

EKSPLORASI, ISOLASI, DAN MORFOLOGI MIKROBA DARI GUA LEUNTIE, LHOONG, SERTA UJI PRELIMINARY POTENSIAL MICP (*MICROBIALLY INDUCED CALCIUM CARBONATE PRECIPITATION*)

Rahmad Rizki Fazli^{1,2*}, Luthfi Chaliqi Taufiq³, Mimi Zahra¹, Nova Elsa Jwita¹, Erlidawati¹, Mardiana Saaid⁴

¹Divisi Biokimia, Departemen Pendidikan Kimia, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

²Divisi Biologi, Kimia dan Farmasi, Ikatan Ilmuwan Indonesia Internasional, I4Indonesia, Jakarta Selatan, Indonesia

³Departemen Teknik Sipil, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh, Indonesia

⁴School of Chemical Sciences, Universiti Sains Malaysia, Pulau Pinang, Gelugor, Malaysia

*Email: rahmadr.fazli@usk.ac.id

Article History:

Received: April 30, 2026

Revised: June 21, 2026

Accepted: June 24, 2026

Published: June 30, 2026

DOI: <https://doi.org/10.22373/lj.v14.i1.34801>

ABSTRACT

Aceh province has interesting natural landscapes. Forests, seas, mountains and caves are very complete in decorating the natural landscape of Aceh. One of the famous caves is Leuntie Cave which is located in Lhoong, Aceh Besar. The structure of Leuntie Cave is very unique because it consists of cave walls made of rock and the floor layered with sea sand. The mouth of Leuntie Cave is located not far from the sea, only about 200 m from the shoreline which affects the humidity of the cave. High humidity level allows Leuntie Cave to be a potential and unique microbial habitat for isolation. This study used an experimental research method with the initial stage of exploration of Leuntie Cave for sampling of soil and cave wall rocks, followed by isolation and screening of bacterial growth and obtained five bacterial isolates with codes BGL-1 to BGL-5. Microbial morphological identification was carried out by observing bacterial colonies and gram staining tests. Preliminary urea agar base test to see the potential in precipitating calcium carbonate (CaCO_3) by producing the urease enzyme. The results of this study obtained two Leuntie Cave bacterial isolates BGL-1 and BGL-3 which were positive for producing the urease enzyme and could be selected as MICP bio-agent candidates.

Keywords: MICP, urease enzyme, bio-agent, calcium carbonate, Leuntie cave

PENDAHULUAN

MICP merupakan suatu proses mekanisme dari biomineralisasi yang mengendapkan mineral Ca^{2+} dan CO_3^{2-} membentuk CaCO_3 . Proses biomineralisasi secara alami ini terjadi tidak lepas dari peran mikroorganisme seperti bakteri (Mujah dkk., 2019). Fenomena ini terjadi ketika bakteri tertentu, seperti bakteri ureolitik *Sporosarcina pasteurii*, menguraikan urea,

melepaskan amonia, dan ion karbonat. Keberadaan ion-ion ini memicu pembentukan kalsium karbonat, yang akhirnya mengeras menjadi material yang mirip semen (Tang dkk., 2020).

Proses ini banyak mencuri perhatian berbagai bidang industri, salah satunya industri konstruksi yang melakukan inovasi pada semen konvensional dengan mencampurkan MICP. Para peneliti sedang mengeksplorasi cara terbaru untuk memproduksi bio-semen melalui proses MICP (Dhami dkk., 2020). Dengan mengintegrasikan proses MICP dalam produksi beton, para peneliti dan insinyur sedang mengeksplorasi cara untuk mengurangi ketergantungan pada bahan-bahan konvensional seperti semen Portland yang memiliki jejak karbon tinggi (Sharma dkk., 2021). Penerapan MICP untuk menutup rekahan dan retakan mikro pada beton menawarkan solusi inovatif dalam memperbaiki ketahanan beton terhadap kelembaban, korosi, dan deformasi (Ruan dkk., 2019). Proses MICP memungkinkan pembentukan kalsium karbonat di dalam rekahan mikro beton, mengisi ruang kosong dan memberikan stabilitas tambahan pada struktur beton (Patel & Patel, 2021). Dengan demikian, aplikasi MICP tidak hanya mengurangi risiko penetrasi air dan zat kimia yang merusak ke dalam beton, tetapi juga membantu mencegah kerusakan yang disebabkan oleh ekspansi dan kontraksi yang terjadi akibat perubahan suhu dan kelembaban (Gengengi dkk., 2024).

Keunggulan utama dari menggunakan MICP untuk menutup rekahan beton adalah kemampuannya untuk menyediakan perbaikan yang sangat halus dan seragam secara mikroskopis (Dhami dkk., 2019). Dibandingkan dengan metode pengisi tradisional yang mungkin tidak mampu menjangkau rekahan yang sangat kecil, MICP dapat secara efektif mengisi bahkan rekahan mikroskopis di dalam struktur beton (Zang dkk., 2021). Hal ini membantu meningkatkan kekuatan dan ketahanan beton secara keseluruhan (Shiri dkk., 2023), dan menjadikannya pilihan yang menarik untuk aplikasi di berbagai lingkungan konstruksi dan infrastruktur (Zada dkk., 2025).

Beberapa syarat mikroba yang dapat digunakan sebagai bio-agen MICP yaitu mikroba mampu bertahan atau toleran terhadap lingkungan beton yang bersifat alkalis dengan rentang pH antara 9 hingga 13 (Gowthaman dkk., 2023), mikroba tersebut mampu membentuk spora, yaitu bentuk tidur atau bentuk istirahat mikroba yang tahan terhadap kondisi lingkungan ekstrim (Haroon dkk., 2021) dan mikroba tersebut mampu mengendapkan atau menumbuhkan kristal CaCO_3 dalam lingkungan semen atau beton (Tian dkk., 2022). CaCO_3 yang terbentuk merupakan hasil biomineralisasi yang dilakukan oleh mikroba tersebut dalam siklus metabolismenya (Omoregie dkk., 2025).

