

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar belakang

Logam kromium adalah unsur yang dapat terbentuk secara alami, dapat ditemukan di bebatuan, hewan, tumbuhan, dan tanah (Wilbur dkk., 2012). Selain itu, logam kromium dapat dilepaskan dari kegiatan industri yang menggunakan kromium seperti industri kerajinan kulit, industri tekstil, *electroplating*, dan pembuatan produk lainnya yang berbasis logam kromium. Industri kerajinan kulit menggunakan proses penyamakan kulit untuk membuat produknya, hal tersebut dilakukan untuk membuat kulit hewan yang masih mentah menjadi lebih tahan terhadap mikroorganisme sehingga menambah nilai jual dari kulit tersebut karena dapat dibuat menjadi berbagai produk seperti tas, dompet, sepatu, dan kerajinan tangan lainnya (Khuzaimah & Astuti, 2022). Untuk membuat kulit menjadi tahan lama digunakan bahan kimia seperti kapur, natrium sulfida, ammonium sulfat, garam dapur, asam sulfat, dan kromium yang menyebabkan limbah dari penyamakan kulit tergolong berbahaya serta dapat menyebabkan pencemaran pada tanah maupun air (Gupta dkk., 2013; Kuncoro & Soedjono, 2022).

Logam kromium yang berlebih akan menyebabkan efek karsinogenik, senyawa tersebut menimbulkan resiko kesehatan pada manusia, tumbuhan, dan hewan, sifat karsinogenik tersebut membuat *United States Environment Protection Agency* (USEPA) menetapkan logam kromium sebagai polutan prioritas atau polutan kelas A (Mythili & Karthikeyan, 2011). Terdapat beberapa bentuk kromium yang biasa ditemukan seperti kromium (0), kromium trivalen ((Cr(III))), dan kromium heksavalen ((Cr(VI))), dari ketiga jenis kromium tersebut yang memiliki tingkat bahaya tertinggi yaitu Cr(VI) karena dapat menembus sel dan mobilisasi nya lebih tinggi jika dibandingkan dengan jenis kromium lainnya (Arsyadi & Khusnuryani, 2016; Suparman & Retnaningrum, 2023). Cr(VI) mampu memengaruhi pH tanah serta aktivitas enzim yang dapat membuat kesuburan tanah menjadi berkurang, kematian mikroorganisme tanah yang tidak toleran terhadap Cr(VI), pertumbuhan tanaman terhambat, dan terakumulasi dalam jaringan dan organ hewan (Yan dkk., 2023).

Upaya yang dapat dilakukan untuk mengurangi kromium dari industri penyamakan kulit adalah dengan mengelola limbah tersebut sebelum dibuang ke lingkungan, metode yang digunakan untuk mengurangi limbah tersebut pun harus efektif dan ramah lingkungan supaya tidak menimbulkan permasalahan baru. Bioremediasi dapat menjadi salah satu alternatif untuk mengatasi limbah logam kromium. Bioremediasi merupakan proses penguraian senyawa berbahaya menjadi lebih aman terhadap lingkungan menggunakan organisme maupun mikroorganisme (Rahayu & Mangkoedihardjo, 2022). Penggunaan mikroorganisme sebagai agen bioremediasi logam krom pada lingkungan tidak akan menimbulkan efek samping karena mikroorganisme yang digunakan mampu bertahan hidup di lingkungan yang telah tercemar oleh logam kromium. Mikroorganisme memiliki kemampuan untuk mendetoksifikasi logam kromium sehingga dapat tetap bertahan hidup (Arsyadi & Khusnuryani, 2016).

Bakteri yang biasa ditemukan di alam mampu untuk bertahan hidup di lingkungannya masing-masing. Pada lingkungan yang tercemar, masih ada bakteri yang dapat bertahan hidup karena bakteri tersebut memiliki proses metabolisme yang mampu untuk memanfaatkan bahan pencemar di lingkungannya sebagai sumber nutrisi (Fatwa dkk., 2021). Tanah memiliki peran penting sebagai tempat pertumbuhan bakteri karena mampu menyediakan lingkungan yang ideal bagi perkembangan berbagai mikroorganisme. Bakteri yang diisolasi dari tanah tercemar logam kromium mampu mengurangi konsentrasi logam kromium hingga 99,77%, bakteri tersebut teridentifikasi sebagai *Stenotrophomonas maltophilia* dan *Brucella intermedius* (Chen dkk., 2022). Bakteri *Proteus* (22,54%) dan *Micrococcus* (21,54%) mampu mereduksi logam kromium (Suparman & Retnaningrum, 2023). *Citrobacter freundii* dapat menjadi agen bioremediasi logam kromium, tembaga, seng, nikel, dan kadmium (Sharma & Fulekar, 2009; Divyasree & Subramanian, 2014; Mohseni et al., 2014). Masih banyak bakteri lainnya yang resisten dan dapat mereduksi logam kromium seperti *Kurthia gibsonii*, *Acinetobacter schindleri*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Exigubacterium profundum*, *Rhodococcus sp.*, dan *Bacillus sp* (Ahsan dkk., 2024).

