

Pengaruh Pemberian *Eco-Enzyme* Terhadap Penurunan Jumlah Bakteri *E. Coli* Pada Air Limbah Di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu

Owanto Umbu Lepa Sabaora^{1*}, Irfany Rupiwardani², Septia Dwi Cahyani³

^{*1,2,3}Program Studi S1 Kesehatan Lingkungan, STIKES Widyagama Husada Malang
Alamat: Jl. Taman Borobudur Indah No. 3A, Mojolangu, Kecamatan Lowokwaru, Kota Malang, Jawa Timur, Indonesia

Corresponding: owanto29@gmail.com

Abstract Domestic wastewater, including that generated by the Doctors' Housing Complex of Baptis Batu Hospital, has the potential to contain *Escherichia coli* bacteria that can pollute the environment and endanger public health if not properly treated before disposal. *Eco-enzyme* is one alternative for treating organic waste that is claimed to have antimicrobial properties because it contains hydrolytic enzymes such as protease, lipase, and amylase. This study aimed to analyze the effect of *eco-enzyme* administration on the reduction of *E. coli* bacterial counts in wastewater at the Doctors' Housing Complex of Baptis Batu Hospital. This study used a quantitative descriptive design with a Pretest-Posttest Control Group Design. The population and sample consisted of all wastewater from the Doctors' Housing Complex of Baptis Batu Hospital, collected using a total sampling technique, consisting of one control group and three treatment groups with *eco-enzyme* concentrations of 5% (P1), 10% (P2), and 15% (P3), each with three replications. Data were analyzed using the Welch ANOVA test followed by the Games-Howell Post Hoc test. The results showed that the initial *E. coli* count in all groups was 4 CFU/100 mL. After 24 hours of *eco-enzyme* administration, the *E. coli* counts in the treatment groups (P1, P2, and P3) were actually higher than in the control group. The Welch ANOVA test showed $F = 37.915$ with $p = 0.005$ ($p < 0.05$), indicating a significant difference in *E. coli* counts between groups. The Games-Howell post hoc test showed that this significant difference was specifically found only between the control group and P2 ($p = 0.022$), while other group comparisons were not significant. Thus, *eco-enzyme* administration had a statistically significant effect on *E. coli* counts in wastewater, but the direction of this effect was an increase rather than a decrease in *E. coli* counts. Therefore, *eco-enzyme* in this study has not been proven effective in reducing *E. coli* counts in wastewater at the Doctors' Housing Complex of Baptis Batu Hospital. Further research is needed that takes into account contact time, the characteristics of the *eco-enzyme* raw materials, and a larger number of replications to obtain more robust conclusions.

Keywords: *Eco-enzyme*, *Escherichia coli*, wastewater, Welch ANOVA, Games-Howell

Abstrak. Air limbah domestik, termasuk yang dihasilkan dari Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu, berpotensi mengandung bakteri *Escherichia coli* yang dapat mencemari lingkungan dan membahayakan kesehatan masyarakat apabila tidak diolah dengan baik sebelum dibuang. *Eco-enzyme* merupakan salah satu alternatif pengolahan limbah organik yang diklaim memiliki sifat antimikroba karena mengandung enzim hidrolitik seperti protease, lipase, dan amilase. Penelitian ini bertujuan untuk menganalisis pengaruh pemberian *eco-enzyme* terhadap penurunan jumlah bakteri *E. coli* pada air limbah di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu. Jenis penelitian yang digunakan adalah penelitian kuantitatif deskriptif dengan rancangan *Pretest-Posttest Control Group Design*. Populasi dan sampel penelitian adalah seluruh air limbah Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu yang diambil menggunakan teknik *total sampling*, terdiri atas satu kelompok kontrol dan tiga kelompok perlakuan dengan konsentrasi *eco-enzyme* 5% (P1), 10% (P2), dan 15% (P3), masing-masing dengan tiga kali ulangan. Data dianalisis menggunakan uji *Welch ANOVA* yang dilanjutkan dengan uji Post Hoc *Games-Howell*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah bakteri *E. coli* awal pada seluruh kelompok adalah 4 CFU/100 mL. Setelah pemberian *eco-enzyme* selama 24 jam, jumlah bakteri *E. coli* pada kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3) justru lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Hasil uji *Welch ANOVA* menunjukkan nilai $F = 37,915$ dengan $p = 0,005$ ($p < 0,05$), yang berarti terdapat perbedaan signifikan pada jumlah bakteri *E. coli* antar kelompok. Uji lanjut *Games-Howell* menunjukkan bahwa perbedaan signifikan tersebut secara spesifik hanya ditemukan antara kelompok kontrol dan P2 ($p = 0,022$), sedangkan perbandingan kelompok lainnya tidak signifikan. Dengan demikian, pemberian *eco-enzyme* berpengaruh signifikan secara statistik terhadap jumlah bakteri *E. coli* pada air limbah, namun arah pengaruh tersebut adalah peningkatan, bukan penurunan, jumlah bakteri *E. coli*, sehingga *eco-enzyme* pada penelitian ini belum terbukti efektif menurunkan jumlah bakteri *E. coli* pada air limbah di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu. Diperlukan penelitian lebih lanjut dengan memperhatikan waktu kontak, karakteristik bahan baku *eco-enzyme*, serta jumlah ulangan yang lebih banyak untuk memperoleh kesimpulan yang lebih kuat.

Kata Kunci: *Eco-enzyme*, *Escherichia coli*, air limbah, *Welch ANOVA*, *Games-Howell*

1. LATAR BELAKANG

Air limbah perumahan dokter merupakan limbah cair yang berasal dari aktivitas domestik dan kegiatan penunjang lainnya yang mengandung bahan organik, deterjen, senyawa fisik dan kimia, serta mikroorganisme yang berpotensi mencemari lingkungan apabila tidak diolah secara optimal (Galarde-López et al., 2022). Salah satu permasalahan utama dalam pengelolaan air limbah adalah keberadaan bakteri patogen, termasuk *Escherichia coli* (*E. coli*), yang dapat menjadi indikator pencemaran fekal dan berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan masyarakat. Keberadaan bakteri tersebut dalam air limbah menunjukkan kemungkinan adanya kontaminasi mikroorganisme patogen lainnya yang dapat menyebar melalui badan air apabila proses pengolahan tidak berjalan secara efektif (Gaşpar et al., 2021). Oleh karena itu, pengendalian bakteri *E. coli* menjadi salah satu aspek penting dalam pemantauan kualitas mikrobiologis air limbah untuk melindungi kesehatan masyarakat dan menjaga kelestarian lingkungan.