Gua *Leuntie* merupakan salah satu objek wisata yang terkenal di Provinsi Aceh. Dinding gua ini memiliki karakteristik yang lembab dan basah serta menghasilkan air yang menetes dari langit-langit gua. Mulut Gua *Leuntie* terletak tidak jauh dari laut hanya berjarak sekitar 200 m dari bibir pantai yang mempengaruhi kelembaban gua. Tingkat kelembaban yang tinggi memungkinkan Gua *Leuntie* menjadi habitat mikroba yang potensial dan unik untuk diisolasi menjadi bio-agen dalam aplikasinya sebagai bahan campuran biocement (Sharma dkk., 2021). Terdapat stalagmitmit dan stalagmitmit yang tumbuh di gua terbentuk dari pengendapan mineral-mineral alami bumi salah satunya adalah CaCO_3 (Zheng dkk., 2025). CaCO_3 yang terbentuk boleh jadi merupakan bentuk biomineralisasi bantuan mikroba yang terdapat dalam air dari langit-langit gua tersebut (Zhu dkk., 2025). Oleh sebab itu, penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi, mengisolasi, dan mengidentifikasi morfologi bakteri dari Gua *Leuntie* serta uji preliminary bakteri yang berpotensi untuk mengendapkan CaCO_3 . Hingga saat ini belum ada laporan ilmiah tentang koloni bakteri lokal dari dinding Gua *Leuntie*, Lhoong, Aceh yang mempunyai potensi dalam proses biomineralisasi sehingga memungkinkan untuk diaplikasikan dalam bidang teknik sipil sebagai bio-agen MICP.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini merupakan penelitian riset eksperimental dimana data-data penelitian diperoleh dari percobaan dalam laboratorium. Penelitian ini diawali dengan preparasi alat untuk eksplorasi gua. Beberapa alat yang dibawa adalah cangkul kecil, senter, penjepit, sarung tangan, plastik zip lock untuk memasukkan sampel, box es untuk menyimpan sampel dan botol alkohol 70 % untuk sterilisasi. Setelah semua persiapan selesai, maka dilanjutkan dengan kunjungan ke Gua *Leuntie* Lhoong, Aceh Besar, untuk melakukan eksplorasi.

Tempat Penelitian

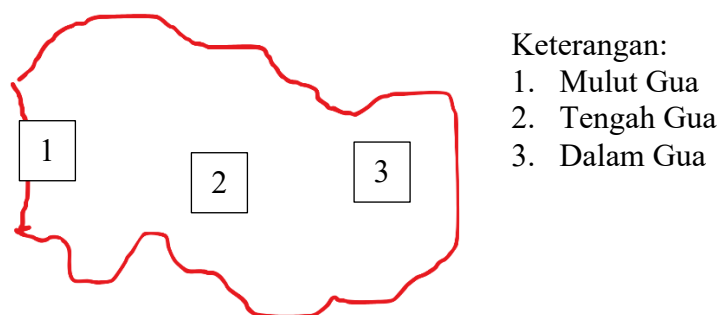
Penelitian ini dilakukan di Kabupaten Aceh Besar dan Kota Banda Aceh. Eksplorasi dan pengambilan sampel batuan dan tanah dilakukan di Gua *Leuntie* Lhoong, Aceh Besar. Preparasi sampel dilakukan di Laboratorium Biokimia FKIP Universitas Syiah Kuala. Isolasi dan identifikasi mikroba dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi FKH Universitas Syiah Kuala dan pengujian pewarnaan bakteri dilakukan di Laboratorium Biologi FKIP Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas yang umumnya digunakan untuk bekerja dengan mikroba dan tersedia di setiap laboratorium di Universitas Syiah Kuala. Instrumen yang digunakan dalam penelitian ini meliputi autoklaf, inkubator, shaker inkubator, oven, pipet mikro, sentrifuga, spektrofotometer, dan mikroskop cahaya. Bahan-bahan yang digunakan diperoleh dari HiMedia yaitu yeast extract, pepton, media *nutrient broth* (NB), media luria bertani (LB), agar, NaCl, KH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, NaHCO_3 , NH_4Cl , urea dan phenol red, microtube, tip biru, tip kuning, dan tip putih diperoleh dari OneMed.

Eksplorasi Gua *Leuntie* Lhoong, Aceh Besar

Perizinan untuk eksplorasi gua telah diperoleh dari ketua adat dan masyarakat sekitar yang tinggal disekitar Gua *Leuntie* Lhoong, setelah berdiskusi dan menyampaikan maksud dan tujuan penelitian ini. Selama melakukan eksplorasi dan pengambilan sampel dari gua, tidak terjadi pengrusakan dari struktur dinding gua. Sampel batuan dan tanah diambil dari tiga posisi gua, yaitu sekitar mulut gua, tengah gua, dan dalam gua. Ilustrasi pengambilan sampel dapat dilihat pada Gambar 1. Sampel tanah dan batuan yang telah diperoleh langsung dimasukkan ke dalam plastik zip lock dan dipindahkan ke dalam box penyimpanan untuk dibawa ke dalam laboratorium.



Gambar 1. Ilustrasi Letak Posisi Pengambilan Sampel dari Gua *Leuntie* Lhong

Preparasi Sampel

Sampel batuan dan tanah yang telah didapatkan dari Gua *Leuntie* Lhong, selanjutnya dibawa ke dalam laboratorium untuk dipersiapkan larutan rendamannya. Metode yang digunakan dalam tahap ini merujuk pada Dagliya dkk. (2023) dengan sedikit modifikasi dengan tahapan yang dilakukan adalah sampel batuan dan tanah direndam dalam cairan NaCl 0,5 %

(b/v) steril pada wadah terpisah selama 3 jam. Rendaman ini akan menjadi cairan awal inokulasi untuk bakteri yang ada di batuan atau tanah gua tersebut.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Seluruh bahan, media untuk pertumbuhan bakteri, alat habis pakai seperti tip, mikrotube, dan beberapa larutan seperti NaCl dan aquadest yang digunakan dalam penelitian ini telah disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C pada tekanan 1,5 atm selama 15 menit (Fazli dkk., 2022). Hal ini penting untuk dilakukan agar menghindari kontaminan mikroorganisme lainnya.

