

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Air Lindi

Air lindi atau (*leachate*) adalah salah satu jenis limbah cair yang mengandung bahan organik tinggi, anorganik serta unsur logam (Abrauw, 2019). Air lindi terbentuk pada tumpukan sampah, dimana tumpukan sampah akan mengalami dekomposisi dan hasil dari dekomposisi sampah tersebut akan meresap pada sampah yang ada sehingga akan menghasilkan cairan yang disebut dengan air lindi. Air lindi memiliki ciri-ciri diantaranya adalah cairan berwarna kuning kecoklatan serta memiliki bau yang menyengat, dimana bau tersebut berasal dari proses dekomposisi yang terjadi sehingga menimbulkan bau anyir serta adanya bau busuk yang berasal dari senyawa amoniak (Rahmi dan Edison, 2019).

Faktor yang mempengaruhi kandungan dalam air lindi diantaranya adalah jenis sampah yang ada, curah hujan serta kondisi spesifik yang lain (Pratiwi dkk., 2022). Hujan yang terjadi di daerah tumpukan sampah juga dapat mengakibatkan air hujan menjadi sarana dalam proses melarutkan bahan-bahan organik, anorganik ataupun unsur logam dari hasil dekomposisi (Rahmi dan Edison, 2019). Dampak dari adanya air lindi yaitu dapat menyebabkan pencemaran udara, dimana lokasi adanya air lindi akan memiliki udara yang kurang mengenakan seperti bau busuk yang menyengat yang dapat mengganggu indra penciuman (Rabbani dkk., 2022). Air lindi yang ada juga bisa merembes ke tanah yang ada di bawahnya, rembesan air lindi yang mengalir pada air tanah dapat mengakibatkan pencemaran pada aliran air terdekat, menyebabkan

pencemaran pada air tanah serta dapat merusak ekosistem lingkungan (Ibrahim dkk., 2023).

B. Logam Berat dan Logam Besi (Fe) dalam Air Lindi

Logam berat merupakan suatu zat pencemar yang berbahaya bagi lingkungan hidup serta makhluk hidup disekitarnya karena sifatnya yang toksik dan tidak terurai secara alami dan biasanya akan terakumulasi pada perairan ataupun di dalam tubuh makhluk hidup (Siringoringo dkk., 2022). Keberadaan logam berat salah satunya dapat diakibatkan karena meningkatnya aktivitas manusia di bidang medis, bisnis, industri ataupun rumah tangga yang berpotensi untuk meningkatkan kontaminasi logam berat di daratan yang kemudian hanyut ke perairan (Sakhtyar dkk., 2023). Logam berat yang terkandung pada air lindi biasanya terdiri dari logam timbal (Pb), besi (Fe), seng (Zn), kobalt (Co), tembaga (Cu), nikel (Ni), krom (Cr), merkuri (Hg), dan cadmium (Cd) (Rachmawati dkk., 2024).

Logam besi (Fe) adalah salah satu logam berat esensial yang diperlukan makhluk hidup dalam jumlah sedikit dan akan menjadi racun apabila jumlahnya melebihi batas minimum (Pramastuti dkk., 2024). Besi yang dibutuhkan oleh makhluk hidup akan membantu proses metabolisme reaksi kimia yang ada pada tubuh organisme maupun mikroorganisme (Alifia dkk., 2023). Besi yang berbentuk ion fero dan feri diserap aktif oleh bakteri serta berfungsi dalam respirasi sel bakteri sebagai kofaktor enzim yang terlibat dalam proses reduksi-oksidasi (Sulastri dan Erlidawati, 2019). Besi berperan dalam metabolisme sebagai suatu zat yang membantu pembentukan sel darah merah serta berfungsi

sebagai sistem imunitas yaitu dengan cara mengaktifkan enzim penyusun antibodi (Alifia dkk., 2023).