Berbagai metode pengolahan air limbah telah dikembangkan, antara lain proses lumpur aktif, biofilter, filtrasi membran, koagulasi-flokulasi, serta desinfeksi menggunakan klorin dan sinar ultraviolet. Meskipun metode tersebut dapat membantu menurunkan kandungan pencemar, penerapannya masih menghadapi kendala berupa biaya operasional, kebutuhan energi, penggunaan bahan kimia, dan efektivitas penghilangan mikroorganisme yang bervariasi (Kristanto & Koven, 2019; Galarde-López et al., 2022). Salah satu alternatif yang berpotensi dikembangkan adalah penggunaan *eco-enzyme*, yaitu cairan hasil fermentasi limbah organik berupa kulit buah dan sayuran dengan penambahan gula merah atau molase serta air. *Eco-enzyme* mengandung senyawa hasil fermentasi, termasuk asam organik, yang berpotensi menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Selain itu, pemanfaatan *eco-enzyme* mendukung pengurangan sampah organik dan penerapan pengelolaan lingkungan yang lebih berkelanjutan (Gumilar et al., 2023; Prihatin et al., 2025).

Sejumlah penelitian terdahulu menunjukkan bahwa *eco-enzyme* berpotensi dimanfaatkan dalam pengolahan air limbah. Pratamadina dan Wikaningrum (2022) melaporkan bahwa *eco-enzyme* berbahan kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dengan konsentrasi 5% dan 10% berpotensi menurunkan nilai *chemical oxygen demand* (COD) pada air limbah domestik yang tercemar deterjen. Sarlinda et al. (2024) juga melaporkan bahwa penambahan *eco-enzyme* dengan konsentrasi 15% pada air limbah perumahan dokter menurunkan konsentrasi total *Coliform* dari 1.600 MPN/100 mL menjadi 500 MPN/100 mL. Sementara itu, penelitian Tamala (2023) menunjukkan adanya aktivitas penghambatan *eco-enzyme* berbahan kulit jeruk manis terhadap

bakteri *E. coli*, meskipun zona hambat yang dihasilkan masih tergolong lemah. Temuan tersebut menunjukkan bahwa efektivitas eco-enzyme dapat dipengaruhi oleh konsentrasi, komposisi bahan, lama fermentasi, serta karakteristik air limbah yang diolah. Namun, efektivitasnya dalam menurunkan jumlah bakteri *E. coli* pada air limbah perumahan dokter masih perlu dikaji lebih lanjut melalui pengujian mikrobiologis yang terukur.

Berdasarkan observasi pada 25 Juni 2026 di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu, diketahui bahwa pengelola instalasi pengolahan air limbah belum melakukan pengujian secara spesifik terhadap parameter bakteriologis. Kondisi tersebut menunjukkan perlunya evaluasi kualitas mikrobiologis air limbah sebagai bagian dari upaya pengendalian pencemaran lingkungan. Oleh karena itu, penelitian ini dilakukan untuk menganalisis pengaruh pemberian eco-enzyme terhadap penurunan jumlah bakteri *E. coli* pada air limbah di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu dengan variasi konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Pengujian dilakukan menggunakan teknik filtrasi membran dan media *Chromocult Coliform Agar* (CCA) untuk mengidentifikasi serta menghitung bakteri indikator yang tumbuh. Hasil penelitian diharapkan dapat memberikan informasi mengenai efektivitas berbagai konsentrasi eco-enzyme dan menjadi dasar pertimbangan dalam pengembangan alternatif pengolahan air limbah yang ekonomis dan ramah lingkungan, tanpa mengesampingkan pemenuhan baku mutu air limbah yang berlaku.

2. METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif dengan desain eksperimen *Pretest-Posttest Control Group Design* yang bertujuan untuk mengetahui pengaruh pemberian eco-enzyme terhadap penurunan jumlah bakteri *Escherichia coli* pada air limbah Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu. Populasi penelitian adalah air limbah Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu yang mengandung bakteri *E. coli*, sedangkan sampel diambil dari titik outlet Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) atau saluran pembuangan akhir menggunakan teknik *total sampling*. Penelitian dilaksanakan pada bulan Agustus 2026 di Laboratorium Uji Kualitas Air Perum Jasa Tirta, Kota Malang. Variabel independen dalam penelitian ini adalah konsentrasi eco-enzyme, yang terdiri atas kelompok kontrol tanpa pemberian eco-enzyme (0%) serta kelompok perlakuan dengan konsentrasi 5%, 10%, dan 15%. Variabel dependen adalah jumlah bakteri *E. coli* yang dinyatakan dalam satuan CFU/100 mL, sedangkan suhu dan pH air limbah diukur sebagai parameter pendukung. Instrumen penelitian berupa lembar observasi dan peralatan laboratorium untuk mencatat hasil pengukuran sebelum dan sesudah perlakuan.

Prosedur penelitian diawali dengan pengambilan sampel air limbah secara aseptik, pemberian label, dan pengiriman sampel ke laboratorium. Selanjutnya, sampel dibagi ke dalam

empat kelompok perlakuan, yaitu kontrol (0%), konsentrasi *eco-enzyme* 5%, 10%, dan 15%, kemudian dihomogenkan dan diinkubasi selama 24 jam. Pengukuran jumlah bakteri *E. coli* dilakukan sebelum dan sesudah perlakuan menggunakan metode filtrasi membran dengan membran berpori 0,45 μm dan media Chromocult Coliform Agar (CCA) sesuai prosedur pemeriksaan laboratorium yang berlaku. Data yang diperoleh merupakan data primer berupa hasil pengukuran jumlah bakteri, suhu, dan pH, serta data sekunder berupa profil rumah sakit dan dokumen pendukung pengelolaan air limbah. Data diolah melalui tahapan pemeriksaan kelengkapan (*editing*), pengkodean (*coding*), pemasukan data (*processing*), dan tabulasi (*tabulating*), kemudian dianalisis menggunakan SPSS versi 25. Analisis univariat digunakan untuk menggambarkan hasil pengukuran setiap kelompok, sedangkan analisis bivariat dilakukan untuk menguji perbedaan hasil antar kelompok. Uji normalitas Shapiro–Wilk dan homogenitas varians Levene digunakan sebagai uji prasyarat. Data yang berdistribusi normal dan memiliki varians homogen dianalisis menggunakan *One-Way ANOVA*, sedangkan data normal dengan varians tidak homogen dianalisis menggunakan *Welch ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Games-Howell* apabila terdapat perbedaan yang signifikan. Jika data tidak berdistribusi normal, digunakan uji Kruskal–Wallis. Tingkat signifikansi statistik ditetapkan pada $p < 0,05$. Penelitian dilaksanakan setelah memperoleh izin dari pihak terkait dengan memperhatikan keselamatan kerja laboratorium, pengelolaan sampel, kerahasiaan data institusi, serta prinsip kejujuran dan tanggung jawab ilmiah.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

a. Hasil

1) Analisis Univariat

a) Hasil Pengukuran pH

Tabel 1. Hasil Pengukuran pH

Kelompok	U1	U2	U3
Kontrol	7,72	-	-
P1 (5%)	8,77	8,22	7,53
P2 (10%)	7,53	8,77	8,22
P3 (15%)	8,22	7,53	8,77