Pertumbuhan Bakteri

Tahapan selanjutnya dari penelitian ini yaitu menumbuhkan bakteri dalam media pertumbuhan *nutrient broth* (NB). Sebanyak 20 % (v/v) rendaman larutan batuan gua atau tanah gua dicampurkan dalam erlenmeyer yang telah diisi 80 % (v/v) media NB. Selanjutnya kedua erlenmeyer tersebut dimasukkan dalam *shaker* inkubator selama 48 jam untuk diamati perubahan kekeruhan larutan yang terjadi. Apabila larutan keruh menandakan bakteri berhasil tumbuh dalam medium tersebut (Pipite dkk., 2022). Proses ini dilakukan dalam kondisi aseptis untuk menghindari kontaminasi. Pekerjaan transfer larutan ke dalam medium NB, dilakukan dekat dengan sumber api bunsen atau spirtus dan meja penelitian telah disterilisasi menggunakan alkohol 70 % v/v.

Setelah 48 jam dalam *shaker* inkubator pada suhu 37 °C dan larutan berubah menjadi keruh, maka selanjutnya kultur bakteri dipindahkan ke media NB padat. Komposisi media NB padat adalah 98 % (v/v) larutan NB ditambahkan 2 % (b/v) agar (Fazli & Hertadi, 2019). Setelah melalui proses sterilisasi, medium NB padat dimasukkan dalam cawan petri dan ditunggu hingga memadat. Pada permukaan media NB padat tersebut selanjutnya ditetaskan 20 µL kultur bakteri yang telah diencerkan terlebih dahulu sebanyak 5x dengan teknik pengenceran bertingkat. Tetasan tersebut kemudian disebar secara merata di atas permukaan agar. Selanjutnya cawan petri ditutup secara steril dan dimasukkan dalam inkubator untuk diamati pertumbuhan koloni bakteri keesokan harinya.

Pengamatan Morfologi Bakteri

Bakteri yang tumbuh di atas cawan petri selanjutnya dilakukan pengamatan morfologi bentuk koloni, meliputi, cembung atau cekung, menyebar, memusat, dan warna koloni tersebut. Jika dalam satu cawan petri terdapat beberapa morfologi koloni yang berbeda, dapat dipastikan

bahwa beberapa bakteri dengan spesies berbeda telah tumbuh dalam media tersebut. Tahapan selanjutnya adalah melakukan pemisahan titik-titik koloni ke dalam media NB padat yang baru dengan teknik gores (Fazli dkk., 2022). Teknik gores dilakukan untuk mendapatkan koloni tunggal yang akan dipilih dalam tahapan penelitian berikutnya.

Uji Pewarnaan Gram

Setelah mendapatkan koloni tunggal pada cawan petri, maka selanjutnya bakteri tersebut akan dipilah untuk diuji pewarnaan gram. Pengujian pewarnaan gram bertujuan untuk melihat bakteri tersebut merupakan bakteri gram positif atau gram negatif. Pengujian gram merujuk pada metode yang dijelaskan oleh Smith dan Hussey (2005), dimana koloni bakteri gram positif akan berwarna ungu atau biru di bawah pengamatan mikroskop sedangkan bakteri gram negatif akan berwarna merah atau merah muda.

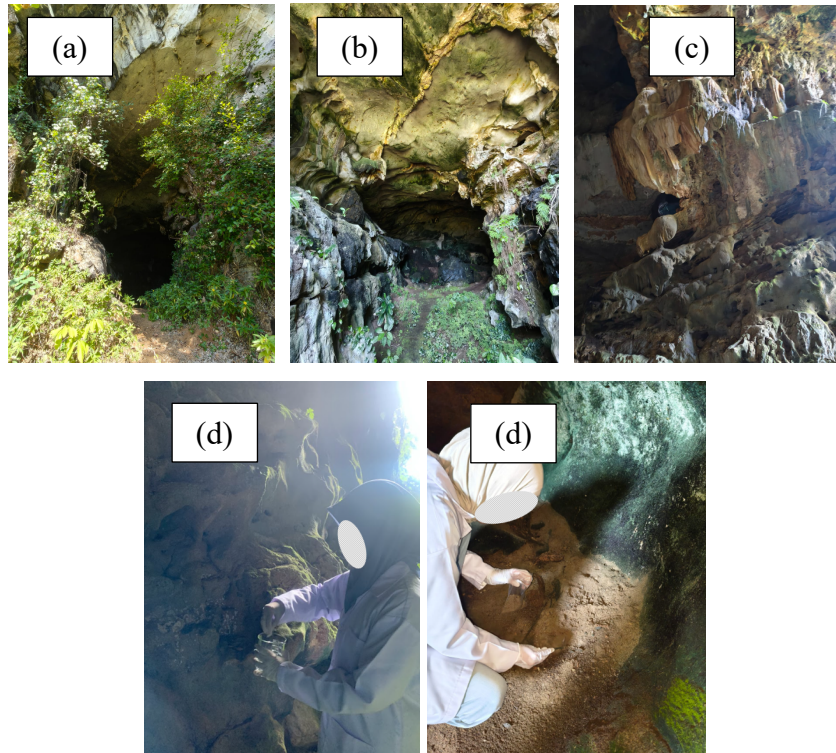
Uji Urea Agar Base

Setiap koloni bakteri yang tumbuh selanjutnya akan diuji *urea agar base*. Pengujian ini bertujuan untuk melihat kemampuan koloni bakteri yang berpotensi dalam menghasilkan enzim urease. Komposisi pengujian *urea agar base* merujuk pada Arias dkk. (2025). Enzim urease merupakan enzim yang berperan penting dalam mekanisme biomineralisasi pada bakteri khususnya dalam mengendapkan CaCO_3 . Hasil positif ditunjukkan oleh koloni bakteri yang akan merubah warna indikator dari kuning/oranye menjadi merah/merah muda.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Eksplorasi Gua *Leuntie Lhoong*

Eksplorasi dilakukan dalam rangka untuk mendapatkan sampel batuan dari dinding gua dan tanah gua. Sampel dikoleksi dari tiga tempat berbeda yaitu mulut gua, tengah gua, dan dalam gua. Gua *Leuntie Lhoong* memiliki panjang dari mulut gua hingga titik dalam gua tempat pengambilan sampel adalah ± 60 m. Eksplorasi terbatas dilakukan sampai cahaya matahari yang masuk dari mulut gua masih dapat terlihat. Bagian gua yang gelap dan tidak mendapatkan cahaya matahari tidak dieksplorasi pada penelitian ini. Eksplorasi dilakukan selama satu jam dengan ditemani seorang penduduk lokal yang tinggal di sekitar gua. Tampak keadaan dalam Gua *Leuntie Lhoong* dapat dilihat pada Gambar 2.