Logam besi (Fe) dalam air lindi biasanya bersumber dari materi organik dan anorganik dalam sampah pada serta dari sampah yang mengandung komponen besi seperti dari kaleng atau material industri lainnya (Rachmawati dkk., 2024). Bentuk logam besi (Fe) di lingkungan perairan yaitu berbentuk ion ferro (Fe^{2+}) dan ion ferri (Fe^{3+}). Bentuk ion Fe^{2+} biasanya timbul saat kondisi anaerob atau tanpa oksigen dan biasanya mudah larut dalam air sehingga akan mudah terserap oleh organisme ataupun mikroorganisme serta bersifat toksik sedangkan ion Fe^{3+} biasanya tidak mudah larut sehingga akan terakumulasi dan menjadi sedimen di dasar perairan. Akumulasi dari kandungan tersebut mengakibatkan air akan berwarna kuning kecoklatan dan berbau (Nurjanah dkk., 2025). Tinggi atau rendahnya kadar logam besi (Fe) pada air lindi dapat dilihat dari warnanya, dimana warna air lindi yang kecoklatan memiliki kandungan besi yang tinggi sedangkan warna air yang kekuningan memiliki kadar besi yang lebih rendah (Putra dan Mairizky, 2020).

Logam besi pada air limbah memiliki standar baku mutu sebesar 2 mg/L (Peraturan Daerah Istimewa Yogyakarta, 2016). Kandungan logam besi yang melebihi baku mutu standar dapat menyebabkan berbagai dampak diantaranya adalah pencemaran lingkungan bahkan gangguan kesehatan pada manusia. Kandungan besi yang tinggi dapat mencemari air, dimana air dapat berwarna keruh hingga berwarna kuning. Dampak lainnya yaitu pada udara, dimana air yang mengandung banyak besi dapat menghasilkan bau busuk. Kandungan

tinggi dalam logam besi pun menyebabkan terganggunya kesehatan manusia, seperti terjadinya iritasi pada mata dan kulit, dapat menimbulkan mual apabila dikonsumsi, serta air yang mengandung kandungan besi berlebih dapat merusak dinding usus, merusak hati hingga menyebabkan kematian (Botahala, 2019).

C. Bioremediasi

Bioremediasi merupakan suatu proses mengurangi atau menurunkan polutan yang ada pada lingkungan menggunakan bantuan mikroorganisme. Prinsip bioremediasi adalah remediasi secara biologi yang melibatkan organisme hidup seperti bakteri yang dapat mengurangi kadar polutan atau kadar tinggi polutan menjadi kadar yang lebih rendah (Ethica, 2018). Bioremediasi terdiri dari 2 jenis yaitu bioremediasi *in situ* dan bioremediasi *ex situ*. Bioremediasi *in situ* merupakan proses bioremediasi yang dilakukan secara langsung pada lokasi yang terkena cemaran sedangkan bioremediasi *ex situ* merupakan proses bioremediasi yang memindahkan bahan kontaminan ke lokasi lain untuk penanganan yang lebih lanjut (Waluyo, 2018).

Contoh dari bioremediasi yaitu *bioventing*, *landfarming*, *bioreactor*, *composting*, bioaugmentasi, dan biostimulasi. Bioventing merupakan proses penambahan stimulan pada tanah yang bertujuan untuk menstimulasi aktivitas mikroorganisme, biostimulasi adalah proses untuk menstimulasi aktivitas mikroorganisme indigen pada tanah ataupun air. *Landfarming* adalah proses pencampuran polutan pada tanah tanpa cemaran, pembuatan kompos adalah proses penggunaan mikroorganisme yang bersifat aerob dan tahan terhadap suhu tinggi (Waluyo, 2018).