Tabel 1. menunjukkan bahwa pH kelompok kontrol konsisten sebesar 7,72 pada ketiga ulangan (U1, U2, U3), karena kelompok ini tidak diberi *eco-enzyme* sehingga kondisinya relatif stabil pada seluruh pengulangan. Pada kelompok P1 (5%), diperoleh nilai pH U1 sebesar 8,77, U2 sebesar 8,22, dan U3 sebesar 7,53. Pada kelompok P2 (10%), diperoleh nilai pH U1 sebesar 7,53, U2 sebesar 8,77, dan U3 sebesar 8,22. Pada kelompok P3 (15%), diperoleh nilai pH U1 sebesar 8,22, U2 sebesar 7,53, dan U3

sebesar 8,77. Oleh karena itu, perbandingan antar kelompok perlakuan tidak dapat lagi didasarkan pada nilai yang sama, melainkan perlu memperhatikan sebaran nilai pada masing-masing ulangan. Secara umum, nilai pH pada seluruh kelompok perlakuan berada pada kisaran basa (7,53–8,77), lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol (7,72), yang mengindikasikan bahwa penambahan *eco-enzyme* cenderung meningkatkan pH air limbah dibandingkan kondisi tanpa perlakuan.

b) Hasil Pengukuran Suhu

Tabel 2. Hasil Pengukuran Suhu

Kelompok	U1	U2	U3
Kontrol	24,9	-	-
P1 (5%)	22,4	26,3	28,5
P2 (10%)	28,5	22,4	26,3
P3 (15%)	26,3	28,5	22,4

Tabel 2. menunjukkan bahwa suhu kelompok kontrol konsisten sebesar 24,9°C pada ketiga ulangan (U1, U2, U3). Pada kelompok P1 (5%), diperoleh nilai suhu U1 sebesar 22,4°C, U2 sebesar 26,3°C, dan U3 sebesar 28,5°C. Pada kelompok P2 (10%), diperoleh nilai suhu U1 sebesar 28,5°C, U2 sebesar 22,4°C, dan U3 sebesar 26,3°C. Pada kelompok P3 (15%), diperoleh nilai suhu U1 sebesar 26,3°C, U2 sebesar 28,5°C, dan U3 sebesar 22,4°C. Sama seperti hasil pengukuran pH, ketiga kelompok perlakuan menunjukkan sebaran nilai individu yang sama, yaitu 22,4°C; 26,3°C; dan 28,5°C, hanya berbeda pada urutan ulangan. Dengan demikian, perbedaan rerata suhu antar kelompok perlakuan tidak dapat digunakan untuk membedakan pengaruh konsentrasi *eco-enzyme* karena nilainya sama, sedangkan perbedaan yang tampak hanya terletak pada urutan ulangan saat pengukuran dilakukan. Secara keseluruhan, suhu pada kelompok perlakuan bervariasi antara 22,4°C hingga 28,5°C, sedikit lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol (24,9°C), yang menunjukkan adanya variasi kondisi lingkungan selama proses inkubasi berlangsung.

c) Hasil Pemeriksaan Jumlah Bakteri *E. Coli* Sebelum Pemberian *Eco-Enzyme* Pada Air Limbah Di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu

Tabel 3. Jumlah Bakteri *E. Coli* Sebelum Perlakuan

Kelompok	Awal
Kontrol (0%)	4
P1 (5%)	4
P2 (10%)	4
P3 (15%)	4

Berdasarkan tabel 3. menunjukkan bahwa jumlah bakteri *E. coli* awal pada seluruh kelompok adalah 4 CFU/100mL.

d) Hasil Pemeriksaan Jumlah Bakteri *E. Coli* Sesudah Pemberian *Eco-Enzyme* Pada Air Limbah Di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu

Hasil pemeriksaan jumlah bakteri *E. coli* sesudah pemberian *eco-enzyme* pada masing-masing kelompok disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Jumlah bakteri *E. coli* sesudah pemberian *eco-enzyme*

Kelompok	Hasil <i>E. Coli</i> (CFU/100mL)			
	Awal	P1	P2	P3
Kontrol	4	-	-	-
P1 (5%)	4	65	32	56
P2 (10%)	4	61	68	50
P3 (15%)	4	56	64	32

Berdasarkan Tabel 5.5, jumlah bakteri *E. coli* awal pada seluruh kelompok adalah 4 CFU/100 mL. Setelah diberikan perlakuan dan dilakukan pemeriksaan, kelompok P1 dengan konsentrasi *eco-enzyme* 5% menunjukkan hasil sebesar 65, 32, dan 56 CFU/100 mL. Kelompok P2 dengan konsentrasi 10% menunjukkan hasil sebesar 61, 68, dan 50 CFU/100 mL, sedangkan kelompok P3 dengan konsentrasi 15% menunjukkan hasil sebesar 56, 64, dan 32 CFU/100 mL. Pada kelompok kontrol diperoleh hasil sebesar 4 CFU/100 mL.

Dengan demikian, secara deskriptif konsentrasi 15% menghasilkan jumlah *E. coli* paling rendah dibandingkan konsentrasi 5% dan 10%, tetapi nilai tersebut tetap jauh lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Sehingga berdasarkan data yang diperoleh, tidak dapat dikatakan terjadi penurunan jumlah *E. coli* setelah pemberian *eco-enzyme*.

2) Analisis Bivariate

a) Uji Normalitas

Uji normalitas dilakukan menggunakan *Shapiro-Wilk* karena jumlah sampel pada setiap kelompok relatif kecil. Hasil uji normalitas ditampilkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Uji Normalitas

Mean Hasil Bakteri	Shapiro-Wilk		
	Statistic	Df	Sig.
	0,768	4	0,056

Berdasarkan tabel 6. menunjukkan bahwa hasil uji Shapiro-Wilk diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,056. Nilai tersebut lebih besar daripada $\alpha = 0,05$. Dengan demikian, secara statistik data hasil bakteri dapat dinyatakan tidak menunjukkan

penyimpangan yang signifikan dari distribusi normal atau data berdistribusi normal.

b) Uji Homogenitas

Tabel 6. Hasil Uji Homogenitas Varians

<i>Test of Homogeneity of Variance</i>					
		<i>Levene Statistic</i>	<i>df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig.</i>
Hasil Bakteri	<i>Based on Mean</i>	3.848	3	12	.039
	<i>Based on Median</i>	1.666	3	12	.227
	<i>Based on Median and with adjusted df</i>	1.666	3	6.287	.268
	<i>Based on trimmed mean</i>	3.478	3	12	.050