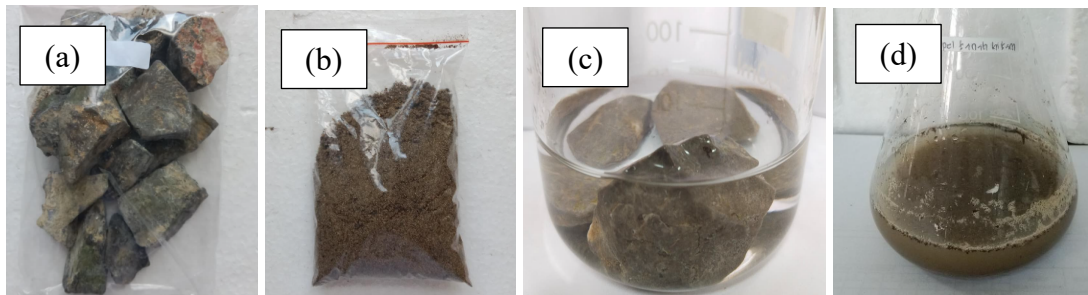


Gambar 2. Gua *Leuntie* Lhoong, Aceh Besar; (a) Depan Gua; (b) Dalam Gua; (c) Dinding-Dinding Gua; dan (d) Pengambilan Sampel Batuan Gua dan Tanah Gua

Berdasarkan Gambar 2 dapat dilihat bahwa ekosistem gua masih terjaga, mulut gua masih dipenuhi beberapa tanaman dan semak belukar yang tidak terlalu tinggi. Akses masuk ke dalam gua masih tergolong mudah dan tidak membutuhkan alat bantu lain. Kondisi dinding gua terlihat kokoh dan tidak ambruk. Tampak aktivitas beberapa hewan salah satunya kelelawar penghuni gua yang bersarang di kedalaman gua. Suhu Gua *Leuntie* Lhoong menunjukkan angka 22 ± 1 °C dengan kelembapan 78 %. Udara yang berada di dalam gua memiliki bau khas kotoran kelelawar. Setelah mengambil sampel maka gua ditinggalkan dengan tidak meninggalkan sampah disekitar lingkungan gua.

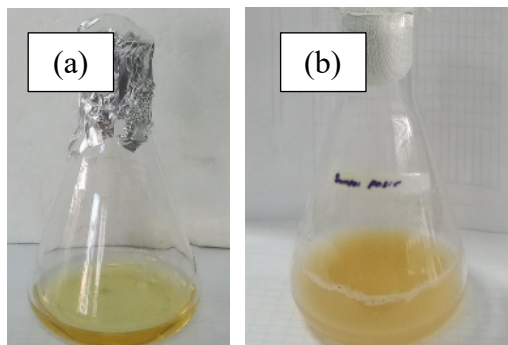
Isolasi Bakteri dari Sampel Batu Dinding dan Tanah Gua *Leuntie*

Sampel batuan dinding dan tanah yang telah diambil dari Gua *Leuntie* dan dimasukkan dalam plastik *zip lock* kemudian dibawa ke dalam laboratorium. Sebanyak satu bongkahan batu ukuran 10 cm dan satu sendok makan tanah gua dimasukkan dalam gelas kimia dan direndam dengan NaCl 0,5 % (b/v). Sampel batuan, tanah, dan proses perendaman kedua sampel dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Sampel yang Diperoleh dari Gua *Leuntie Lhoong*; (a) Batu Dinding Gua; (b) Tanah Gua; (c) Sampel Batuan Gua; dan (d) Tanah Gua yang direndam dalam Air Garam

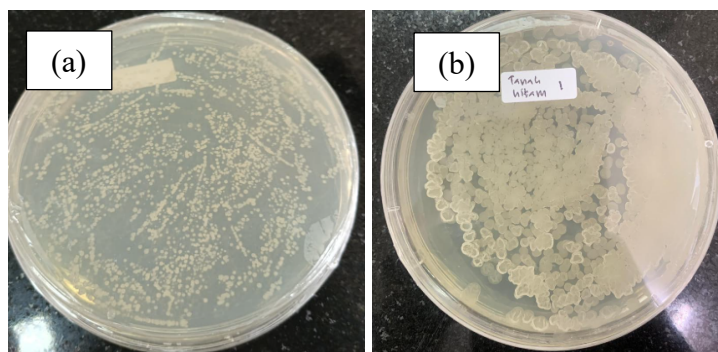
Setelah direndam selama tiga jam, maka air rendaman akan disebut sebagai “air sampel” yang akan diambil sebesar 20 % (v/v) untuk dicampurkan dalam larutan media NB. Proses pencampuran dilakukan dalam keadaan steril dan dekat dengan api untuk menghindari kontaminasi (Fazli dkk., 2022). Media NB yang telah ditambahkan air sampel lalu dimasukkan dalam shaker inkubator selama 48 jam untuk diamati pertumbuhan bakteri yang terjadi. Setelah 48 jam, media cair NB tampak keruh dan hal ini menandakan bahwa bakteri dari batuan dinding gua dan tanah gua telah berhasil tumbuh. Ilustrasi media NB cair pada saat 0 jam dan setelah inkubasi ke-48 jam dapat dilihat pada Gambar 4.



