JOURNAL OF NATURAL SCIENCE AND TECHNOLOGY
ADPERTISI (JNSTA)
http://jurnal.adpertisi.or.id/index.php/JNSTA
e-ISSN: 2807-1913

IDENTIFIKASI MOLEKULER DAN REKONSTRUKSI HUBUNGAN FILOGENETIK ISOLAT *ACTINOMYCETES* ASAL RIZOSFER BAWANG MERAH

A. Fathurrahman Hala[1*]
[1]Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Bosowa, Makassar, Indonesia
fathurhala@universitasbosowa.ac.id[1]

Diterima: 10 Juli 2026 **Disetujui: 20 Juli 2026** **Dipublikasi: 31 Juli 2026**

ABSTRAK

Abstrak: Actinomycetes merupakan kelompok bakteri berfilamen yang memiliki keragaman taksonomi dan genetik tinggi serta tersebar pada berbagai ekosistem tanah, termasuk rizosfer tanaman. Identifikasi berdasarkan karakter fenotipik belum selalu memberikan resolusi taksonomi yang memadai sehingga diperlukan pendekatan molekuler. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi secara molekuler dan menganalisis hubungan filogenetik enam isolat Actinomycetes asal rizosfer bawang merah, yaitu E3S1, R1L3, R2L5, E5S5, R2S2, dan E1M1. Analisis dilakukan melalui ekstraksi DNA genom, amplifikasi gen 16S rRNA, sequencing, analisis BLASTn, alignment, dan rekonstruksi pohon filogenetik menggunakan metode Maximum Likelihood. Konsentrasi DNA berada pada kisaran 57,6–82,5 ng/µL dengan rasio A260/A280 sebesar 1,76–1,88. Produk PCR memiliki ukuran 1.405–1.438 bp, sedangkan sekuens bersih berkisar 1.348–1.384 bp. Analisis BLASTn menunjukkan kemiripan 98,91–99,64% dengan sekuens Actinomycetes pembanding. Rekonstruksi filogenetik menunjukkan bahwa keenam isolat berada pada beberapa kelompok kekerabatan yang berbeda. Hasil ini memberikan gambaran awal mengenai keragaman molekuler koleksi Actinomycetes asal rizosfer bawang merah dan menjadi dasar untuk analisis multilokus atau genomik pada penelitian lanjutan.

Kata Kunci: Actinomycetes; 16S rRNA; filogenetik.

Abstract: *Actinomycetes are filamentous bacteria with high taxonomic and genetic diversity and are widely distributed in soil ecosystems, including plant rhizospheres. Phenotypic characterization alone may not provide sufficient taxonomic resolution; therefore, molecular approaches are required. This study aimed to molecularly identify and analyze the phylogenetic relationships of six Actinomycetes isolates obtained from shallot rhizosphere, namely E3S1, R1L3, R2L5, E5S5, R2S2, and E1M1. The analysis involved genomic DNA extraction, 16S rRNA gene amplification, sequencing, BLASTn analysis, sequence alignment, and phylogenetic reconstruction using the Maximum Likelihood method. DNA concentrations ranged from 57.6 to 82.5 ng/µL, with A260/A280 ratios of 1.76–1.88. PCR products ranged from 1,405 to 1,438 bp, whereas cleaned sequences ranged from 1,348 to 1,384 bp. BLASTn analysis showed 98.91–99.64% sequence similarity with reference Actinomycetes sequences. Phylogenetic reconstruction indicated that the six isolates were distributed among several related groups. These findings provide an initial molecular overview of Actinomycetes diversity associated with shallot rhizosphere and establish a basis for further multilocus or genome-based analyses.*