Berdasarkan tabel 6. menunjukkan bahwa hasil Levene Test berdasarkan mean, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0,039. Nilai tersebut lebih kecil daripada 0,05 sehingga varians antar kelompok dinyatakan tidak homogen. Hasil tersebut menunjukkan bahwa meskipun data memenuhi asumsi normalitas berdasarkan uji Shapiro-Wilk, data tidak memenuhi asumsi homogenitas varians. Oleh karena itu, uji *Welch ANOVA* digunakan sebagai dasar utama pengujian perbedaan antar kelompok karena *Welch ANOVA* tetap valid digunakan pada data yang berdistribusi normal meskipun varians antar kelompok tidak homogen, dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Games-Howell* yang juga tidak mensyaratkan homogenitas varians.

c) Analisis Pengaruh Pemberian Eco-Enzyme Terhadap Penurunan Jumlah Bakteri *E. Coli* Pada Air Limbah Di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu

Tabel 7 Hasil Uji *Welch ANOVA*

	<i>Statistic</i>	<i>df1</i>	<i>df2</i>	<i>Sig.</i>
Welch	37.915	3	3.333	.005

Hasil uji *Welch ANOVA* diperoleh nilai $F = 37,915$ dengan $df1 = 3$ dan $df2 = 3,333$, serta nilai signifikansi (p) = 0,005. Nilai tersebut lebih kecil daripada 0,05 ($p < 0,05$), sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah bakteri *E. coli* antara kelompok kontrol, P1, P2, dan P3. Karena hasil *Welch ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, maka dilanjutkan uji *Post Hoc Games-Howell* untuk mengetahui pasangan kelompok mana yang berbeda secara signifikan.

Tabel 8 Hasil Uji *Post Hoc Games-Howell*

Kelompok (I)	Kelompok (J)	Mean Difference (I-J)	Std. Error	df	Sig.
Kontrol	P1	-47.000	9.849	2.000	0.101
Kontrol	P2	-55.667*	5.239	2.000	0.022
Kontrol	P3	-46.667	9.615	2.000	0.098
P1	P2	-8.667	11.155	3.048	0.861
P1	P3	0.333	13.764	3.998	1.000
P2	P3	9.000	10.949	3.091	0.842

Berdasarkan tabel 5.9. hasil uji *Games-Howell* menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) hanya ditemukan antara kelompok kontrol dan kelompok P2 ($p = 0,022$). Perbandingan antara kelompok kontrol dengan P1 ($p = 0,101$) dan P3 ($p = 0,098$) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan meskipun nilai signifikansinya mendekati 0,05. Demikian pula, perbandingan antar kelompok perlakuan, yaitu P1 dengan P2, P1 dengan P3, dan P2 dengan P3, tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Dengan demikian, secara keseluruhan hasil uji *Welch ANOVA* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada jumlah bakteri *E. coli* antar kelompok ($p = 0,005$), namun hasil uji lanjut *Games-Howell* menunjukkan bahwa perbedaan tersebut secara spesifik hanya signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok P2. Sehingga H_1 diterima dan H_0 ditolak, artinya terdapat pengaruh pemberian *eco-enzyme* terhadap jumlah bakteri *E. coli* pada air limbah di perumahan dokter Rumah Sakit Baptis Batu, meskipun pengaruh tersebut belum konsisten pada seluruh perbandingan antar kelompok perlakuan

b. Pembahasan

Keberadaan *E. coli* pada air limbah merupakan parameter mikrobiologis yang penting karena bakteri tersebut banyak digunakan sebagai indikator kontaminasi fekal (Achmad *et al.*, 2024). Pada air limbah yang berasal dari lingkungan yang berhubungan dengan aktivitas manusia, keberadaan bakteri indikator dapat menunjukkan adanya pencemaran biologis. Pada lingkungan rumah sakit dan fasilitas yang berkaitan dengan pelayanan kesehatan, pemantauan mikroorganisme dalam air limbah menjadi semakin penting karena air limbah dapat membawa berbagai mikroorganisme dan faktor yang berhubungan dengan resistensi anti mikroba (Nugroho *et al.*, 2025).

Keberadaan bakteri *Escherichia coli* (*E. coli*) pada air limbah di lingkungan perumahan terutama disebabkan oleh masuknya limbah yang berasal dari aktivitas manusia, khususnya feses dan limbah domestik yang berasal dari toilet, kamar mandi, serta kegiatan rumah tangga lainnya (Park *et al.*, 2024).

Selain berasal dari limbah fekal, keberadaan *E. coli* pada air limbah perumahan dapat dipengaruhi oleh kondisi sistem sanitasi dan proses pengolahan air limbah yang belum optimal. Air limbah yang tidak mendapatkan pengolahan atau hanya mengalami pengolahan yang terbatas berpotensi membawa bakteri indikator fekal dalam jumlah yang masih tinggi hingga masuk ke lingkungan (Wang *et al.*, 2024). Instalasi pengolahan air limbah menunjukkan bahwa *E. coli* memang dapat ditemukan pada air limbah dan proses pengolahan tertentu diperlukan untuk menurunkan konsentrasi bakteri tersebut sebelum air

dibuang ke lingkungan (Zhang *et al.*, 2024). Apabila proses pengolahan, pemeliharaan saluran, atau tahap desinfeksi tidak berjalan secara efektif, sebagian bakteri dapat bertahan dan terbawa bersama air limbah menuju badan air penerima.

Kondisi awal yang relatif sama, yaitu nilai *E. coli* sebesar 4 pada seluruh kelompok, merupakan kondisi yang baik untuk membandingkan respons kelompok setelah perlakuan secara deskriptif. Namun demikian, jumlah ulangan yang hanya tiga pada masing-masing kelompok menyebabkan kekuatan statistik penelitian menjadi terbatas. Nilai awal sebesar 4 pada semua kelompok menyebabkan variasi awal sangat rendah. Kondisi tersebut berbeda dengan kelompok perlakuan setelah pemberian *eco-enzyme* yang mempunyai rentang nilai jauh lebih besar.

Hasil pengukuran pH menunjukkan bahwa kelompok kontrol konsisten pada nilai 7,72 di ketiga ulangan (U1, U2, U3), karena kelompok ini tidak mendapat penambahan *eco-enzyme* sehingga kondisi kimiawinya relatif stabil dari waktu ke waktu. Pada ketiga kelompok perlakuan (P1, P2, dan P3), nilai pH individu yang muncul persis sama, yaitu 8,77; 8,22; dan 7,53, namun tersebar pada urutan ulangan yang berbeda antar kelompok. Nilai pH pada kelompok perlakuan secara konsisten lebih tinggi (lebih basa) dibandingkan kontrol (7,72), yang mengindikasikan bahwa penambahan *eco-enzyme*, yang bersifat asam hasil fermentasi, ternyata diikuti oleh pergeseran pH ke arah basa pada air limbah yang diujikan. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh interaksi antara komponen *eco-enzyme* dengan senyawa penyangga (buffer) alami yang terkandung dalam air limbah, atau oleh aktivitas metabolisme mikroorganisme yang menghasilkan senyawa bersifat basa selama periode inkubasi 24 jam.