Campuran dari beberapa jenis bakteri biasa disebut juga sebagai konsorsium, penggunaan konsorsium sebagai agen bioremediasi logam kromium

dapat menjadi lebih efektif jika dibandingkan dengan biakan bakteri tunggal. Adanya beberapa jenis bakteri yang digunakan dapat membuat lebih banyak proses metabolik untuk bertahan hidup pada lingkungan yang tercemar sehingga dapat meningkatkan proses degradasi yang terjadi (Rahayu & Mangkoedihardjo, 2022). Penelitian oleh Panneerselvam dkk. (2013) menguji potensi konsorsium *Bacillus endophyticus*, *Micrococcus paraoxydans*, dan *Bacillus simplex* untuk mengurangi kontaminan Cr(VI), konsorsium bakteri terbukti lebih efektif untuk mendetoksifikasi Cr(VI) dibandingkan dengan isolat tunggal, konsorsium tiga bakteri mampu mereduksi Cr(VI) 50% dari konsentrasi awal 100 ppm lebih cepat yaitu $8,45 \pm 0,29$ jam, sedangkan kemampuan reduksi Cr(VI) oleh masing-masing isolat tunggal membutuhkan waktu yang lebih lama yaitu $115,5 \pm 5,38$ jam; $53,30 \pm 1,87$ jam; dan $57,75 \pm 3,08$ jam. Selain itu, pada penelitian Dave & Bhatt (2018), konsorsium *Alcaligenes* sp., *Providencia* sp., *Enterococcus* sp., dan *Pseudomonas* sp. toleran dan mampu mereduksi Cr(VI).

Identifikasi bakteri yang resisten kromium dan berpotensi untuk mengurangi kromium diperlukan supaya bakteri tersebut dapat dimanfaatkan secara optimal, baik untuk penelitian ataupun untuk diaplikasikan secara langsung pada limbah penyamakan kulit. Identifikasi bakteri yang biasa digunakan, yaitu secara biokimia, bakteri diidentifikasi berdasarkan reaksi metaboliknya terhadap substrat tertentu. Akan tetapi, identifikasi bakteri menggunakan metode fenotipe seperti pengamatan morfologi dan uji biokimia dianggap kurang akurat karena hanya dilihat dari sifat fenotipe yang dapat menyebabkan kesalahan identifikasi (Nugraha, 2019). Identifikasi bakteri berbasis molekuler menggunakan penanda genetik (*marker*) memiliki tingkat sensitivitas dan spesifisitas yang lebih tinggi, *marker* adalah *conserved gen* yang mengandung satu atau lebih *hypervariable regions* yang digunakan untuk membedakan garis keturunan. Karakteristik yang harus dimiliki dari *marker* bakteri yaitu merupakan *housekeeping gen* yang terdapat pada semua spesies bakteri, memiliki tingkat polimorfisme yang tinggi agar dapat membedakan spesies bakteri yang berbeda, dan memiliki beberapa *conserved region* yang tinggi sehingga memudahkan primer untuk mengamplifikasi *marker* tersebut dengan PCR (Pérez-Cobas dkk., 2020). Gen 16S rRNA memiliki *hypervariable region* dan *conserved region*, gen ini sangat universal pada bakteri karena dapat digunakan