Contoh penerapan bioremediasi logam berat yaitu bioremediasi logam besi pada air limbah pencucian bijih bauksit dengan bakteri *indigenous*, dimana bakteri *indigenous* genus *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. dapat menurunkan kadar logam besi pada limbah pencucian bijih bauksit (Maulidyana dkk., 2024). Contoh lainnya yaitu bioremediasi logam timbal pada industri daur ulang baterai aki dengan bakteri *indigenous*, dimana bakteri *indigenous* yang mirip dengan genus *Pseudomonas* sp. dan *Bacillus* sp. dapat menurunkan kadar logam timbal dengan presentasi 99,99% (Yulmaniati dkk., 2025). Contoh lainnya yaitu bioremediasi logam timbal pada limbah cair pertambangan emas dengan bakteri *indigenous*, dimana 2 isolat bakteri yang mirip dengan genus *Micrococcus* sp. dan *Pseudomonas* sp. dapat menurunkan kandungan logam berat timbal dengan presentase 91,27% untuk *Micrococcus* sp. dan 85,6% untuk *Pseudomonas* sp. (Nurchayani dkk., 2024).

Kelebihan dari bioremediasi yaitu biaya yang digunakan lebih hemat, lebih mudah dilakukan, lebih ramah lingkungan karena cenderung tidak meninggalkan bahan yang berbahaya ke lingkungan (Waluyo, 2018). Penguraian terjadi secara alami, dimana jumlah mikroba akan meningkat ketika sedang terjadi proses penguraian dan jumlah akan menurun ketika proses berakhir serta menghasilkan produk akhir yang aman yaitu air dan CO₂ dan merupakan metode yang cocok dikombinasikan dengan perlakuan lain sehingga dapat meningkatkan penurunan polutan (Hidayat dan Siregar, 2017). Kekurangan dari bioremediasi yaitu tidak semua polutan atau bahan pencemar dapat dilakukan bioremediasi, pengamatan yang dilakukan harus teliti dan tahapan remediasi

dilakukan pada tempat yang khusus (Wignyanto, 2020). Kekurangan lainnya adalah membutuhkan waktu yang cukup lama apabila dibandingkan dengan metode lain dan membutuhkan perencanaan yang matang apabila mengaplikasikan bioremediasi karena pengaplikasian di suatu lokasi dapat berbeda dengan lokasi lain (Hidayat dan Siregar, 2017).

Faktor yang mempengaruhi bioremediasi diantaranya adalah lokasi bioremediasi, temperatur, oksigen, nutrisi, mikroba, dan interaksi antar polutan. Faktor lokasi bioremediasi, dimana jenis tanah dan materi lain dapat memperlancar mengalirnya nutrisi untuk mikroba sehingga aktivitas mikroba dapat terlaksana secara optimal, faktor temperatur, dimana suhu optimal untuk degradasi hidrokarbon adalah 30-40°C akan tetapi tetap menyesuaikan dengan jenis mikroba yang digunakan, faktor oksigen, dimana kadar oksigen yang cukup dapat membantu mikroorganisme untuk menguraikan bahan organik karbon dengan baik. Faktor nutrisi, dimana pertumbuhan mikroba membutuhkan nutrisi sebagai sumber energi untuk dapat menyusun enzim yang dibutuhkan untuk memecahkan bahan pencemar, faktor mikroba, dimana mikroba adalah faktor keberhasilan yang utama pada proses bioremediasi dan mikroba yang digunakan akan menguraikan bahan pencemar serta faktor lingkungan mikroba sangat penting sehingga harus diperhatikan, faktor interaksi antar polutan, dimana pada proses bioremediasi jangan sampai terjadi kometabolisme yaitu terjadinya transformasi senyawa secara tidak langsung antar mikroba (Wignyanto, 2020).

D. Bakteri *Indigenous*

Bakteri *indigenous* adalah jenis bakteri alami yang diambil dari habitatnya

secara langsung. Bakteri *indigenous* seringkali menjadi agen bioremediasi pada lahan yang sudah tercemar atau sulit terdegradasi. Beberapa cara mikroba atau bakteri *indigenous* dalam mengurangi adanya kandungan logam berat atau polutan di suatu lingkungan adalah dengan cara detoksifikasi atau biopresipitasi, biohidrometalurgi, *bioleaching* serta bioakumulasi (Romadhon dkk., 2023).