Hasil pengukuran suhu menunjukkan pola yang serupa. Kelompok kontrol konsisten pada suhu 24,9°C di ketiga ulangan, sedangkan ketiga kelompok perlakuan menunjukkan sebaran nilai individu yang sama, yaitu 22,4°C; 26,3°C; dan 28,5°C. Variasi suhu antar ulangan pada kelompok perlakuan kemungkinan dipengaruhi oleh kondisi ruang penyimpanan atau waktu pengukuran yang tidak seluruhnya dilakukan secara bersamaan, mengingat pengukuran dilakukan pada 12 wadah uji secara berurutan.

Karena nilai individu pH dan suhu pada kelompok P1, P2, dan P3 ternyata persis sama meskipun tersebar pada urutan ulangan yang berbeda. Kondisi ini menyebabkan pH dan suhu tidak dapat digunakan untuk membedakan pengaruh konsentrasi *eco-enzyme* antar kelompok P1, P2, dan P3. Meskipun demikian, perbedaan pH dan suhu tetap terjadi antara masing-masing ulangan (U1, U2, U3) dalam satu kelompok, sehingga kedua parameter ini tetap perlu dipertimbangkan sebagai faktor yang berpotensi memengaruhi jumlah bakteri

E. coli pada setiap ulangan secara individual, sebagaimana dibahas lebih lanjut pada sub bab berikut.

Hasil perlakuan dengan konsentrasi *eco-enzyme* 5%, diperoleh nilai U1 sebesar 65, U2 sebesar 32, dan U3 sebesar 56. Nilai tersebut menunjukkan variasi yang cukup besar antara pengulangan. Variasi ini dapat disebabkan oleh heterogenitas sampel air limbah, kondisi mikrobiologis yang tidak seragam, perbedaan karakteristik bahan organik, suhu, pH, waktu kontak, atau faktor teknis pada proses pemeriksaan mikrobiologi.

Penelitian mengenai pengolahan air limbah domestik menggunakan *eco-enzyme* menunjukkan bahwa pemberian *eco-enzyme* pada konsentrasi tertentu dapat memberikan respons yang berbeda terhadap parameter mikrobiologis air limbah. Salvi et al. (2024) melaporkan bahwa penggunaan *eco-enzyme* dengan konsentrasi 15% dan 20% berpotensi menurunkan jumlah mikroorganisme, termasuk bakteri indikator pencemaran seperti total *coliform*, pada air limbah domestik. Temuan tersebut menunjukkan bahwa *eco-enzyme* memiliki potensi sebagai salah satu alternatif pengolahan air limbah dalam menurunkan beban mikrobiologis, khususnya bakteri indikator pencemaran. Dengan demikian, parameter *E. coli* dan total *coliform* dapat digunakan sebagai indikator mikrobiologis untuk mengevaluasi efektivitas pemberian *eco-enzyme* dalam pengolahan air limbah. Akan tetapi, penelitian tersebut menggunakan waktu perlakuan lima hari dan menilai berbagai parameter secara bersamaan. Dengan demikian, hasil perlakuan konsentrasi 5 % dalam penelitian ini perlu dipahami sebagai hasil spesifik pada kondisi eksperimen yang digunakan, bukan sebagai bukti bahwa *eco-enzyme* 5% secara umum meningkatkan *E. coli*. Pada kelompok perlakuan dengan konsentrasi 10%, diperoleh nilai U1 sebesar 61, U2 sebesar 68, dan U3 sebesar 50. Ini merupakan nilai tertinggi dibandingkan kelompok perlakuan lainnya. Konsentrasi 10% belum memberikan hasil yang diharapkan karena jumlah bakteri masih tinggi. Kondisi ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi *eco-enzyme* dari 5% menjadi 10% tidak secara otomatis menghasilkan penurunan jumlah *E. coli*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa tidak ada hubungan linier antara peningkatan konsentrasi *eco-enzyme* dan penurunan bakteri serta konsentrasi yang lebih tinggi belum tentu menghasilkan efek antibakteri yang lebih besar. Kelompok perlakuan dengan konsentrasi 15% menghasilkan nilai U1 sebesar 56, U2 sebesar 64, dan U3 sebesar 32. Di antara ketiga konsentrasi *eco-enzyme*, P3 mempunyai rerata paling rendah. Apabila hanya berdasarkan statistik deskriptif, P3 dapat dianggap sebagai perlakuan yang paling baik karena mempunyai rerata *E. coli* paling rendah dibandingkan P1 dan P2. Namun, nilai

tersebut tetap jauh lebih tinggi dibandingkan kontrol. Oleh karena itu, konsentrasi 15% belum dapat disebut sebagai konsentrasi efektif untuk menurunkan *E. coli* (Singh *et al.* 2025).

Hasil ini juga menunjukkan bahwa hubungan antara konsentrasi *eco-enzyme* dan jumlah *E. coli* tidak berbentuk hubungan dosis-respons yang sederhana. Pola tersebut tidak menunjukkan kecenderungan penurunan secara konsisten. Penelitian mengenai *eco-enzyme* pada limbah juga memperlihatkan bahwa respons pengolahan dapat berbeda berdasarkan jenis limbah dan parameter yang diukur. Penelitian Singh *et al.* (2025) menunjukkan bahwa penggunaan *garbage enzyme* berpotensi meningkatkan kualitas mikrobiologis air limbah melalui penurunan jumlah bakteri indikator pencemaran, seperti *Escherichia coli* (*E. coli*).

Efektivitas penurunan bakteri tersebut dipengaruhi oleh konsentrasi *garbage enzyme* dan lama waktu perlakuan. Temuan ini menunjukkan bahwa *garbage enzyme* berpotensi digunakan sebagai salah satu alternatif pengolahan air limbah dalam mengurangi beban mikrobiologis, khususnya bakteri indikator pencemaran fekal. Penelitian pada air limbah rumah sakit juga menunjukkan bahwa konsentrasi *eco-enzyme* tidak selalu memberikan efek yang semakin besar seiring peningkatan dosis. Dirgahayu *et al.* (2024) menemukan bahwa pada pengolahan limbah cair IPAL RSUP Dr. Hasan Sadikin, pemberian *eco-enzyme* pada konsentrasi tertentu menghasilkan efektivitas yang berbeda terhadap parameter mikrobiologis. Konsentrasi 1 mL per 5 L direkomendasikan sebagai dosis awal dalam penelitian tersebut, sedangkan peningkatan konsentrasi tidak selalu menghasilkan efektivitas yang lebih baik dan pada kondisi tertentu justru dapat meningkatkan jumlah bakteri indikator, seperti total *coliform*. Temuan tersebut menunjukkan bahwa penentuan konsentrasi *eco-enzyme* yang tepat merupakan faktor penting dalam mengoptimalkan proses pengolahan limbah cair, khususnya dalam menurunkan beban mikrobiologis dan meningkatkan kualitas sanitasi air limbah. Temuan tersebut relevan dengan hasil penelitian ini karena menunjukkan bahwa peningkatan dosis *eco-enzyme* tidak selalu menghasilkan peningkatan efektivitas pengolahan.