untuk mengidentifikasi berbagai jenis bakteri dari tingkat filum hingga spesies (Liu dkk., 2012). *Marker gen* lainnya seperti *rpoB*, *gyrB*, *dnaK*, *dsrA*, *recA*, dan lain-lain dapat digunakan untuk mengidentifikasi bakteri, akan tetapi tidak cukup *conserved* untuk digunakan sebagai *marker* universal dan hanya dapat menargetkan sebagian kecil komunitas bakteri, maka dari itu identifikasi bakteri menggunakan gen 16S rRNA menjadi pilihan tepat karena lebih efisien dan akurat (Lewaru dkk., 2012; Vos dkk., 2012). Bakteri yang didapatkan dari perairan Laut Dumai berhasil teridentifikasi oleh Fatwa dkk. (2021) menggunakan gen 16S rRNA, bakteri tersebut memiliki nilai homologi sebesar 93% terhadap bakteri *Bacillus paramycooides*. Selain itu juga penelitian yang dilakukan oleh Lewaru dkk. (2012) menggunakan identifikasi molekuler dengan gen 16S rRNA berhasil mengidentifikasi isolat bakteri dari air sungai yang tercemar limbah industri tekstil, ditemukan bahwa bakteri yang resisten bahkan mampu mereduksi logam Cr(VI) adalah *Bacillus thuringiensis* dan *Staphylococcus arlettae*.

Sebelumnya telah dilakukan penelitian mengenai bioremediasi logam kromium menggunakan konsorsium bakteri yang diisolasi dari tanah yang tercemar limbah penyamakan kulit di daerah Sukaregang, Kabupaten Garut yang dilakukan oleh Aziema (2024) dan Apriliani (2024). Pada kedua penelitian tersebut identifikasi bakteri yang resisten kromium dilakukan menggunakan uji biokimia. Teridentifikasi lima genus bakteri yaitu *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Bacillus*, *Azotobacter*, dan *Micrococcus*. Dari kelima jenis genus bakteri tersebut dibuat beberapa konsorsium bakteri untuk menguji kemampuan *bioremoval* konsorsium bakteri *indigenous* dalam mengurangi logam kromium, Aziema (2024) menggunakan lima isolat bakteri dan pengurangan satu bakteri di setiap formula konsorsium, sedangkan Apriliani (2024) menggunakan kombinasi dua jenis bakteri untuk masing-masing konsorsiumnya. Kemampuan *bioremoval* logam kromium tertinggi pada penelitian tersebut adalah dengan lima jenis konsorsium yaitu *Pseudomonas*, *Citrobacter*, *Bacillus*, *Azotobacter*, dan *Micrococcus* dengan persentase *bioremoval* sebesar 49,03% serta kombinasi antara *Micrococcus* dan *Pseudomonas* dengan persentase *bioremoval* sebesar 30,78%.

Pada penelitian ini digunakan tiga jenis bakteri yang diisolasi dari tanah tercemar limbah penyamakan kulit di daerah Sukaregang, Kabupaten Garut dengan

proses identifikasi bakteri yang dilakukan berdasarkan aktivitas biokimia dan gen 16S rRNA agar dapat mengidentifikasi spesies bakteri secara lebih akurat dibandingkan hanya dengan menggunakan uji biokimia. Formula konsorsium yang akan digunakan dalam penelitian ini terdiri dari tiga jenis bakteri dan pengurangan satu bakteri di setiap formula konsorsium. Pengurangan satu bakteri dari setiap kombinasi dilakukan untuk melihat seberapa besar kemampuan bakteri tersebut dalam memengaruhi persentase pengurangan Cr(VI) oleh konsorsium. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis kemampuan kombinasi formula dari konsorsium bakteri yang berpotensi sebagai agen bioremediasi logam kromium secara *in vitro*.

1.2 Rumusan masalah

Berdasarkan latar belakang yang sudah dijelaskan, maka rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut: “Bagaimana potensi formula konsorsium bakteri sebagai agen bioremediasi logam kromium?”.

1.3 Pertanyaan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah tersebut, maka diajukan beberapa pertanyaan penelitian sebagai berikut:

1. Bakteri apa saja yang teridentifikasi berdasarkan gen 16S rRNA dan uji aktivitas biokimia?
2. Bagaimana interaksi bakteri dalam konsorsium pada masing-masing formula?
3. Bagaimana potensi formula konsorsium bakteri dalam bioremediasi kromium secara *in vitro* berdasarkan persentase pengurangan Cr(VI) oleh konsorsium?