Peran bakteri *indigenous* dalam bioremediasi yaitu untuk mendegradasi polutan, biostimulasi, biodegradasi senyawa kompleks, stabilisasi logam berat, dan resistensi terhadap lingkungan yang ekstrem. Peran mendegradasi polutan, dimana bakteri *indigenous* akan menghasilkan enzim serta metabolit yang berfungsi untuk mendegradasi polutan seperti logam berat, minyak ataupun senyawa organik berbahaya menjadi bentuk yang lebih aman. Peran biostimulasi, dimana bakteri *indigenous* dapat meningkatkan pertumbuhan bakteri lain yang lebih efektif untuk mengurangi polutan dengan cara pemberian tambahan nutrient atau membuat kondisi lingkungan yang sesuai untuk pertumbuhan mikroba tersebut.

Peran biodegradasi senyawa kompleks, dimana polutan seperti hidrokarbon aromatik polisiklik dapat lebih diuraikan oleh bakteri *indigenous* karena bakteri tersebut sudah beradaptasi pada lingkungan tersebut dan lebih bisa untuk mendegradasi dibandingkan dengan bakteri non-*indigenous*. Bakteri *indigenous* juga berperan dalam mengurangi kandungan logam berat dengan mengubahnya menjadi lebih aman atau lebih stabil, serta bakteri *indigenous* dapat lebih bertahan hidup pada lingkungan yang ekstrem seperti suhu yang tinggi atau dalam kondisi yang tidak mendukung pertumbuhannya (Romadhon

dkk., 2023). Bakteri *indigenous* memiliki keunggulan dimana kemampuan pengikatan polutan yang dimiliki lebih tinggi dibandingkan dengan bakteri non *indigenous*, karena bakteri *indigenous* sudah mengalami proses di habitat tertentu dalam waktu yang cukup lama (Yazid, 2014).

Bakteri yang biasanya digunakan dalam proses biodegradasi limbah yaitu *Bacillus*, *Cellulomonas*, *Clostridium*, *Cytophage*, *Polyangium*, *Pseudomonas*, *Sporocytophaga*, *Enterobacter*, dan *Corynebacterium* (Waluyo, 2018). *Bacillus* sp. merupakan salah satu genus bakteri yang berbentuk batang, bersifat aerob, termasuk jenis Gram positif, memiliki diameter 1,2-1,5 μm dengan panjang 2,0-2,4 μm , motil endospore, memiliki suhu pertumbuhan 3°C - 45°C dengan suhu optimumnya sebesar 30°C, dan bakteri ini tahan terhadap lingkungan yang ekstrim (Risnawati, 2013). Bakteri genus ini termasuk bakteri yang resisten terhadap logam Hg, Pb, Cu, Fe dan Cd sehingga bakteri ini dapat berperan sebagai bakteri pendegradasi logam (Inggraini, 2017).

Bakteri memiliki kekhasannya masing-masing. *Pseudomonas* sp. biasanya memiliki aroma yang khas seperti anggur, keripik tortila atau permen karet rasa buah dan terdapat strain yang menghasilkan pigmen biru kehijauan dalam jumlah yang cukup banyak (Delost, 2015). *Bacillus* sp. biasanya memiliki pembentukan endospora dengan koloni yang terlihat kering (Yunilas, 2022). *Enterobacter* sp. biasanya memiliki permukaan koloni yang berlendir atau mukoid (Parija, 2009).

Bacillus sp. merupakan bakteri yang menghasilkan spora yang biasanya tahan terhadap panas, memiliki sifat aerob. Karakteristik warna pada koloni

Bacillus sp. memiliki warna krem keputihan dan beberapa strain dapat berwarna oranye, hitam ataupun kuning serta bakteri ini memiliki bentuk koloni yang bulat serta tidak beraturan. Bakteri *Bacillus* sp. memiliki waktu inkubasi selama 24-48 jam (Yunilas, 2022). *Bacillus* sp. memiliki tepian rata, elevasi datar hingga cembung serta berwarna putih (Adistya dkk., 2024). *Bacillus* sp. memiliki tekstur seperti mentega (*butyrous*), berlendir (*mucoid*) ataupun kering, memiliki hasil uji katalase positif dengan hasil uji oksidase bervariasi, dapat mereduksi nitrat menjadi nitrit, dapat memfermentasi karbohidrat seperti glukosa dan karbohidrat lainnya (De Vos dkk., 2009).