Berdasarkan hasil penelitian, pemberian *eco-enzyme* pada konsentrasi 5%, 10%, dan 15% belum menunjukkan penurunan jumlah *E. coli*. Dengan demikian, secara deskriptif konsentrasi 15% merupakan perlakuan yang menghasilkan nilai terendah dibandingkan P1 dan P2, tetapi nilai tersebut masih lebih tinggi dibandingkan kontrol.

Hasil tersebut berbeda dengan tujuan awal penelitian yang mengharapkan adanya penurunan jumlah *E. coli*. Perbedaan hasil ini tidak berarti bahwa *eco-enzyme* selalu tidak

memiliki potensi dalam pengolahan air limbah. Pitriani *et al.*, (2025), bahwa *eco-enzyme* atau *garbage enzyme* berpotensi digunakan sebagai biokatalis dalam pengolahan limbah karena mengandung berbagai enzim dan senyawa hasil fermentasi yang dapat membantu proses degradasi polutan, tetapi efektivitasnya dipengaruhi oleh karakteristik dan komposisi bahan baku, proses fermentasi, konsentrasi, waktu kontak, jenis air limbah, serta kondisi lingkungan selama proses pengolahan.

Hal tersebut menunjukkan bahwa keberhasilan *eco-enzyme* dalam pengolahan limbah tidak hanya ditentukan oleh konsentrasi. Waktu kontak merupakan faktor yang sangat penting. Apabila penelitian ini melakukan pemeriksaan *E. coli* dalam waktu kontak yang relatif singkat, aktivitas biologis atau komponen aktif *eco-enzyme* mungkin belum mencapai kondisi optimum Singh *et al.* (2025).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil uji *Welch ANOVA* diperoleh nilai $F = 37,915$ dengan $df_1 = 3$ dan $df_2 = 3,333$, serta nilai signifikansi ($p = 0,005$) ($p < 0,05$). Dengan demikian, terdapat perbedaan yang signifikan pada jumlah bakteri *E. coli* antara kelompok kontrol, P1, P2, dan P3. Hasil uji lanjut *Post Hoc Games-Howell* menunjukkan bahwa perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) hanya ditemukan antara kelompok kontrol dan kelompok P2 ($p = 0,022$), sedangkan perbandingan kontrol dengan P1 ($p = 0,101$) dan P3 ($p = 0,098$) serta perbandingan antar kelompok perlakuan (P1-P2, P1-P3, P2-P3) tidak menunjukkan perbedaan yang signifikan. Oleh karena itu, pemberian *eco-enzyme* pada penelitian ini terbukti memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah bakteri *E. coli* pada air limbah, meskipun pengaruh tersebut secara spesifik hanya konsisten pada perbandingan kontrol dengan P2. Sehingga H_1 diterima dan H_0 ditolak, artinya terdapat pengaruh pemberian *eco-enzyme* terhadap jumlah bakteri *e. coli* pada air limbah di perumahan dokter Rumah Sakit Baptis Batu, meskipun pengaruh tersebut belum konsisten pada seluruh perbandingan antar kelompok perlakuan. Perlu dicatat bahwa jumlah bakteri pada kelompok perlakuan justru lebih tinggi dibandingkan kontrol, sehingga meskipun perbedaan tersebut signifikan secara statistik, arah perbedaannya menunjukkan peningkatan jumlah *E. coli*, bukan penurunan seperti yang menjadi tujuan penelitian ini.

Perbedaan yang signifikan namun searah dengan peningkatan, bukan penurunan, jumlah bakteri *e. coli* pada air limbah di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu dapat disebabkan oleh beberapa faktor yakni waktu kontak merupakan salah satu kemungkinan faktor yang paling penting. *Eco-enzyme* merupakan produk fermentasi yang bekerja melalui kombinasi aktivitas enzim, metabolit, dan proses biologis. Efek pengolahan tidak selalu muncul secara langsung. Penelitian Singh *et al.* (2025) menunjukkan bahwa

efektivitas garbage *enzyme* terhadap berbagai parameter kualitas air meningkat selama periode pengamatan dan hasil tertinggi diperoleh pada hari ke-20.

Hasil penelitian menunjukkan suhu kontrol sebesar 24,9°C. Suhu merupakan salah satu faktor penting dalam proses biologis dan aktivitas enzim. Perbedaan suhu dapat memengaruhi laju reaksi enzimatik dan pertumbuhan mikroorganisme. Kajian mengenai pengolahan air limbah berbasis enzim juga menempatkan suhu sebagai salah satu faktor utama yang menentukan efisiensi proses.

Dalam penelitian ini, P3 mempunyai suhu tertinggi, sekaligus memiliki *E. coli* paling rendah di antara kelompok perlakuan. Meskipun demikian, hubungan tersebut belum dapat dianggap sebagai hubungan sebab-akibat karena tidak dilakukan pengujian statistik terhadap hubungan suhu dengan jumlah *E. coli*. Selain itu, perbedaan suhu antara kelompok dapat menjadi salah satu faktor peracun. Jika tujuan utama adalah menguji pengaruh konsentrasi *eco-enzyme*, sebaiknya seluruh perlakuan dilakukan pada kondisi suhu yang relatif sama sehingga pengaruh konsentrasi dapat dipisahkan dari pengaruh suhu.

Variasi kondisi sampel, air limbah merupakan matriks yang kompleks. Kandungan bahan organik, nutrien, mikroorganisme lain, deterjen, sisa disinfektan, obat-obatan, dan faktor kimia lainnya dapat memengaruhi respons bakteri. Pada air limbah yang berkaitan dengan lingkungan rumah sakit, kompleksitas ini menjadi lebih besar. Studi terbaru menunjukkan bahwa air limbah rumah sakit dapat mengandung bakteri dan gen resistensi antimikroba serta berbagai senyawa yang dapat memengaruhi komunitas mikroba. Oleh sebab itu, *eco-enzyme* mungkin tidak bekerja dengan cara yang sama pada setiap jenis air limbah. Sementara itu, penelitian Dirgahayu *et al.* (2024) pada IPAL rumah sakit di Indonesia menunjukkan bahwa respons terhadap *eco-enzyme* dapat berbeda berdasarkan konsentrasi. Konsentrasi yang lebih rendah dalam penelitian tersebut justru memberikan hasil yang lebih baik untuk beberapa parameter dibandingkan konsentrasi yang lebih tinggi.