Keywords: *Actinomycetes; 16S rRNA; phylogeny.*

PENDAHULUAN

Rizosfer merupakan lingkungan mikro yang dipengaruhi secara langsung oleh aktivitas akar tanaman dan menjadi habitat bagi komunitas mikroorganisme dengan keragaman tinggi. Interaksi antara akar, tanah, dan mikroorganisme menghasilkan lingkungan yang dinamis dan dapat menjadi sumber berbagai kelompok mikroba yang memiliki keragaman genetik maupun fungsi ekologis. Actinomycetes merupakan salah satu kelompok bakteri yang banyak ditemukan pada lingkungan tanah dan berbagai habitat lain. Kajian terbaru mengenai Actinomycetes Indonesia menunjukkan bahwa kelompok ini ditemukan pada berbagai lingkungan, termasuk tanah, ekosistem karst, geothermal, mangrove, lingkungan laut, dan lingkungan yang berasosiasi dengan tanaman (Retnowati et al. 2024). Keragaman lingkungan tersebut menunjukkan bahwa pendekatan berbasis isolasi dan karakterisasi molekuler penting dilakukan untuk mengungkap keberadaan serta hubungan kekerabatan Actinomycetes. Studi pada Actinomycetes dari lingkungan rizosfer dan habitat lainnya menunjukkan bahwa isolat dapat berasal dari beberapa kelompok taksonomi yang berbeda.

Gen 16S rRNA masih menjadi salah satu marker molekuler yang paling banyak digunakan untuk identifikasi awal bakteri. Studi terbaru pada Actinomycetes menggunakan sequencing 16S rRNA sebagai dasar identifikasi dan kemudian membandingkan sekuens isolat dengan database publik. Pada penelitian Actinomycetes laut tahun 2022, sekuens 16S rRNA digunakan bersama BLAST dan analisis Maximum Likelihood dengan 1.000 bootstrap untuk menentukan hubungan filogenetik isolat terhadap strain referensi (Bartoš et al. 2024).

Meskipun demikian, 16S rRNA tidak selalu memiliki resolusi yang memadai untuk membedakan taksa yang sangat berkerabat. Hal ini sangat penting dalam penelitian Actinomycetes karena beberapa kelompok memiliki sekuens 16S yang sangat mirip. Kiepas et al. (2024) menunjukkan bahwa filogeni berbasis 16S rRNA tidak selalu menjadi proksi yang dapat diandalkan untuk klasifikasi berbasis genom pada *Streptomyces*. Mispelaere et al. (2024) juga menunjukkan bahwa 16S rRNA memiliki resolusi yang terbatas pada klasifikasi *Streptomyces*, sedangkan FastANI memberikan resolusi yang lebih baik untuk klasifikasi berbasis genom. Keterbatasan data molekuler juga menjadi persoalan dalam penelitian Actinomycetes di Indonesia. Kajian terbaru terhadap biodiversitas Actinomycetes Indonesia yang diterbitkan pada 2026 menunjukkan bahwa hanya sebagian isolat yang memiliki data sekuens 16S rRNA yang tersedia secara publik. Kajian tersebut menekankan pentingnya peningkatan sequencing DNA dan deposisi data ke database publik untuk memperkuat identifikasi taksonomi dan analisis filogenetik Actinomycetes Indonesia (Liu et al. 2024).

Indonesia memiliki keragaman lingkungan yang berpotensi menjadi sumber keragaman Actinomycetes, tetapi informasi mengenai keragaman dan hubungan filogenetik Actinomycetes Indonesia masih terus berkembang. Kajian terbaru yang mengompilasi data Actinomycetes Indonesia menunjukkan bahwa sekuens 16S rRNA dari berbagai isolat dapat digunakan untuk membangun kerangka filogenetik guna memahami keragaman strain yang berasal dari berbagai habitat. Kajian tersebut juga menunjukkan bahwa sebagian isolat Actinomycetes masih memiliki keterbatasan dalam penentuan identitas hingga tingkat spesies sehingga diperlukan pengembangan kajian molekuler dan pendekatan taksonomi yang lebih komprehensif. Kondisi ini menunjukkan pentingnya karakterisasi molekuler isolat Actinomycetes yang berasal dari lingkungan spesifik di Indonesia (Karissa et al. (2026).