Gambar 4. Bakteri yang Berhasil ditumbuhkan dalam Media NB Cair yang Berubah Menjadi Keruh; (a) Kondisi pada 0 jam; dan (b) Kondisi pada 48 jam pada suhu 37 °C

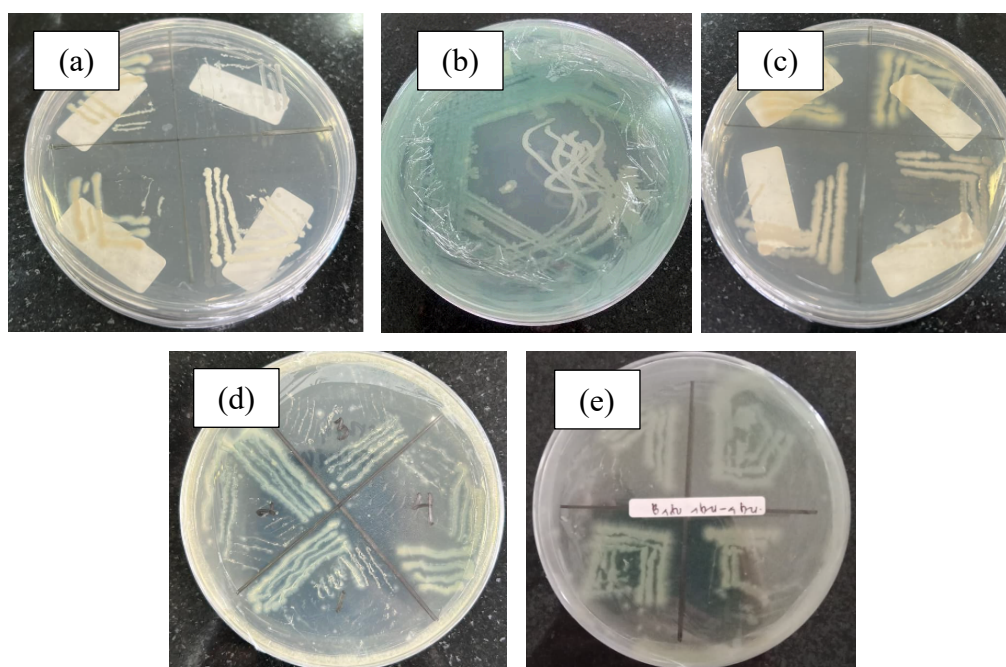
Pemindahan Bakteri pada Media NB Padat

Setelah bakteri berhasil tumbuh dalam media NB cair maka bakteri dipindahkan ke media NB padat dalam cawan petri. Hal ini dilakukan agar pengamatan morfologi koloni bakteri dapat dilakukan. Sebelum dipindahkan maka sampel bakteri yang tumbuh pada media NB cair harus diencerkan secara bertingkat. Pada pengenceran ke-lima maka sebanyak 20 μ L kultur dioleskan secara merata dengan teknik *spreading* pada permukaan media NB padat dalam cawan petri untuk selanjutnya diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada suhu 32 °C. Pertumbuhan bakteri pada cawan petri dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Bakteri yang Telah Berhasil ditumbuhkan dalam Cawan Petri; (a) Sampel Batuan; dan (b) Sampel Tanah

Berdasarkan pengamatan yang dilakukan terhadap kultur bakteri yang tumbuh, tampak 5 titik koloni bakteri yang menunjukkan perbedaan signifikan pada media NB padat, pengamatan dilakukan dengan melihat warna koloni, bentuk gerombolan koloni, dan terbentuknya hifa atau serat-serat bakteri pada media tersebut. Berdasarkan hal tersebut maka lima titik koloni akan dipindahkan dalam media NB padat baru dengan teknik gores atau *streak*. Teknik gores dilakukan untuk memastikan mendapatkan kemurnian koloni tunggal dari bakteri yang baru diisolasi dari sampel alam. Hasil pertumbuhan bakteri dengan teknik gores dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Bakteri yang ditumbuhkan dengan Teknik Gores; (a) Isolat BGL-1; (b) Isolat BGL-2; (c) Isolat BGL-3; (d) Isolat BGL-4; dan (e) Isolat BGL-5

Identifikasi Bakteri Isolat Gua *Leuntie Lhoong*

Setelah mendapatkan lima koloni yang menunjukkan perbedaan signifikan pada tahapan skrining sebelumnya, maka kelima isolat bakteri tersebut diberi label BGL-1, BGL-2, BGL-3, BGL-4, dan BGL-5. Identifikasi dilakukan dengan melihat bentuk morfologi bakteri, pewarnaan gram, dan respon pertumbuhan dalam media *urea agar base*. Hasil identifikasi ini dapat dilihat pada Tabel 1 berikut ini.

Tabel 1. Identifikasi Lima Koloni Bakteri Isolat Gua *Leuntie Lhoong*

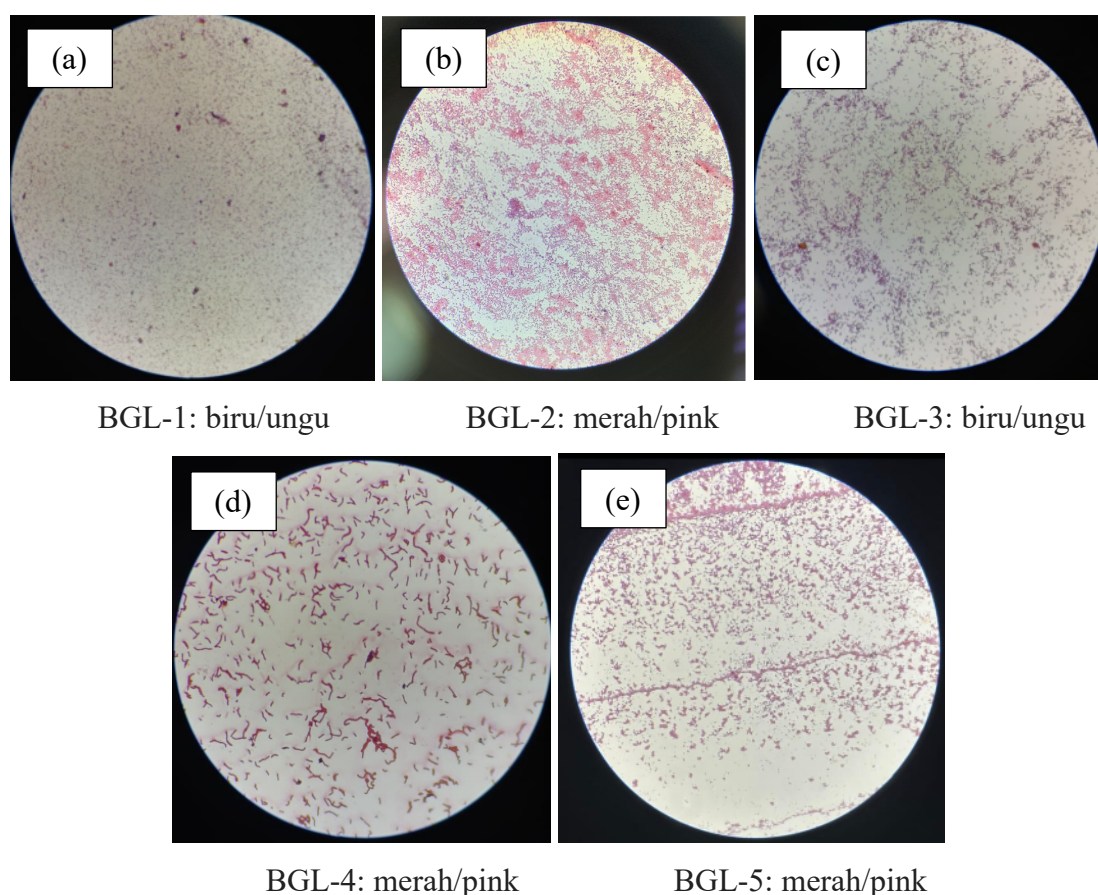
Jenis Identifikasi	Bakteri BGL				
	1	2	3	4	5
Morfologi					
Bentuk	Bulat	Tidak beraturan	Bulat	Bulat	Tidak beraturan
Ukuran (Mm)	3	5	3	5	3
Pigmen/Warna	Putih	Hijau	Putih	Hijau	Hijau
Elevasi	Cembung	Datar	Datar	Cembung	Cembung
Tepi	Rata	Bergelombang	Rata	Rata	Bergelombang
Tekstur	Halus	Kasar	Kasar	Kasar	Halus
Permukaan					
Mikroskopis					
Pewarnaan	Biru/ungu	Merah/ <i>pink</i>	Biru/ungu	Merah/ <i>pink</i>	Merah/ <i>pink</i>
Garam					
Uji urea <i>agar base</i>	+	-	+	-	-