Dengan demikian, hasil penelitian ini tidak sepenuhnya sesuai dengan penelitian terdahulu. Perbedaan hasil dalam penelitian ini dengan penelitian terdahulu dapat terjadi karena perbedaan jenis air limbah, karakteristik *eco-enzyme*, konsentrasi, lama fermentasi, waktu kontak, suhu, pH, metode pemeriksaan, serta jenis parameter yang diamati.

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian, dapat disimpulkan bahwa pemberian *eco-enzyme* pada air limbah domestik di Perumahan Dokter Rumah Sakit Baptis Batu memberikan pengaruh yang signifikan terhadap jumlah bakteri *E. coli* berdasarkan uji Welch ANOVA dengan nilai $p = 0,005$.

Konsentrasi 15% menghasilkan jumlah *E. coli* paling rendah di antara kelompok perlakuan, tetapi belum dapat dinyatakan sebagai konsentrasi paling efektif karena jumlah bakteri setelah perlakuan masih lebih tinggi dibandingkan kelompok kontrol. Oleh karena itu, pengelola perumahan dan masyarakat disarankan untuk tidak menggunakan eco-enzyme sebagai metode utama penurunan bakteri *E. coli* sebelum efektivitasnya terbukti melalui penelitian lebih lanjut. Peneliti selanjutnya disarankan untuk mengembangkan variasi konsentrasi, memperhatikan lama waktu kontak, memastikan keseragaman jumlah awal bakteri, serta mengukur parameter kualitas air lainnya, seperti pH, BOD, COD, TSS, dan total coliform, agar dapat diketahui dosis dan waktu kontak yang tepat serta efektivitas eco-enzyme dalam pengolahan air limbah domestik secara lebih komprehensif.

DAFTAR REFERENSI

- Agustin, R., & Widyaningrum, D. (2026). From Organic Waste to Eco-enzyme: A Systematic Review of Raw Materials, Antibacterial Activity, and Applications. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 1580(1), 012021.
- Almari, A., dkk. (2023). Pemanfaatan eco-enzyme sebagai agen antibakteri pada pengolahan limbah cair. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*.
- Azuma, T., & Hayashi, T. (2021). On-site chlorination responsible for effective disinfection of wastewater from hospital. *Science of the Total Environment*, 776, 145951.
- Dewi, D. M. (2021). Pelatihan pembuatan eco enzyme bersama Komunitas Eco Enzyme Lambung Mangkurat Kalimantan Selatan. *Ilung: Jurnal Pengabdian Masyarakat*, 1(1), 67–76.
- Dhawane, S. H., Al-Sakkari, E. G., & Yadav, D. (2022). Cost-effective viable solutions for existing technologies. In *Hospital Wastewater Treatment*. Elsevier.
- Fadlurrahman, M. D., & Aznury, M. (2022). Variasi fungsi penerapan ekoenzim dari limbah organik: Tinjauan literatur. *Jurnal Selulosa*, 12(2).
- Galarde-López, M., Velazquez-Meza, M. E., Bobadilla-del-Valle, M., Cornejo-Juárez, P., Carrillo-Quiroz, B. A., Ponce-de-León, A., Sassoé-González, A., Saturno-Hernández, P., & Alpuche-Aranda, C. M. (2022). Antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from hospital wastewater. *Science of the Total Environment*.
- Gaspar, M. C., dkk. (2021). *Escherichia coli* as an indicator of fecal contamination in water environments. *Water Research*.
- Gumilar, A., dkk. (2023). Karakteristik eco-enzyme berbahan limbah buah dan sayuran sebagai agen bioremediasi. *Jurnal Pengelolaan Lingkungan*.
- Irmawan, R., dkk. (2025). Aktivitas antibakteri eco-enzyme sebagai disinfektan alami berbahan limbah organik. *Jurnal Sanitasi Lingkungan*.
- Jamilah, S., dkk. (2025). Antibacterial activity of eco-enzyme from spice plant waste against *Escherichia coli*. *Journal of Environmental Biotechnology*.
- Khan, F. M., & Gupta, R. (2020). *Escherichia coli* as an indicator organism for water quality assessment. *Environmental Monitoring and Assessment*.
- Khan, N. A., dkk. (2021). Hospital wastewater: Sources, characteristics and environmental impacts. *Environmental Research*.
- Kristanto, G. A., & Koven, W. (2019). Pengolahan air limbah rumah sakit dan pengendalian pencemaran mikrobiologi. *Jurnal Teknik Lingkungan*.
- Krissanjaya, A., dkk. (2025). Pengaruh pH eco-enzyme terhadap viabilitas bakteri patogen. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*.