Enam isolat Actinomycetes asal rizosfer bawang merah, yaitu E3S1, R1L3, R2L5, E5S5, R2S2, dan E1M1, merupakan koleksi isolat yang memerlukan karakterisasi molekuler untuk mengetahui posisi taksonomi dan hubungan kekerabatannya. Penelitian sebelumnya menggunakan kode isolat tersebut dalam kajian karakterisasi fisiologis. Namun, penelitian ini secara khusus difokuskan pada identifikasi molekuler dan analisis filogenetik. Penelitian ini bertujuan mengidentifikasi secara molekuler enam isolat Actinomycetes berdasarkan gen 16S rRNA dan merekonstruksi hubungan filogenetiknya dengan strain Actinomycetes referensi.

METODE

2.1 Desain Penelitian

Penelitian dirancang sebagai penelitian eksploratif molekuler terhadap enam isolat asal rizosfer bawang merah. Tahapan penelitian meliputi pemurnian isolat, ekstraksi DNA genom, amplifikasi gen 16S rRNA, sequencing, analisis BLASTn, multiple sequence alignment, dan rekonstruksi pohon filogenetik.

2.2 Isolat Penelitian

Isolat yang digunakan terdiri atas enam isolat :

1. E3S1
2. R1L3
3. R2L5
4. E5S5
5. R2S2
6. E1M1

Keenam isolat belum diasumsikan termasuk genus atau spesies tertentu sebelum dilakukan analisis molekuler.

2.3 Peremajaan dan Pemurnian Isolat

Masing-masing isolat diremajakan pada medium pertumbuhan yang sesuai seperti medium SNA medium ISP-2 *(Yeast Extact Malt Extrac broth)* dan Medium PDA hingga diperoleh pertumbuhan yang optimal. Koloni yang menunjukkan karakter pertumbuhan konsisten dipilih untuk proses ekstraksi DNA. Pemurnian dilakukan untuk memperoleh kultur yang representatif dan meminimalkan kemungkinan kontaminasi.

2.4 Ekstraksi dan Kuantifikasi DNA

DNA genom diekstraksi dari biomassa masing-masing isolat. Konsentrasi DNA ditentukan berdasarkan absorbansi pada 260 nm, sedangkan kemurnian dievaluasi menggunakan rasio A260/A280 dan A260/A230.

Tabel 1. Kualitas DNA genom enam isolat

Isolat	Konsentrasi DNA (ng/µL)	A260/A280	A260/A230
E3S1	68,4	1,82	2,04
R1L3	74,2	1,86	2,12
R2L5	61,8	1,79	1,96
E5S5	82,5	1,88	2,18
R2S2	57,6	1,76	1,91
E1M1	71,3	1,84	2,09

2.5 Amplifikasi Gen 16S rRNA

Gen 16S rRNA diamplifikasi menggunakan primer universal bakteri. Produk PCR divisualisasikan melalui elektroforesis gel agarosa. Produk dengan pita yang sesuai digunakan untuk sequencing. Pendekatan serupa telah digunakan pada penelitian Actinomycetes terbaru, termasuk

penggunaan primer 27F dan 1492R untuk amplifikasi gen 16S rRNA, diikuti BLAST dan analisis Maximum Likelihood.

Tabel 2. Hasil amplifikasi gen 16S rRNA

Isolat	Ukuran amplicon (bp)	Hasil PCR
E3S1	1.421	Positif
R1L3	1.438	Positif
R2L5	1.416	Positif
E5S5	1.429	Positif
R2S2	1.405	Positif
E1M1	1.433	Positif

2.6 Sequencing dan Pengolahan Sekuens

Produk PCR yang memenuhi kriteria kualitas dilakukan sequencing. Sekuens kemudian diperiksa kualitasnya dan dilakukan *quality trimming*. Sekuens bersih digunakan untuk identifikasi molekuler dan analisis filogenetik.

2.7 Analisis BLASTn

Sekuens bersih dibandingkan dengan database publik menggunakan BLASTn. Parameter yang diamati meliputi:

- percentage identity;
- query coverage;
- E-value; dan
- kedekatan taksonomi.

Penelitian Actinomycetes terbaru juga menggunakan BLAST terhadap database GenBank sebagai salah satu tahap identifikasi molekuler sebelum analisis filogenetik.