Keterangan: + menunjukkan respon positif; - menunjukkan respon negatif

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa lima isolat bakteri menunjukkan morfologi yang beragam, hal ini memungkinkan kelima isolat bakteri dapat terdiri dari jenis spesies yang berbeda. Namun, pengamatan secara morfologi bukanlah merupakan suatu penentu spesies bakteri (Chuo dkk., 2020). Hal ini karena pengamatan morfologi dapat dipengaruhi oleh faktor kandungan nutrisi yang didapat oleh koloni bakteri, suhu saat pertumbuhan dan lingkungan pada media agar yang mungkin opportunistik. Pengamatan morfologi dilakukan untuk memilih kelompok atau mengidentifikasi bakteri berdasarkan sel, susunan sel, dan karakteristik koloni yang terlihat (Lin dkk., 2021). Pengamatan morfologi secara makroskopis biasanya didukung oleh pengamatan secara mikroskopis (Khiste dkk., 2025).

Berdasarkan Tabel 1 dapat dilihat bahwa pengamatan mikroskopis dilakukan dengan melakukan pewarnaan gram. Hasilnya menunjukkan bahwa isolat BGL-1 dan BGL-3 menghasilkan warna biru/ungu yang merupakan ciri untuk bakteri gram positif. Isolat BGL-2, BGL-4, dan BGL-5 menghasilkan warna merah/pink yang merupakan ciri dari bakteri gram

negatif. Bakteri gram positif memiliki membran sel satu lapisan dengan peptidoglikan yang tebal sedangkan bakteri gram negatif memiliki 2 lapisan membran sel (dalam dan luar) namun lapisan peptidoglikan yang tipis (Castro-Alonso dkk., 2019). Setelah proses pewarnaan, lapisan peptidoglikan yang tebal memerangkap kristal violet/ungu sehingga bakteri tampak seperti warna biru/ungu (gram positif). Sedangkan lapisan peptidoglikan yang tipis tidak mampu melakukan hal tersebut sehingga saat pencucian, maka membran sel bakteri akan mengikat warna safranin merah/pink (gram negatif) (Smith dan Hussey, 2005). Pengamatan di bawah mikroskop menunjukkan bahwa isolat BGL-1, BGL-2, BGL-3, BGL-4, dan BGL-5 berbentuk basil dan berkelompok, pengamatan ini dapat dilihat pada Gambar 7.

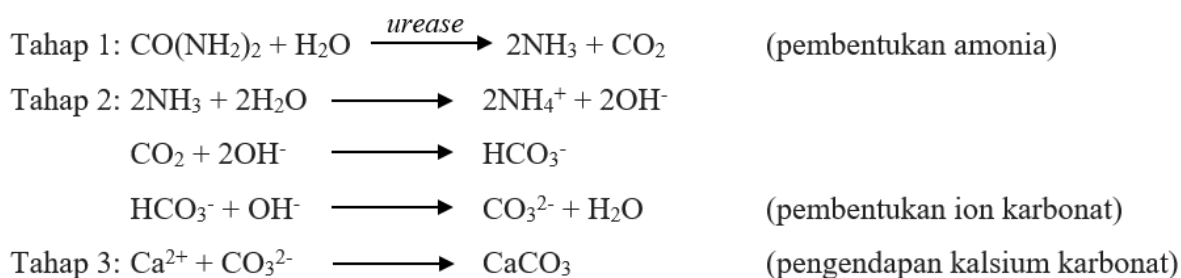


Gambar 7. Foto Pewarnaan Bakteri Isolat Gua *Leuntie* Lhoong dengan Perbesaran 40x10; (a) GL-1 Biru/Ungu; (b) BGL-2 Merah/*Pink*; (c) BGL-3 Biru/Ungu; (d) BGL-4 Merah/*Pink*; dan (e) BGL-5 Merah/*Pink*

Berdasarkan Gambar 7 dan pengamatan yang dilakukan secara mikroskopis dengan perbesaran 40 x 10 tampak bahwa isolat BGL-1 sampai dengan BGL-5 menunjukkan morfologi basil. Oleh karena itu, kemungkinan bakteri ini adalah dari kelompok *Bacillus spp.* Namun, pengamatan morfologi pada Tabel 1 memperlihatkan isolat BGL-2, BGL-4, dan BGL-5

memendarkan pigmen hijau disekitar koloni bakteri. Koloni yang berwarna hijau umumnya merupakan ciri khas dari kelompok *Pseudomonas spp* (Feng dkk., 2021). Sehingga dapat diprediksi bahwa isolat BGL-1 dan BGL-3 adalah *Bacillus spp* dan isolat BGL-2, BGL-4, dan BGL-5 adalah *Pseudomonas spp*. Untuk memastikan spesies bakteri yang jelas maka harus dilakukan teknik analisis biomolekul mulai dari isolasi DNA dan penentuan gen 16s rDNA bakteri, hal ini menjadi suatu keterbatasan dalam penelitian ini.