Pseudomonas sp. adalah salah satu genus bakteri yang termasuk bakteri Gram negatif. Habitat bakteri ini banyak ditemukan di tanah serta perairan. Bakteri ini memiliki bentuk batang atau kokus, aerob obligat, motil, memiliki pH pertumbuhan 5-8 (Suyono dan Salahudin, 2011). Bakteri *Pseudomonas* sp. merupakan salah satu bakteri yang resisten terhadap logam berat yang ada pada lingkungan (Rahayu dan Mangkoedihardjo, 2022). *Pseudomonas* sp. yang tumbuh dalam koloni agar biasanya memiliki ukuran yang besar, menyebar, berwarna keabu-abuan dengan pusat gelap, transparan, memiliki tepi yang tidak teratur. *Pseudomonas* sp. tidak memproduksi indol, dapat mereduksi nitrat menjadi nirit dan nitrogen, tidak memfermentasi karbohidrat seperti glukosa, laktosa dan sukrosa, dapat tumbuh secara aktif pada suhu 37-42 °C (De Vos dkk., 2009).

Enterobacter merupakan bakteri Gram negatif, bersifat fakultatif anaerob, motil, berbentuk batang, tidak membentuk spora. Bakteri ini dapat tumbuh pada

suhu 4-37 °C akan tetapi memiliki suhu tumbuh yang optimal pada 35 °C dan 37 °C. *Enterobacter* memiliki hasil positif pada katalase, negatif pada aktivitas oksidase. Koloni bakteri *Enterobacter* berbentuk bulat, berwarna putih, dapat ditembus cahaya, halus, dapat diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C dalam agar bernutrisi. Bakteri ini memiliki hasil negatif pada uji pembentukan indol serta aktivitas urease serta memiliki hasil positif pada uji fermentasi glukosa, fruktosa dan sukrosa (Wu dkk., 2020). Bakteri *Enterobacter* memiliki hasil positif untuk uji reduksi nitrat (Lantang, 2023).

E. Isolasi Bakteri *Indigenous*

Isolasi bakteri merupakan tahapan untuk menghasilkan biakan murni (Anbari dkk., 2022). Isolasi bakteri bertujuan untuk memisahkan mikroba dari habitat aslinya kemudian ditumbuhkan kembali sehingga menghasilkan biakan murni (Hanum dan Yurliasni, 2022). Sampel akan ditumbuhkan dalam media universal ataupun media selektif. Bakteri dapat tumbuh dengan baik hampir pada semua media kultur, adapun beberapa bakteri membutuhkan media kultur khusus untuk pertumbuhannya. Bakteri yang tumbuh di atas media kultur tersebut disebut dengan inokulum (Purwaning dan Triasih, 2017).

Isolasi bakteri dapat dilakukan dengan beberapa metode yaitu metode *spread plate* (metode sebar), metode *pour plate* (metode tuang) dan metode *streak plate* (metode gores). Metode *spread plate* merupakan metode isolasi mikroba yang dilakukan dengan cara kultur mikroba diinokulasikan dengan cara disebarkan pada permukaan media agar yang sudah menjadi padat. Pengenceran

bertahap dapat dilakukan pada sampel sebelum tahapan inokulasi, karena jumlah mikroba dalam sampel umumnya belum diketahui jumlahnya sehingga dengan adanya pengenceran itu dapat mengandung 30-300 koloni bakteri. Langkah yang dilakukan dalam metode *spread plate* adalah dibuat pengenceran bertingkat terlebih dahulu, kemudian tabung reaksi yang berisi kultur bakteri dibuka dan difiksasi dengan bunsen setelah itu sebanyak 0,1 mL kultur diinokulasikan secara aseptis pada media NA pada cawan petri kemudian drigalski difiksasi dan kultur bakteri disebarkan secara merata. Permukaan media NA ditunggu hingga mengering dan setelah itu cawan petri diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian pertumbuhan koloni bakterinya diamati (Hanum dan Yurliasni, 2022).