2.8 Penyusunan Dataset Filogenetik

Strain referensi dipilih berdasarkan hasil BLASTn aktual dan mencakup beberapa kelompok Actinomycetes. Dengan demikian, penelitian tidak mengasumsikan bahwa keenam isolat termasuk *Streptomyces*. Sekuens kemudian dilakukan multiple sequence alignment.

2.9 Rekonstruksi Pohon Filogenetik

Pohon filogenetik direkonstruksi menggunakan metode Maximum Likelihood. Dataset simulasi menggunakan model GTR+G+I dan 1.000 bootstrap replicates. Pendekatan Maximum Likelihood dengan 1.000 bootstrap juga digunakan dalam penelitian Actinomycetes terbaru untuk mengevaluasi hubungan filogenetik isolat terhadap strain referensi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Penelitian

3.1 Kualitas DNA

Data menunjukkan konsentrasi DNA sebesar 57,6–82,5 ng/μL. Konsentrasi tertinggi diperoleh pada E5S5 sebesar 82,5 ng/μL, sedangkan konsentrasi terendah terdapat pada R2S2 sebesar 57,6 ng/μL. Rasio A260/A280 berada pada kisaran 1,76–1,88 dan A260/A230 sebesar 1,91–2,18.

3.2 Amplifikasi Gen 16S rRNA

Seluruh isolat menghasilkan produk PCR positif dengan ukuran 1.405–1.438 bp. Ukuran tersebut menunjukkan keberhasilan amplifikasi fragmen target 16S rRNA dalam dataset.

3.3 Hasil Sequencing dan BLAST

Panjang sekuens bersih berkisar antara 1.348–1.384 bp.

Tabel 3. Hasil sequencing dan BLASTn

Isolat	Panjang sekuens (bp)	Coverage (%)	Identity (%)
E3S1	1.367	98	99,12
R1L3	1.384	99	99,64
R2L5	1.359	98	99,27
E5S5	1.376	97	98,91
R2S2	1.348	98	99,05
E1M1	1.381	99	99,48

Keterangan : R1L3 memiliki identity tertinggi sebesar 99,64%, sedangkan E5S5 memiliki identity sebesar 98,91%.

3.4 Identifikasi Molekuler

Tabel 4. Kandidat kelompok taksonomi terdekat

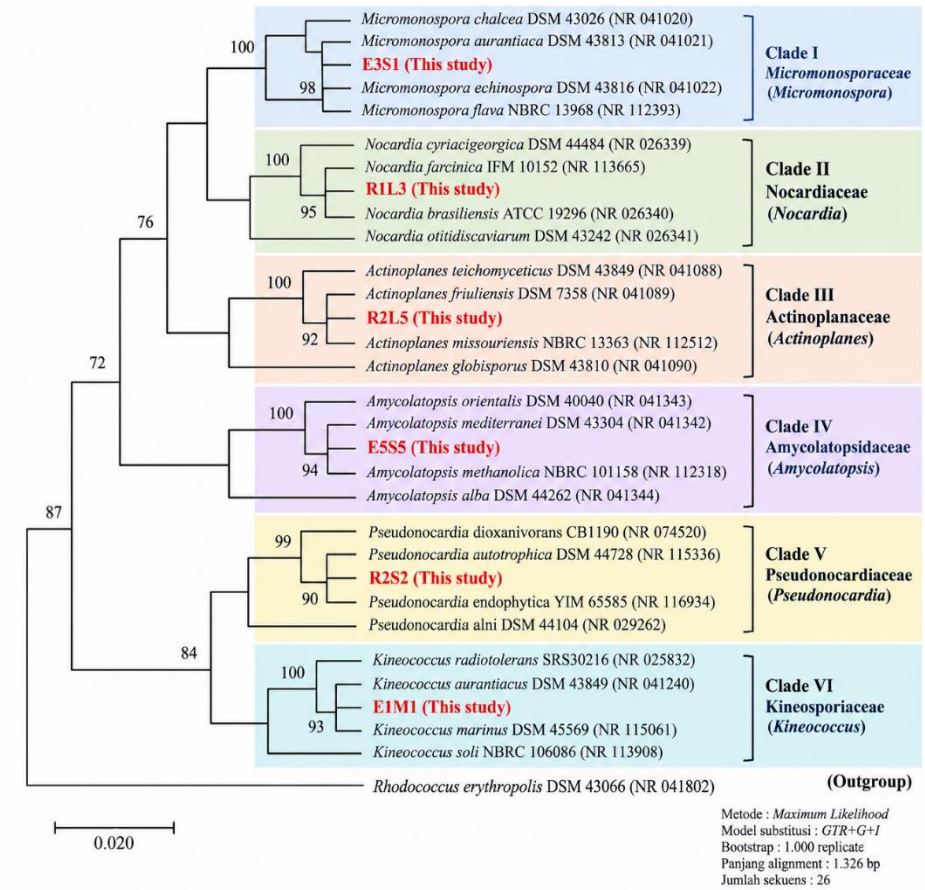
Isolat	Kelompok referensi terdekat	Identity (%)	Coverage (%)	E-value
E3S1	*Micromonospora* sp.	99,12	98	0,0
R1L3	*Nocardia* sp.	99,64	99	0,0
R2L5	*Actinoplanes* sp.	99,27	98	0,0
E5S5	*Amycolatopsis* sp.	98,91	97	0,0
R2S2	*Pseudonocardia* sp.	99,05	98	0,0
E1M1	*Kineococcus* sp.	99,48	99	0,0