Uji *urea agar base* dilakukan untuk melihat kemampuan bakteri dalam menghasilkan enzim urease (Chang dkk., 2024). Enzim urease berperan dalam proses biomineralisasi dalam suatu siklus metabolisme bakteri (Chen dkk., 2021). Salah satu contoh yang paling populer adalah biomineralisasi kalsium karbonat dalam proses MICP. Reaksi kerja enzim urease dalam mengendapkan kalsium karbonat menurut Castro-Alonso dkk. (2019) ditunjukkan dalam Gambar 8.



Gambar 8. Tahapan Kerja Enzim Urease

Pengendapan CaCO_3 melalui bantuan mikroba dikenal dengan proses *microbially induced calcium carbonate precipitation* (MICP) (Chen dkk., 2024). Mekanisme yang dilakukan juga dapat dikenal dengan mekanisme biomineralisasi, dimana bakteri memanfaatkan ion kalsium yang ada dalam mineral-mineral alami bumi yang larut atau terbawa bersama aliran air. Secara alami celah-celah gua yang melalui lapisan batuan dapat membawa ion-ion ini dan memungkinkan bakteri untuk melakukan proses biomineralisasi (Abo-El-Enein dkk., 2013). Uji *urea agar base* terhadap lima isolat bakteri menunjukkan hasil positif yaitu isolat BGL-1 dan BGL-3 memberikan respon positif dimana merubah warna indikator merah jambu/pink. Hal ini menunjukkan bahwa isolat BGL-1 dan BGL-3 berpotensi dalam menguraikan urea untuk menghasilkan CaCO_3 dan dapat bertindak sebagai bio-agen MICP.

KESIMPULAN

Lima isolat bakteri Gua *Leuntie* Lhoong, Aceh Besar telah berhasil diisolasi. Kelima bakteri tersebut diberikan kodel BGL-1, BGL-2, BGL-3 BGL-4, dan BGL-5. Isolat BGL-1 dan BGL-3 berdasarkan analisis morfologi makroskopik dan mikroskopik kemungkinan besar adalah spesies *Bacillus spp.* Sedangkan isolat BGL-2, BGL-4, dan BGL-5 adalah spesies *Pseudomonas spp* dikarenakan pada pengamatan morfologi pigmen/warna muncul pendaran hijau disekitar koloni bakteri tersebut. Uji *urease agar base* menunjukkan respon positif untuk BGL-1 dan BGL-3 sehingga isolat ini dapat menunjukkan potensi awal sebagai kandidat bio-agan MICP berdasarkan aktivitas urease positif, dan memerlukan validasi lebih lanjut melalui uji presipitasi CaCO_3 dan dikembangkan menjadi bio-agan yang berperan dalam proses MICP.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini dibiayai oleh Universitas Syiah Kuala, Kementerian Pendidikan Tinggi, Sains, dan Teknologi sesuai dengan Surat Perjanjian Penugasan Pelaksanaan Penelitian Asisten Ahli Tahun Anggaran 2025, No. 647/UN11.L1/PG.01.03/14143-PTNBH/2025, tanggal 15 Juli 2025.

DAFTAR PUSTAKA

- Abo-El-Enein, S. A., Ali, A. H., Talkhan, F. N., & Abdel-Gawwad, H. A. (2013). Application of microbial biocementation to improve the physico-mechanical properties of cement mortar. *Hbrc Journal*, 9(1), 36-40.
- Arias, D., Gallardo, K., Saldana, M., & Galleguillos-Madrid, F. (2025). Urease-Driven Microbially Induced Carbonate Precipitation (MICP) for the Circular Valorization of Reverse Osmosis Brine Waste: A Perspective Review. *Minerals*, 15(5), 543.
- Castro-Alonso, M. J., Montañez-Hernandez, L. E., Sanchez-Muñoz, M. A., Macias Franco, M. R., Narayanasamy, R., & Balagurusamy, N. (2019). Microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) and its potential in bioconcrete: microbiological and molecular concepts. *Frontiers in Materials*, 6, 126.
- Castro-Alonso, M. J., Montañez-Hernandez, L. E., Sanchez-Muñoz, M. A., Macias Franco, M. R., Narayanasamy, R., & Balagurusamy, N. (2019). Microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) and its potential in bioconcrete: microbiological and molecular concepts. *Frontiers in Materials*, 6, 126.
- Chang, J., Yang, D., Lu, C., Shu, Z., Deng, S., Tan, L., ... & Duan, P. (2024). Application of microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) process in concrete self-