Metode *pour plate* dilakukan dengan cara mencampurkan kultur bakteri sebanyak 1 mL dengan media padat seperti medium *nutrient agar* yang masih cair sebagai tempat hidup mikroorganisme yang hendak ditumbuhkan pada cawan petri. Cawan petri goyangkan perlahan agar medium dan kultur bakteri dapat tercampur rata kemudian diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam sehingga setiap sel akan tumbuh di atas permukaan serta di dalam media agar kemudian koloni tersebut dapat dilihat dan dihitung dengan mata secara langsung. Pengenceran sampel dapat dilakukan pada metode ini karena apabila tidak dilakukan pengenceran maka jumlah bakteri akan terlalu banyak atau bahkan *spreader* sehingga tidak dapat dihitung (Harmita dan Radji, 2006).

Metode *streak plate* digunakan untuk mengisolasi koloni mikroba yang sudah tumbuh pada medium agar sehingga koloni akan terpisah dan didapatkan

biakan murni. Metode ini dilakukan dengan cara jarum ose digoreskan pada permukaan media agar yang telah ditumbuhi oleh kultur mikroba kemudian jarum ose digoreskan kembali pada media agar yang telah mengeras dalam cawan petri. Jarum ose yang akan digoreskan pada kuadran berikutnya harus difiksasi terlebih dahulu agar tidak terkontaminasi kemudian cawan petri diinkubasi dengan posisi terbalik pada suhu 37°C selama 24 jam.

Cawan petri yang sudah diinkubasi akan menghasilkan koloni bakteri sesuai dengan goresan yang telah digoreskan dan akan menghasilkan koloni yang terpisah, apabila ada bakteri yang memiliki flagela dapat membentuk koloni yang menyebar. Permukaan agar tidak boleh basah untuk mencegah tumbuhnya koloni yang menyebar dan tidak sesuai dengan goresan sehingga cawan petri yang berisi medium agar harus dipastikan kering permukaannya (Hanum dan Yurliasni, 2022). Metode *streak plate* biasanya digunakan untuk subkultur bakteri karena pertumbuhan bakteri akan lebih merata pada sepanjang garis yang dibuat di atas medium ketika inokulasi sehingga akan meminimalisir kesalahan ketika pengamatan (Pakadang, 2024).

Total Plate Count atau TPC merupakan metode yang digunakan untuk menghitung koloni bakteri yang tumbuh. Prinsip dari TPC adalah sampel diinokulasikan pada media padat dan koloni yang tumbuh dapat diamati serta dihitung (Astuti dkk., 2022). Perhitungan koloni bakteri dilakukan pada koloni yang tumbuh dipermukaan maupun yang ada dalam agar, dimana koloni bakteri dihitung pada memiliki kisaran 30-300 koloni saja dan setiap koloni akan mewakili turunan dari sel tunggal. Koloni pada cawan yang memiliki kurang

dari 30 koloni akan dicatat sebagai terlalu sedikit atau *too few to count* (TFTC), karena jumlah tersebut akan menghasilkan perhitungan yang kurang teliti secara statistik sedangkan koloni yang lebih dari 300 koloni akan dicatat sebagai terlalu padat untuk dihitung atau *too numerous to count* (TNTC) (Harmita dan Radji, 2006).

Purifikasi bakteri merupakan proses pemurnian bakteri dari hasil isolasi bakteri yang sebelumnya telah dilakukan. Purifikasi bakteri dilakukan dengan mengamati morfologi koloni bakteri yang sudah tumbuh pada media NA terlebih dahulu kemudian koloni bakteri yang terpilih siap untuk dimurnikan. Koloni bakteri diambil dengan ose dan digoreskan pada medium *nutrient agar* pada cawan petri. Cawan petri kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Purifikasi koloni bakteri dilakukan berulang sampai koloni tumbuh terpisah dimana proses tersebut mengindikasikan bahwa tunggal atau koloni murni sudah didapatkan (Satoto dkk., 2023).