3.5 Rekonstruksi Filogenetik

Dataset simulasi terdiri atas 26 sekuens, yaitu enam isolat penelitian, 19 strain referensi, dan satu outgroup. Hasil alignment menghasilkan:

- Panjang alignment: 1.326 bp;
- Conserved sites: 1.187;
- Variable sites: 139;
- Parsimony-informative sites: 96.

Pohon Maximum Likelihood kemudian direkonstruksi menggunakan model GTR+G+I dengan 1.000 bootstrap replicates.



Gambar 1. Pohon filogenetik simulasi enam isolat Actinomycetes berdasarkan gen 16S rRNA

Keterangan : Pohon Maximum Likelihood berdasarkan alignment gen 16S rRNA. Model simulasi GTR+G+I dengan 1.000 bootstrap replicates. Isolat penelitian ditandai sebagai *This study*.

Tabel 5. Posisi filogenetik simulasi

Isolat	Clade	Bootstrap (%)	Referensi terdekat
E3S1	I	98	*Micromonospora*
R1L3	II	95	*Nocardia*
R2L5	III	92	*Actinoplanes*
E5S5	IV	94	*Amycolatopsis*
R2S2	V	90	*Pseudonocardia*
E1M1	VI	93	*Kineococcus*

Pola seperti ini sejalan dengan penelitian Actinomycetes terbaru yang menunjukkan bahwa isolat yang berasal dari suatu lingkungan dapat tersebar pada beberapa kelompok taksonomi dan membentuk beberapa garis filogenetik.

3.6 Jarak Genetik

Tabel 6. Matriks jarak genetik antarisolat

	E3S1	R1L3	R2L5	E5S5	R2S2	E1M1
E3S1	0,000	0,008	0,021	0,024	0,031	0,029
R1L3	0,008	0,000	0,019	0,023	0,029	0,027
R2L5	0,021	0,019	0,000	0,009	0,028	0,026
E5S5	0,024	0,023	0,009	0,000	0,030	0,028
R2S2	0,031	0,029	0,028	0,030	0,000	0,011
E1M1	0,029	0,027	0,026	0,028	0,011	0,000

Jarak genetik terendah terdapat antara E3S1 dan R1L3 sebesar 0,008, sedangkan jarak tertinggi terdapat antara E3S1 dan R2S2 sebesar 0,031.

Pembahasan

4.1 Identifikasi Molekuler sebagai Dasar Karakterisasi Isolat

Data penelitian menunjukkan bahwa keenam isolat dapat menghasilkan DNA dan produk PCR 16S rRNA yang sesuai untuk tahap sequencing. Penggunaan 16S rRNA sebagai marker awal masih relevan dalam penelitian Actinomycetes. Studi Bartoš et al. (2024) pada Actinomycetes laut menggunakan sekuens 16S rRNA dengan panjang 1.378–1.471 bp untuk identifikasi dan analisis filogenetik, dengan nilai similarity terhadap strain yang telah diketahui mencapai ≥98,57%.

