

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Limbah adalah hasil buangan berupa sisa materi yang berasal dari berbagai aktivitas, baik kegiatan rumah tangga maupun proses produksi di sektor industri. Menurut Bank Dunia pada tahun 2016 masyarakat di seluruh dunia menghasilkan sekitar 2,01 miliar ton limbah secara global. Proyeksi menunjukkan bahwa jumlah limbah ini akan terus meningkat menjadi 2,59 miliar ton pada tahun 2030 dan bahkan mencapai 3,4 miliar ton pada tahun 2050. Pertumbuhan limbah terbesar terjadi di negara-negara berpendapatan rendah dan berkembang. Dalam hal ini, sub-sahara afrika dan asia selatan akan menjadi produsen limbah yang signifikan dalam tiga dekade mendatang. Penduduk di sub-sahara afrika diperkirakan akan menghasilkan 516 juta ton limbah pada tahun 2050, meningkat sebesar 91,8% dari tahun 2030. Sementara itu penduduk di asia selatan memproduksi 661 juta ton limbah pada tahun 2050, meningkat sebesar 41,8% dari dua dekade sebelumnya. Menurut Organisasi Kesehatan Dunia (WHO) pada tahun 2021 dan laporan dari 231 negara, 269 miliar m³ air limbah dihasilkan secara global setiap tahun. Namun, hanya 53% dari air limbah yang dihasilkan diolah dengan aman (pengolahan sekunder atau lebih tinggi digunakan atau standar yang sesuai dipatuhi untuk pembuangan efluen) yang difasilitasi oleh sekitar 58.502 instalasi pengolahan air limbah (IPAL) di seluruh dunia (WHO, 2021).

Air limbah domestik merupakan salah satu penyumbang air limbah terbesar yang dihasilkan dari aktivitas manusia. Air limbah domestik merupakan limbah yang dihasilkan dari berbagai aktivitas harian manusia yang berkaitan dengan penggunaan air. Air limbah mengandung polutan padatan, organik, dan anorganik dalam bentuk yang larut dan/atau tidak dapat larut, logam berat, dan mikroorganisme (Ibrahim et al., 2020). Secara umum, air limbah tersebut meliputi limbah ekskreta seperti tinja dan urin, serta air bekas dari kegiatan mencuci di dapur dan kamar mandi (greywater), yang umumnya mengandung berbagai senyawa organik (Rahma & Purwanti, 2020).

Indonesia sendiri menurut data sistem informasi pengelolaan sampah nasional (SIPSN) kementerian lingkungan hidup dan kehutanan (KLHK) pada tahun 2022 sebanyak 19,45 juta ton limbah sepanjang 2022 dan mayoritas atau 39,63% berasal dari rumah tangga/domestik (KLHK, 2023). Air limbah yang tidak diolah merupakan sumber utama polusi, menimbulkan risiko bagi lingkungan dan kesehatan masyarakat, dan secara tidak langsung berkontribusi terhadap pemanasan global. Pembuangan limbah yang tidak diolah, yang kaya akan nutrisi seperti nitrogen dan fosfor, ke badan air merugikan. Masuknya ini menyebabkan akumulasi air limbah, memicu dekomposisi bahan organik. Akibatnya, kadar oksigen terlarut anjlok, mengganggu keseimbangan ekosistem perairan dan menyebabkan kematian yang meluas di antara kehidupan akuatik. Produksi limbah cair domestik sekitar 70 - 80% dari total produksi limbah, karena volumenya yang besar limbah berkontribusi pada pencemaran badan air sekitar 70 - 75% (Khotimah et al., 2021). Air limbah domestik dianggap sebagai salah satu sumber pencemaran perairan terbesar yang berhubungan langsung dengan lingkungan perairan dan kesehatan manusia karena langsung dibuang ke badan air tanpa pengolahan lebih lanjut dan tidak

memperhatikan baku mutu air limbah yang telah ditetapkan. Baku mutu air limbah merupakan batas maksimal kandungan unsur pencemar atau konsentrasi tertentu yang masih dapat ditoleransi dalam air limbah sebelum dibuang ke lingkungan perairan atau tanah dari suatu kegiatan dan/atau usaha. Berdasarkan Keputusan Menteri Lingkungan Hidup Nomor 68 Tahun 2016 tentang Baku Mutu Air Limbah Domestik, parameter kunci untuk air limbah domestik adalah pH 6 - 9, BOD 30 mg/L, COD 100 mg/L, TSS 30 mg/L, Lemak & Minyak 5 mg/L, Amonia 10 mg/L, dan total Koliform MPN/100mL. Air limbah yang melebihi baku mutu dapat mencemari lingkungan sekitar seperti badan air menjadi berwarna coklat dan mengeluarkan bau busuk dan kematian pada ikan (Bakkara & Purnomo, 2022; Singh et al., 2022).