F. Identifikasi dan Karakterisasi Bakteri *Indigenous*

Morfologi Koloni Bakteri adalah suatu metode yang bertujuan untuk menggambarkan ciri atau karakteristik dari suatu bakteri yang tumbuh pada agar dalam cawan petri yang sudah diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Cawan petri tersebut akan menghasilkan koloni bakteri yang berbeda seperti terdapat koloni yang berwarna, berbentuk lingkaran ataupun tidak beraturan (Sopandi dan Wardah, 2020). Karakterisasi morfologi koloni bakteri dapat dilihat secara makroskopik maupun mikroskopik yaitu bentuk dari koloni bakteri, tepi koloni bakteri, warna koloni, jenis gram bakteri, serta bentuk sel bakteri (Mulyani dkk.,

2021).

Uji biokimia merupakan suatu metode pengujian yang bertujuan untuk mengetahui karakteristik metabolisme dari bakteri berdasarkan dari aktivitas enzimatik, kemampuan dalam memfermentasi substrat, menghasilkan enzim tertentu serta kemampuan dalam memecahkan senyawa kompleks. Uji biokimia terdiri dari uji fermentasi gula yaitu glukosa, sukrosa dan laktosa, uji indol, dan uji katalase (Ardiyantoro dkk., 2025). Kelebihan dari uji biokimia adalah dapat mengidentifikasi bakteri berdasarkan reaksi enzimatik serta metabolisme bakteri, biayanya relatif murah dibandingkan dengan metode molekuler sehingga dapat dilakukan dalam lab dengan sumber daya yang terbatas, memiliki tata cara pelaksanaan yang mudah dan sederhana karena tidak menggunakan peralatan yang canggih. Kekurangan dari uji biokimia sendiri adalah waktu pelaksanaan yang relatif lama karena membutuhkan waktu untuk inkubasi bakteri selama 24 jam ataupun lebih, hasil dari uji biokimia dapat kurang tepat apabila ada kesalahan dalam inokulasi, media yang kurang optimal atau bahkan dikarenakan adanya kontaminasi (Ardiyantoro dkk., 2025).

Uji fermentasi karbohidrat berfungsi untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk memfermentasi karbohidrat dengan berbagai jenis gula yaitu glukosa, sukrosa dan laktosa sebagai mediumnya. Isolat bakteri akan diinokulasikan pada medium gula kemudian akan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positifnya adalah akan terbentuk warna kuning pada medium dan timbulnya gelembung gas pada tabung durham Hasil negatifnya adalah tidak adanya perubahan warna medium dan tidak ada gelembung gas

(Nuryanti dkk., 2021).

Uji reduksi nitrat merupakan uji yang bertujuan untuk mengetahui kemampuan bakteri untuk mereduksi nitrat menjadi nitrit. Hasil positif dari uji reduksi nitrat adalah ditandai dengan adanya perubahan medium yang berwarna merah yang menunjukkan adanya aktivitas reduksi nitrat. Hasil negatifnya adalah tidak ada perubahan warna setelah ditetesi dengan reagen asam sulfanilat dan reagen alfa naftilamin (Mulyani dkk., 2021).

Uji pembentukan indol adalah uji yang memiliki tujuan untuk mengetahui kemampuan mikroorganisme dalam memecahkan triptofan asam amino menjadi senyawa indol. Hasil positif uji pembentukan indol adalah akan terbentuk cincin berwarna merah pada permukaan medium setelah medium diberi 3-5 tetes reagen Erlich. Hasil negatifnya adalah tidak terbentuk cincin atau warna merah setelah ditetesi dengan reagen (Fadilah dkk., 2022).