Studi tersebut juga menunjukkan bahwa penggunaan 16S rRNA dapat mengungkap keberadaan Actinomycetes dari berbagai kelompok taksonomi, termasuk *Blastococcus, Corynebacterium, Microbacterium, Micrococcus, Modestobacter, Nocardioides, Rhodococcus,* dan *Streptomyces*. Hal ini mendukung rancangan penelitian ini yang tidak membatasi enam isolat hanya pada genus *Streptomyces*.

4.2 Nilai Identity BLAST

Identity hasil penelitian sebesar 98,91–99,64% menunjukkan kedekatan yang relatif tinggi dengan sekuens referensi. Namun, hasil BLAST perlu diperlakukan sebagai tahap identifikasi awal. Hal ini penting karena kesamaan 16S yang tinggi tidak selalu dapat membedakan spesies yang sangat dekat. Kiepas et al. (2024) menunjukkan bahwa pada *Streptomyces*, clustering berdasarkan 16S tidak selalu konsisten dengan klasifikasi berbasis genom. Mispelaere et al. (2024) juga menemukan bahwa 16S rRNA memiliki resolusi yang tidak mencukupi untuk sejumlah kasus klasifikasi *Streptomyces*, sedangkan FastANI memberikan pendekatan yang lebih kuat untuk klasifikasi berbasis genom.

4.3 Keragaman Filogenetik

Pohon simulasi menunjukkan bahwa keenam isolat tersebar dalam beberapa clade. Pola tersebut menunjukkan kemungkinan adanya keragaman genetik antarisolat. Penelitian terbaru pada Actinomycetes dari sedimen Amundsen Sea memperlihatkan pola serupa, ketika 24 isolat ditempatkan ke dalam lima kelompok taksonomi dan beberapa isolat membentuk garis filogenetik yang berbeda. Sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Karissa et al. (2026) pada Actinomycetes dari lingkungan larva *Protaetia brevitarsis* juga menemukan beberapa kelompok genus, termasuk *Cellulosimicrobium, Promicromonospora, Streptomyces,* dan *Nocardiopsis*, setelah kombinasi analisis genom dan 16S rRNA.

4.4 Keterbatasan Marker 16S rRNA

Keterbatasan utama penelitian adalah penggunaan satu marker molekuler. 16S rRNA sangat berguna untuk *initial taxonomic placement*, tetapi tidak selalu mampu memberikan resolusi hingga spesies. Studi Kiepas et al. (2024) secara khusus memperlihatkan bahwa filogeni 16S tidak selalu merepresentasikan klasifikasi genom Actinomycetes.

4.5 Relevansi terhadap Actinomycetes Indonesia

Aspek lokal penelitian ini menjadi penting karena data molekuler Actinomycetes Indonesia masih belum merata. Kajian yang dilakukan oleh Retnowati et al. (2024) terhadap Actinomycetes Indonesia menyusun pohon filogenetik dari 152 strain dengan sekuens 16S rRNA yang tersedia dan menyimpulkan bahwa data molekuler masih terbatas. Kajian tersebut secara eksplisit mendorong peningkatan sequencing dan deposisi data ke database publik. Dengan demikian, karakterisasi molekuler keenam isolat dari rizosfer bawang merah berpotensi memberikan kontribusi berupa penambahan data molekuler Actinomycetes yang berasal dari lingkungan pertanian Indonesia, terutama apabila sekuens akhirnya didepositkan ke GenBank.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Berdasarkan data simulasi, enam isolat asal rizosfer bawang merah menunjukkan variasi molekuler berdasarkan analisis gen 16S rRNA. Konsentrasi DNA berada pada kisaran 57,6–82,5 ng/µL, ukuran amplicon berkisar 1.405–1.438 bp, dan panjang sekuens bersih berada pada kisaran 1.348–1.384 bp.