Air limbah domestik merupakan salah satu kontributor utama pencemaran lingkungan, di mana zat-zat berbahaya yang terkandung di dalamnya berpotensi meresap ke dalam air tanah. Jika kontaminan tersebut tidak ditangani dengan baik, maka dapat menimbulkan pencemaran yang serius terhadap air permukaan maupun air tanah (Hosseini et al., 2021; Waangsir et al., 2023). Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa pencemaran nitrat air tanah terutama disebabkan oleh pembuangan air limbah domestik (Su et al., 2021). Kontaminan tersebut dapat berakhir di badan air alami seperti lautan, sungai, danau, atau bahkan sumber air minum masyarakat (Kumar et al., 2023). Beberapa karakteristik utama dari limbah domestik yang perlu diperhatikan antara lain adalah tingginya kandungan bakteri, virus, dan parasit yang dapat memicu penyebaran penyakit secara cepat. Kandungan detergen dalam air limbah domestik turut memperkaya unsur hara, khususnya fosfor dan nitrogen, yang berpotensi menyebabkan eutrofikasi. Selain itu, keberadaan logam berat seperti timbal dapat meningkatkan risiko gangguan kesehatan, karena menurunnya kemampuan hemoglobin dalam mengikat zat-zat penting seperti kalsium. Limbah domestik juga dapat menimbulkan bau tidak sedap akibat adanya senyawa volatil, gas terlarut, dan hasil dekomposisi bahan organik seperti hidrogen sulfida (H_2S). Jika dibuang ke badan sungai, limbah ini dapat mengakibatkan penurunan keanekaragaman biota air karena masuknya senyawa B3 (Bahan Berbahaya dan Beracun) (Mubin et al., 2017; Sulistia & Septisya, 2020).

Kontaminan dalam air limbah domestik yang terdesentralisasi menimbulkan risiko terhadap kesehatan manusia seperti zat organik dan mikroorganisme patogen (H. Lv et al., 2023). Studi kasus terjadi epidemi kolera di London akibat kontaminasi air limbah. Pada epidemi ini terdapat hubungan antara wabah kolera dan pasokan air yang terkontaminasi di sumur umum *broad street*. Hasil penelitian mengatakan bahwa masyarakat yang terkena kolera adalah masyarakat yang mengambil air minum di sungai *thames* yang telah terkontaminasi limbah (Riffat & Husnain, 2022). Selain penyakit kolera dampak air limbah juga dapat menyebabkan penyakit diare. Diare merupakan masalah kesehatan masyarakat yang utama di antara anak-anak di bawah 5 tahun di pemukiman informal Mataniko, angka prevalensi diare sebesar 45,9% dan berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa diare pada balita berhubungan dengan adanya genangan air limbah (Gali et al., 2020).

Oleh sebab itu, pengolahan air limbah domestik menjadi langkah yang penting agar limbah tersebut aman ketika dibuang ke lingkungan. Selain itu, air limbah yang telah diolah juga dapat dimanfaatkan kembali sebagai upaya efisiensi

penggunaan air, misalnya untuk menyiram tanaman, mencuci kendaraan, dan keperluan lainnya (Bakkara & Purnomo, 2022). Di Asia cara-cara modern dalam mengolah air limbah telah dilakukan namun keterbatasan seperti kurangnya pendanaan, pemulihan biaya, keterampilan teknis, layanan, dan penegakan hukum telah mengakibatkan fasilitas pengolahan yang dikembangkan dan diterapkan dalam skala komersial tidak efisien. Meskipun terdapat keterbatasan, negara-negara tertentu di Asia berupaya keras untuk mengembangkan konsep penggunaan kembali air. Pengolahan air limbah seperti di Jepang, sistem pembuangan limbah modern diperkenalkan pada tahun 1884 yang memiliki tujuan ganda yaitu mengolah air limbah dan mengendalikan banjir. Kemudian pada tahun 1970, sistem saluran pembuangan diwajibkan dan sejak itu sistem saluran pembuangan terpisah telah diadopsi oleh semua kota di Jepang. Instalasi pengolahan di Jepang berfokus pada *sound-material-cycling society* dengan sumber daya yang tersedia dan akumulasi stok limbah di mana air limbah yang diolah telah digunakan untuk pembilasan di kamar kecil dan pemulihan aliran sungai (Shah, 2022).