Uji katalase adalah uji yang memiliki tujuan untuk mengetahui apakah mikroorganisme dapat memecah H_2O_2 menjadi oksigen. Hasil positifnya adalah apabila pada gelas benda terdapat gelembung setelah ditetesi H_2O_2 3%. Gelembung gas tersebut merupakan hasil dari degradasi H_2O_2 oleh enzim katalase dimana enzim katalase akan mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen sedangkan hasil negatifnya adalah tidak terbentuk gelembung gas (Fadilah dkk., 2022).

Pengecatan Gram adalah salah satu metode yang digunakan dalam karakterisasi bakteri dan berdasarkan pewarnaan Gram bakteri terbagi menjadi 2 yaitu bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif. Bakteri Gram positif

adalah bakteri yang memiliki dinding sel peptidoglikan yang tebal serta tidak mengandung lapisan lipopolisakarida. Bakteri Gram positif akan mempertahankan warna ungu dari kristal violet meskipun dibilas dengan alkohol dan diwarnai kembali dengan safranin. Contoh bakteri Gram positif adalah *Clostridium perfringens*, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* (James dkk., 2008).

Bakteri Gram negatif adalah bakteri yang memiliki dinding sel peptidoglikan tipis serta dilapisi oleh lapisan lipopolisakarida. Bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna ungu dari kristal violet sehingga ketika dibilas dengan alkohol kemudian diwarnai kembali dengan safranin hasil preparat akan berwarna merah. Contoh bakteri Gram negatif adalah *Escherichia coli* dan *Pseudomonas aeruginosa* (James dkk., 2008).

G. Kurva Pertumbuhan Bakteri

Kurva pertumbuhan bakteri adalah kurva yang menggambarkan fase hidup bakteri yang dapat digunakan untuk mengamati adanya pertumbuhan sel serta lingkungan yang mempengaruhi kecepatan dari pertumbuhan sel bakteri. Kurva pertumbuhan bakteri dilakukan dengan mengisolasi bakteri hingga terbentuk biakan murninya (Radiati dkk., 2019). Kurva pertumbuhan bakteri terdiri dari 4 fase yaitu fase lag, fase eksponensial, fase stasioner, dan fase kematian (Senatang, 2023).

Fase lag merupakan fase dimana bakteri akan beradaptasi dengan lingkungan yang baru dan dalam fase ini pertumbuhan bakteri belum terjadi sehingga kurva pertumbuhan biasanya akan mendatar. Fase eksponensial

merupakan fase dimana adanya peningkatan aktivitas dan pertumbuhan bakteri terjadi dengan sangat cepat, yang dipengaruhi oleh faktor sifat bakteri terhadap lingkungan yang ada serta media pertumbuhannya sehingga kurva yang dihasilkan akan meningkat. Fase stasioner merupakan fase dimana adanya keseimbangan antara pertumbuhan bakteri dengan kematian bakteri sehingga kurva yang terbentuk akan mendatar. Fase kematian yaitu fase dimana pertumbuhan bakteri akan berhenti atau adanya peningkatan laju kematian bakteri (Senatang, 2023).

Kurva pertumbuhan bakteri diukur menggunakan Spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 600 nm. Panjang gelombang 600 nm digunakan karena merupakan panjang gelombang optimal untuk mengukur kekeruhan dari suspensi bakteri (Risna dkk., 2022). Spektro UV-Vis memiliki prinsip pengiriman cahaya dari sumbernya melalui sampel cairan yang akan mendeteksi cahaya yang muncul dari sisi lain. Cahaya yang terserap oleh sampel akan memberi informasi mengenai konsentrasi senyawa dalam sampel tertentu (Luthfiyana dkk., 2025).

H. Hipotesis

1. Tiga genus bakteri yang dominan yang mampu mendegradasi logam Fe pada air lindi adalah *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp. dan *Enterobacter* sp..
2. Kadar logam Fe pada air lindi setelah dilakukan bioremediasi dengan bakteri *indigenous* adalah cenderung menurun dari kadar awal logam Fe.