1.4 Batasan Masalah

Ruang lingkup batasan masalah pada penelitian ini meliputi:

1. Isolat bakteri yang digunakan sebagai penyusun konsorsium dalam penelitian ini diisolasi dari tanah yang terkontaminasi logam kromium limbah penyamakan kulit.
2. Kemampuan bioremediasi kromium oleh bakteri dilakukan dalam skala laboratorium melalui pengujian secara *in vitro* menggunakan kultur bakteri.
3. Potensi dan interaksi bakteri dilihat berdasarkan uji interaksi penyusun konsorsium dan persentase pengurangan Cr(VI).

1.5 Tujuan Penelitian

Berdasarkan rumusan masalah, penelitian ini bertujuan untuk menganalisis potensi formula konsorsium sebagai agen bioremediasi logam kromium berdasarkan interaksi antar bakteri dan persentase pengurangan Cr(VI).

1.6 Manfaat Penelitian

1. Sebagai pengembangan ilmu mikrobiologi dan bioteknologi mengenai bioremediasi logam kromium menggunakan kombinasi formula dari konsorsium bakteri yang resisten terhadap logam kromium.
2. Hasil dari penelitian ini dapat digunakan sebagai metode bioremediasi yang efektif untuk memulihkan lahan yang tercemar kromium menggunakan konsorsium bakteri.

1.7 Struktur Organisasi Skripsi

Penulisan skripsi mencakup lima bab utama yang disusun berdasarkan peraturan karya tulis ilmiah dalam buku pedoman karya tulis ilmiah Universitas Pendidikan Indonesia. Seluruh struktur organisasi penulisan skripsi dijelaskan dalam bagian berikut:

1. Bab I Pendahuluan

Pada Bab I dipaparkan tentang dasar-dasar yang melatarbelakangi penelitian ini. Latar belakang tersebut mencakup logam kromium sebagai limbah yang dihasilkan industri penyamakan kulit, efek negatif yang disebabkan oleh kromium, bioremediasi sebagai upaya mengurangi kromium, potensi konsorsium bakteri sebagai agen bioremediasi kromium, serta pemilihan metode identifikasi bakteri yang resisten dan berpotensi mengurangi kromium. Selain itu, bab ini memuat rumusan masalah, pertanyaan penelitian, batasan masalah, tujuan penelitian, dan manfaat penelitian.

2. Bab II Kajian Pustaka

Pada Bab II dijelaskan mengenai teori dan konsep dari berbagai sumber seperti artikel, buku, dan sumber terpercaya lainnya sebagai landasan dalam melakukan penelitian. Teori dan konsep yang dijelaskan dalam bab ini mencakup hal-hal terkait logam kromium, bakteri sebagai agen bioremediasi logam kromium, dan identifikasi bakteri menggunakan gen 16S rRNA.

3. Bab III Metode Penelitian

Pada Bab III dijelaskan metode yang digunakan dalam penelitian mulai dari jenis, desain, populasi dan sampel penelitian, lokasi beserta waktu penelitian, alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian, dan prosedur penelitian. Tahap penelitian dimulai dengan pengambilan sampel tanah, menguji kandungan kromium pada tanah, isolasi bakteri dari tanah, uji resistensi bakteri terhadap kromium, identifikasi bakteri yang resisten kromium, pembuatan kurva pertumbuhan, pembuatan konsorsium bakteri, uji interaksi bakteri penyusun konsorsium, uji pengurangan Cr(VI) menggunakan konsorsium bakteri, dan analisis data.

4. Bab IV Temuan dan Pembahasan

Pada Bab IV dijelaskan hasil dan analisis data yang diperoleh. Hasil analisis berupa kondisi lingkungan saat pengambilan sampel tanah, analisis kandungan kromium pada tanah, pengamatan morfologi bakteri hasil isolasi tanah, hasil uji resistensi bakteri terhadap kromium, hasil identifikasi bakteri berdasarkan analisis mikroskopis, aktivitas biokimia, dan gen 16S rRNA, pengaruh kromium terhadap kurva pertumbuhan bakteri, interaksi antar bakteri dalam masing-masing formula konsorsium, dan potensi konsorsium bakteri dalam mengurangi Cr(VI).

5. Bab V Simpulan, Implikasi, dan Rekomendasi

Pada Bab V mencakup kesimpulan akhir hasil penelitian, implikasi hasil penelitian untuk bidang ilmu yang serupa untuk diaplikasikan lebih lanjut, dan rekomendasi atau saran yang dapat digunakan untuk penelitian yang akan datang.