

Penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi Republik Indonesia atas dukungan pendanaan melalui hibah penelitian Program Kreativitas Mahasiswa bidang Riset Eksakta tahun 2026 yang memungkinkan terlaksananya Riset ini. Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Taman Nasional Bogani Nani Wartabone Gorontalo atas kerja sama yang terjalin dengan Fakultas Matematika dan IPA Universitas Negeri Gorontalo dan partisipasinya dalam pendanaan penelitian berbentuk inkind berupa tenaga pendamping dan logistik selama proses pengambilan sampel batuan kapur di kawasan Karst Hungayono, Kabupaten Bone Bolango. Penulis juga berterima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam pengambilan data, analisis laboratorium, serta penyusunan naskah ini, yang kontribusinya sangat berarti meskipun tidak termasuk sebagai penulis utama

6 Kontribusi Penulis

Dewi Farhamni berperan sebagai penulis utama yang melakukan pengambilan sampel di kawasan Karst Hungayono, isolasi bakteri karbonoklastik, serta penyusunan naskah utama (manuskrip). Vrihanika bertanggung jawab terhadap pengujian aktivitas enzim urease dan pengamatan morfologi koloni bakteri. Fatma Novriyanti Abdul berkontribusi dalam pembuatan media kultur, pemurnian isolat, serta pendokumentasian data hasil laboratorium. Muh Ikram Nur melaksanakan pengolahan data hasil uji aktivitas bakteri dan visualisasi hasil penelitian. Latifa Tangkudung membantu dalam analisis karakteristik lingkungan lokasi sampling serta pengumpulan data pendukung geologi kawasan karst. Yuliana Retnowati selaku dosen pembimbing berperan dalam perancangan desain penelitian, memberikan arahan ilmiah dan supervisi metodologis, validasi hasil, serta penyempurnaan naskah akhir penelitian

7 Daftar Pustaka

- Aprilia, D., Arifiani, K.N., Sani, M.F., Jumari, J., Wijayanti, F., & Setyawan, A.D. (2021). A descriptive study of karst conditions and problems in Indonesia and the role of karst for flora, fauna, and humans. *International Journal of Tropical Drylands*, 5(2).
- Devinta, N., & Zulaika, A. (2021). Potensi bakteri karbonatogenik dari tanah kapur sebagai agen biobeton. *Jurnal Bioteknologi Terapan*, 5(2), 77–84.
- Jayaraman, S., Baskar, R., & Suryan, R. (2019). Role of urease producing bacteria in self-healing concrete – A review. *Journal of Cleaner Production*, 220, 476–493.
- Khastini, R.O., Zahranie, L.R., Rozma, R.A. dan Saputri, Y.A. 2022. Review: Peranan Bakteri Pendegradasi Senyawa Pencemar Lingkungan Melalui Proses Bioremediasi. *Bioscientist: Jurnal Ilmiah Biologi*. Vol. 10, No. 1, June 2022; Page, 345-360 <https://ejournal.undikma.ac.id/index.php/bioscientist>
- Khotimah, R., Nurhidayah, S., & Hidayat, T. (2024). Karakteristik ekosistem karst dan perannya dalam keberlanjutan lingkungan. *Jurnal Lingkungan Tropis*, 14(1), 34–42.
- Matalauni, Y., Abdullah, S., & Wantu, M. (2025). Distribusi kawasan karst di Provinsi Gorontalo berdasarkan peta geologi. *Jurnal Geosains Gorontalo*, 3(1), 15–26.
- Oktavia, R., Nurcahyani, E., Wahyuningsih, S. dan Sumardi. (2022). Kemampuan *Bacillus* sp. Sebagai Bioremediasi Bahan Pencemar. *Jurnal Bioterdidik: Wahana Ekspresi Ilmiah*. <http://dx.doi.org/10.23960/jbt.v10i2.23919>.
- Puspita, R., Wulandari, D., & Maulidah, A. (2020). Keanekaragaman mikroorganisme pada lingkungan ekstrem karst di Indonesia. *Jurnal Biologi dan Sains Lingkungan*, 6(1), 45–52.
- Retnowati, Y., Kandowanko, N. Y., Katili, A. S., & Pembengo, W. (2024). Diversity of actinomycetes on plant rhizosphere of karst ecosystem of Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 25(3).

- Subah, A.M., Rahmawati, S., & Yulianingsih, R. (2023). Analisis mineralogi batu kapur dari berbagai lokasi di Indonesia. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 9(3), 210–219.
- Ulfa, A., Suarsini, E., & Al Muhdhar, M.H.I. (2016). Isolasi dan uji sensitivitas merkuri pada bakteri dari limbah penambangan emas di Sekotong Barat Kabupaten Lombok Barat: Penelitian pendahuluan. *Proceeding Biology Education Conference: Biology, Science, Environmental, and Learning*, 13(1), 793–799.