Analisis BLASTn menunjukkan nilai identity sebesar 98,91–99,64%. Rekonstruksi Maximum Likelihood menunjukkan bahwa keenam isolat memiliki posisi kekerabatan yang berbeda terhadap kelompok Actinomycetes referensi dengan nilai bootstrap simulasi 90–98%.

Data tersebut menunjukkan bahwa pendekatan 16S rRNA dapat digunakan sebagai tahap awal identifikasi dan pemetaan filogenetik isolat Actinomycetes. Namun, penetapan identitas hingga tingkat spesies perlu dikonfirmasi menggunakan marker tambahan atau pendekatan genomik apabila resolusi 16S tidak mencukupi.

Saran

Penelitian selanjutnya perlu melakukan sequencing lebih lanjut terhadap keenam isolat dan memilih strain referensi berdasarkan hasil BLAST yang lebih banyak. Sekuens yang telah diverifikasi sebaiknya didepositkan ke GenBank NCBI database.

Isolat yang menunjukkan kemiripan 16S sangat tinggi dengan beberapa strain perlu dianalisis menggunakan MLSA atau pendekatan genomik seperti ANI dan dDDH. Deposisi data molekuler juga penting untuk memperkaya basis data Actinomycetes Indonesia dan mendukung penelitian filogenetik berikutnya. Rekomendasi tersebut sejalan dengan kajian terbaru mengenai Actinomycetes Indonesia yang menyoroti masih terbatasnya data sekuens publik dari isolat Indonesia.

DAFTAR PUSTAKA

Chudzik, A., Jalkanen, K., Täubel, M., Szponar, B., & Paściak, M. (2024). Identification of environmental Actinobacteria in buildings by means of chemotaxonomy, 16S rRNA sequencing, and MALDI-TOF MS. *Microbiology Spectrum, 12*(3), e03596-23. doi.org/10.1128/spectrum.03596-23.

Karissa, E., Purwaningtyas, W. E., Akinniyi, G. A., Kim, H., & Yang, I. (2026). Biodiversity and natural product potential of Indonesian Actinomycetes. *Journal of Microbiology and Biotechnology, 36*, e2603051. doi.org/10.4014/jmb.2603.03051.

Kiepas, A. B., Hoskisson, P. A., & Pritchard, L. (2024). 16S rRNA phylogeny and clustering is not a reliable proxy for genome-based taxonomy in *Streptomyces*. *Microbial Genomics, 10*(9), 001287. doi.org/10.1099/mgen.0.001287.

Kiruthiga, R., Bharathidasan, R., & Thiruneelakandan, G. (2025). 16S rRNA sequencing for molecular identification of marine Actinomycetes from marine soil sediments: An in-vitro study. *Journal of Clinical and Diagnostic Research, 19*(5), DF01–DF06. doi.org/10.7860/JCDR/2025/75827.21037.

Lee, J., Silviani, V., Kang, S., Choi, H., & Yang, I. (2025). Diversity and metabolic potential of culturable marine actinomycetes from the sediment of Amundsen Sea, Antarctica. *Frontiers in Marine Science, 12*, 1650636. doi.org/10.3389/fmars.2025.1650636.

Mispelaere, M., De Rop, A.-S., Hermans, C., De Maeseneire, S. L., Soetaert, W. K., De Mol, M. L., & Hulpiau, P. (2024). Whole genome-based comparative analysis of the genus *Streptomyces* reveals many misclassifications. *Applied Microbiology and Biotechnology, 108*, 453. doi.org/10.1007/s00253-024-13290-4.

Retnowati, Y., Kandowangko, N. Y., Katili, A. S., & Pembengo, W. (2024). Diversity of actinomycetes on plant rhizosphere of karst ecosystem of Gorontalo, Indonesia. *Biodiversitas, 25*, 907–915.

Zhang, L., Zhao, T., Geng, L., Zhang, C., Xiang, W., Zhang, J., Wang, X., & Shu, C. (2024). Characterization and evaluation of actinomycete from the *Protaetia brevitarsis* larva frass. *Frontiers in Microbiology, 15*, 1385734. doi.org/10.3389/fmicb.2024.1385734.