- healing and environmental restoration to facilitate carbon neutrality: a critical review. *Environmental Science and Pollution Research*, 31(26), 38083-38098.
- Chen, H. J., Lo, Y. H., Tang, C. W., & Chang, H. W. (2024). Applying microbial-induced calcium carbonate precipitation technology to improve the bond strength of lightweight aggregate concrete after high-temperature damage. *Applied Sciences*, 14(4), 1416.
- Chen, M., Gowthaman, S., Nakashima, K., & Kawasaki, S. (2021). Evaluating Mechanical Strength of Peat Soil Treated by Fiber Incorporated Bio-Cementation.
- Chuo, S. C., Mohamed, S. F., Mohd Setapar, S. H., Ahmad, A., Jawaaid, M., Wani, W. A., ... & Mohamad Ibrahim, M. N. (2020). Insights into the current trends in the utilization of bacteria for microbially induced calcium carbonate precipitation. *Materials*, 13(21), 4993.
- Dagliya, M., Satyam, N., & Garg, A. (2023). Optimization of growth medium for microbially induced calcium carbonate precipitation (MICP) treatment of desert sand. *Journal of Arid Land*, 15(7), 797-811.
- Dhami, N. K., Reddy, M. S., & Mukherjee, A. (2013). Biomineralization of calcium carbonates and their engineered applications: a review. *Frontiers in microbiology*, 4, 314.
- Fazli, R. R., & Hertadi, R. (2019). Production and characterization of rhamnolipids from bioconversion of palm oil mill effluent by the halophilic bacterium *Pseudomonas stutzeri* BK-AB12. *Environmental Progress & Sustainable Energy*, 38(3), e13007.
- Fazli, R. R., Hanum, L., Alvionita, M., & Akbar, S. A. (2022). Variasi Sumber Karbon Terhadap Produksi Biosurfaktan Oleh Bakteri Halofilik Isolat Tambak Garam Kajhu Aceh Besar. *Lantanida Journal*, 10(1), 75-85.
- Feng, C., Cui, B., Ge, H., Huang, Y., Zhang, W., & Zhu, J. (2021). Reinforcement of recycled aggregate by Microbial-Induced mineralization and deposition of calcium carbonate—Influencing factors, mechanism and effect of reinforcement. *Crystals*, 11(8), 887.
- Gerengi, H., Kaya, E., Solomon, M. M., Snape, M., & Koerdt, A. (2024). Advances in the mitigation of microbiologically influenced concrete corrosion: A snapshot. *Materials*, 17(23), 5846.
- Gowthaman, S., Iki, T., Nakashima, K., Ebina, K., & Kawasaki, S. (2019). Feasibility study for slope soil stabilization by microbial induced carbonate precipitation (MICP) using indigenous bacteria isolated from cold subarctic region. *SN applied sciences*, 1(11), 1480.
- Haroon, U., Liaquat, F., Khizar, M., Akbar, M., Saleem, H., Arif, S., ... & Munis, M. F. H. (2021). Isolation of halotolerant bacteria from rhizosphere of Khewra salt mine halophytes and their application to induce salt tolerance in wheat. *Geomicrobiology Journal*, 38(9), 768-775.

- Khiste, V. R., Patel, K. P., Mogili, N. V., Banerjee, S., Khanra, A., & Saxena, J. (2025). Harnessing *Bacillus pacificus*-I7 as a catalytic and sustainable tool for bio-cementation using agro-industrial wastes. *Geomicrobiology Journal*, 42(10), 1050-1062.
- Lin, W., Lin, W., Cheng, X., Chen, G., & Ersan, Y. C. (2021). Microbially induced desaturation and carbonate precipitation through denitrification: a review. *Applied Sciences*, 11(17), 7842.
- Mujah, D., Shahin, M. A., & Cheng, L. (2017). State-of-the-art review of biocementation by microbially induced calcite precipitation (MICP) for soil stabilization. *Geomicrobiology Journal*, 34(6), 524-537.
- Omoriege, A. I., Kan, F. K., Basri, H. F., Silini, M. O. E., & Rajasekar, A. (2025). Enhanced MICP for soil improvement and heavy metal remediation: Insights from landfill leachate-derived ureolytic bacterial consortium. *Microorganisms*, 13(1), 174.
- Patel, J. K., & Patel, R. (2025). Biogenic calcite precipitation: microbial catalyst and engineering applications. *Geomicrobiology Journal*, 42(10), 1112-1121.
- Pipite, A., Lockhart, P. J., McLenachan, P. A., Christi, K., Kumar, D., Prasad, S., & Subramani, R. (2022). Isolation, antibacterial screening, and identification of bioactive cave dwelling bacteria in Fiji. *Frontiers in Microbiology*, 13, 1012867.
- Ruan, S., Qiu, J., Weng, Y., Yang, Y., Yang, E. H., Chu, J., & Unluer, C. (2019). The use of microbial induced carbonate precipitation in healing cracks within reactive magnesia cement-based blends. *Cement and Concrete Research*, 115, 176-188.
- Sharma, M., Satyam, N., & Reddy, K. R. (2021). Hybrid bacteria mediated cemented sand: microcharacterization, permeability, strength, shear wave velocity, stress-strain, and durability. *International Journal of Damage Mechanics*, 30(4), 618-645.
- Sharma, M., Satyam, N., & Reddy, K. R. (2021). State of the art review of emerging and biogeotechnical methods for liquefaction mitigation in sands. *Journal of Hazardous, Toxic, and Radioactive Waste*, 25(1), 03120002.
- Shiri, M., Bahari, A., Sarbangholi, M. M. K., Ivanovich Vatin, N., Rahmani, H., Bozorg, A. E., ... & Kordlou, M. (2026). Microbial-induced calcite precipitation by indigenous alkaliphilic bacteria: a dual-enzyme strategy for crack-healing in cementitious materials. *Applied microbiology and biotechnology*.
- Smith, A. C., & Hussey, M. A. (2005). Gram stain protocols. *American society for microbiology*, 1(14), 113-144.
- Tang, C. S., Yin, L. Y., Jiang, N. J., Zhu, C., Zeng, H., Li, H., & Shi, B. (2020). Factors affecting the performance of microbial-induced carbonate precipitation (MICP) treated soil: a review. *Environmental Earth Sciences*, 79(5), 94.

- Tian, Y., Li, Z., Wang, S., Zhou, Y., Li, D., & Fu, L. (2022). Application of MICP in water stability and hydraulic erosion control of phosphogypsum material in slope. *Applied Sciences*, 12(4), 1783.
- Zada, S., Rafiq, M., Sajjad, W., Afzal, M., Su, Z., & Lihua, L. (2025). Isolation and characterization of ureolytic calcifying bacteria from methane hydrate-bearing marine sediments for bio-cementation application. *Physics and Chemistry of the Earth, Parts A/B/C*, 137, 103808.
- Zhang, J., Shi, X., Chen, X., Huo, X., & Yu, Z. (2021). Microbial-induced carbonate precipitation: a review on influencing factors and applications. *Advances in Civil Engineering*, 2021(1), 9974027.
- Zheng, L., Hou, C., & Lu, X. (2025). Polymer-assisted ureolytic microbially induced carbonate precipitation: mechanisms, efficiency optimization, and bio-cementation applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 24(2), 399-424.
- Zhu, Y. Q., Li, Y. J., Sun, X. Y., Guo, Z., Rui, S. J., & Zheng, D. Q. (2025). A one-phase injection method to improve the strength and uniformity in MICP with polycarboxylic acid added. *Acta Geotechnica*, 20(5), 2279-2291.