- Kumari, R., dkk. (2020). Characteristics of hospital wastewater and treatment technologies: A review. *Journal of Water Process Engineering*.
- Kurashvili, B., dkk. (2024). Principles of quantitative data processing and statistical analysis in health research. *International Journal of Research Methodology*.
- Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock Biology of Microorganisms* (16th ed.). Pearson.
- Mahdia, N., dkk. (2022). Pemanfaatan eco-enzyme sebagai agen bioremediasi ramah lingkungan. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*.
- Nurdin, N., dkk. (2022). Potensi eco-enzyme dalam pengolahan limbah cair domestik. *Jurnal Rekayasa Lingkungan*.
- Palandeng, R., & Ottay, R. (2021). Monitoring kualitas mikrobiologi air limbah sebagai upaya perlindungan kesehatan masyarakat. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*.
- Permatananda, R., dkk. (2023). Effect of organic acid concentration in eco-enzyme on bacterial growth inhibition. *Journal of Environmental Science*.
- Peraturan Menteri Lingkungan Hidup dan Kehutanan Republik Indonesia Nomor P.68/MENLHK/SETJEN/KUM.1/8/2016 tentang Baku Mutu Air Limbah Domestik.
- Pratamadina, A., & Wikaningrum, T. (2022). Pemanfaatan eco-enzyme kulit jeruk manis (*Citrus sinensis*) dalam menurunkan COD air limbah domestik tercemar deterjen. *Jurnal Teknik Lingkungan*.
- Prihatin, D., dkk. (2025). Antimicrobial compounds of eco-enzyme and their application in wastewater treatment. *Environmental Biotechnology Journal*.
- Quraesih, N., dkk. (2023). Metode pengumpulan data dalam penelitian kesehatan. *Jurnal Ilmu Kesehatan*.
- Rahayu, S., dkk. (2021). Pengaruh penambahan ragi terhadap percepatan fermentasi eco-enzyme berbahan kulit rambutan. *Jurnal Teknologi Lingkungan*.
- Riandini, R., dkk. (2021). Karakteristik air limbah rumah sakit dan pengelolaannya. *Jurnal Sanitasi Lingkungan*.
- Sarlinda, S., dkk. (2024). Efektivitas eco-enzyme dalam menurunkan konsentrasi total coliform pada air limbah rumah sakit. *Jurnal Kesehatan Lingkungan Indonesia*.
- Standar Nasional Indonesia. (2019). SNI 6774:2019 Metode pengujian *Escherichia coli* dan coliform pada air dengan teknik membran filter. Badan Standardisasi Nasional.
- Sugiyono. (2020). *Metode Penelitian Kuantitatif, Kualitatif, dan R&D* (Edisi 2). Alfabeta.
- Tamala, R. (2023). Aktivitas antibakteri eco-enzyme Waste Organic Product terhadap *Escherichia coli*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Mikrobiologi Indonesia*.
- Tanabe, K., dkk. (2024). Hospital wastewater as a reservoir of antibiotic-resistant bacteria and environmental pathogens. *Science of the Total Environment*.
- Tortora, G. J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2021). *Microbiology: An Introduction* (13th ed.). Pearson.
- Udofia, E. P. (2021). *Fundamentals of Social Science Research*. Immaculate Publications.
- Yuniar, D., dkk. (2020). Pengendalian bakteri indikator pada air limbah rumah sakit sebagai upaya perlindungan kesehatan masyarakat. *Jurnal Kesehatan Lingkungan*.
- Zairinayati, Z., dkk. (2025). Aplikasi eco-enzyme pada pengolahan limbah cair terhadap penurunan jumlah bakteri indikator. *Jurnal Sanitasi dan Lingkungan*.
- Achmad, L., Putri, C. D. R., & Airlangga, R. M. H. (2024). Sebaran bakteri dan profil resistensi antibiotik *Escherichia coli* pada saluran pembuangan air di rumah sakit tipe C di Malang. *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*, 12(2).
- Achmad, L., Putri, C. D. R., & Airlangga, R. M. H. (2024). Sebaran bakteri dan profil resistensi antibiotik *Escherichia coli* pada saluran pembuangan air di rumah sakit tipe C di Malang. *Jurnal Kedokteran Komunitas (Journal of Community Medicine)*, 12(2).
- Amadea, B., Budiastuti, M. T. S., & Pranoto. (2025). Effect of Eco-Enzyme on Communal

- Domestic Wastewater Treatment Plant Effluents. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 1489, 012022.
- Dirgahayu, M., Hefnita, Chaerudin, Firdausi, C. A., Iqbal, M., & Fatmawati. (2024). Pengaruh Eco-Enzyme Dalam Menurunkan Polutan Air Limbah Cair di Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) RSUP Dr. Hasan Sadikin Bandung. *Jurnal Promotif Preventif*, 7(6), 1275–1287.
- Khotimah, S. N., Ginting, S. B., Arifaini, N., Mardhotillah, N. A., & Puligadda, L. K. P. (2024). Review: The Use of Eco-Enzymes in Greywater Treatment. *Journal of Engineering and Scientific Research*, 6(1), 46–51.
- Kumar, G., Balakrishna, K., Mukhopadhyay, C., & Eshwara, V. K. (2024). Characterization and comparative analysis of antimicrobial resistance in *Escherichia coli* from hospital and municipal wastewater treatment plants. *Journal of Water and Health*, 22(12), 2276–2288.
- Lymperatou, D., et al. (2025). Hospital Wastewater Surveillance and Antimicrobial Resistance: A Narrative Review. *Microorganisms*.
- Nugroho, D., Elvania, N. C., & Purwaningrum, S. I. (2025). Analisis efektivitas kinerja Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) Rumah Sakit X. *Jurnal EnviScience (Environment Science)*, 9(2). <https://doi.org/10.30736/jev.v9i2.936>.
- Nugroho, D., Elvania, N. C., & Purwaningrum, S. I. (2025). Analisis efektivitas kinerja Instalasi Pengolahan Air Limbah (IPAL) Rumah Sakit X. *Jurnal EnviScience (Environment Science)*, 9(2). <https://doi.org/10.30736/jev.v9i2.936>.
- Park, J.-H., Bae, K.-S., Kang, J., Yoon, J.-K., & Lee, S.-H. (2024). Comprehensive assessment of multidrug-resistant and extraintestinal pathogenic *Escherichia coli* in wastewater treatment plant effluents. *Microorganisms*, 12(6), 1119. <https://doi.org/10.3390/microorganisms12061119>.
- Pasalari, H., Moosavi, A., Kermani, M., Sharifi, R., & Farzadkia, M. (2024). A systematic review on garbage enzymes and their applications in environmental processes. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 277, 116369. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116369>.
- Pitriani, Birawida, A. B., & Nasir, M. (2025). The Potential of Ecoenzyme as Biocatalysts: A Review in Wastewater Treatment. *Water Conservation and Management*, 9(4), 764–770.
- Salvi, S., Sabale, R., Bobade, S., & Dhawale, A. (2024). Innovative Use of Eco-Enzymes for Domestic Wastewater Purification. *Journal of Environmental Nanotechnology*, 13(3), 435–439. <https://doi.org/10.13074/jent.2024.09.242771>.
- Sari, et al. (2023). Prevalence and abundance of beta-lactam resistance genes in hospital wastewater and Enterobacterales wastewater isolates. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(4), 193. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8040193>.
- Sari, et al. (2023). Prevalence and abundance of beta-lactam resistance genes in hospital wastewater and Enterobacterales wastewater isolates. *Tropical Medicine and Infectious Disease*, 8(4), 193. <https://doi.org/10.3390/tropicalmed8040193>.
- Singh, A. N., Ray, M. R., Mishra, U., Jethwa, K. B., Yadav, N., Shankhwar, N., Chauhan, G. S., & Meshram, K. (2025). Assessment of Garbage Enzyme as a Bioremediation Method for the Wastewater Treatment. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 72(4), 1045–1055. <https://doi.org/10.1002/bab.2720>.
- Sudhakari, P. A., & Ramisetty, B. C. M. (2024). Resistome diversity in *Escherichia coli* isolates of global wastewaters. *Microbial Drug Resistance*, 30(1), 37–49. <https://doi.org/10.1089/mdr.2022.0296>.
- Wang, et al. (2024). Strain-level multidrug-resistant pathogenic bacteria in urban wastewater treatment plants: Transmission, source tracking and evolution. *Water Research*, 267, 122538. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2024.122538>.

Zhang, et al. (2024). Removal efficiency of antibiotic residues, antibiotic resistant bacteria, and genes across parallel secondary settling tank and membrane bioreactor treatment trains in a water reclamation plant. *Science of the Total Environment*, 924, 171723. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171723>.