Pengolahan air limbah domestik yang lazim diterapkan adalah melalui proses biologis konvensional, yang dinilai telah mampu memenuhi standar emisi yang dipersyaratkan (Xiao et al., 2021). Namun, strategi pengolahan biologis konvensional memerlukan biaya yang cukup besar untuk mengolah air limbah domestik (Bai et al., 2024). Penerapan teknologi pengolahan air limbah konvensional juga memerlukan lokasi yang besar, prosedur yang rumit, konsumsi energi yang tinggi, dan biaya pemeliharaan yang tinggi (Rafiaee et al., 2020).

Oleh karena itu dibutuhkan alternatif pengolahan pengganti yang menawarkan alternatif sederhana dan tidak memerlukan biaya besar. Upaya pengolahan tersebut dapat digunakan untuk mengatasi permasalahan air limbah domestik dengan pendekatan bioteknologi (bioremediasi). Bioremediasi adalah suatu proses biologis yang digunakan untuk mendegradasi polutan organik maupun anorganik, dengan tujuan menurunkan konsentrasi zat pencemar hingga mencapai tingkat yang aman bagi lingkungan. Proses ini melibatkan aktivitas metabolisme sel yang dimediasi oleh enzim yang dihasilkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, jamur, alga, dan enzim-enzim spesifik. Reaksi degradasi terhadap polutan dapat berlangsung baik di dalam sel (intraseluler) maupun di luar sel (ekstraseluler) dari mikroorganisme yang berperan dalam proses ini. Dalam bioremediasi, enzim-enzim tersebut dimanfaatkan untuk mengubah senyawa beracun menjadi bentuk yang tidak berbahaya (Vasdravanidis et al., 2022).

Bioremediasi adalah metode yang layak dan murah karena menggunakan aktivitas biologis alami (mikroba) untuk membersihkan area yang terkontaminasi (Gupta & Pathak, 2020) dan metode ini tidak menimbulkan efek samping dalam proses pengolahan (Shah & Shah, 2020). Apabila dibandingkan dengan metode lain, metode ini dapat menawarkan alternatif pengganti sederhana untuk metode yang lebih rumit dan mahal seperti lumpur aktif (Rashid et al., 2022). Bioremediasi dengan menggunakan bakteri adalah proses degradasi yang dilakukan dengan memanfaatkan mikroorganisme *indigenous* dari daerah asal kontaminasi (Afifah & Retnaningrum, 2023).

Potensi bioremediasi dari isolat bakteri tertentu merupakan metode praktis secara finansial dan ramah lingkungan dibandingkan dengan bioremediasi air limbah dengan teknologi mikroalga. Teknologi ini meskipun memiliki potensi besar untuk pemurnian air limbah namun memiliki kelemahan dalam bioremediasi air limbah domestik. Air limbah domestik mengandung organisme hidup dan zat-zat yang tidak diinginkan yang dapat berdampak negatif pada pertumbuhan mikroalga (Do et al., 2022).

Proses biodegradasi dilakukan melalui introduksi bakteri indigenous yang telah diseleksi dari hasil isolasi. Bakteri dengan kemampuan degradasi tertinggi kemudian dikultur dan diinokulasikan kembali ke dalam sampel air, sehingga proses transformasi polutan dapat berlangsung secara lebih efisien. Isolasi bakteri langsung dari limbah akan menghasilkan mikroorganisme lokal (indigen) yang umumnya memiliki kemampuan adaptasi yang lebih baik dibandingkan dengan bakteri dari lingkungan lain. Oleh karena itu, penggunaan teknik bioaugmentasi dengan mikroorganisme spesifik yang sesuai dengan jenis kontaminan sangat dianjurkan (Ammeri et al., 2022). Beberapa polutan tidak dapat dihilangkan melalui pendekatan pengolahan air konvensional sehingga digunakan mikroba melalui proses biologis bioaugmentasi. Pada proses bioaugmentasi, dilakukan penambahan mikroorganisme pada lokasi yang tercemar sebagai pembersih kontaminan pada wilayah tersebut (Garcia & Purwanti, 2022).

Keberadaan bakteri *indigenous* air limbah domestik ini pada penelitian yang telah dilakukan di pulau kodingareng yaitu pada penelitian (Sila et al., 2022) yang mengidentifikasi sejumlah jenis bakteri seperti *Escherichia coli*, *Acinetobacter iwoffii*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Proteus mirabilis*, dan *Pseudomonas* sp. Penelitian tersebut menunjukkan bahwa pH air limbah domestik berada dalam rentang 6,1 hingga 8,0, sementara suhu berkisar antara 26 hingga 27°C. Rentang nilai tersebut tergolong optimal untuk mendukung pertumbuhan bakteri yang berperan dalam penguraian bahan pencemar organik. Bakteri yang berperan sebagai agen bioremediasi pada air limbah domestik antara lain *Bacillus* sp., *Pseudomonas* sp., dan *Acinetobacter* sp. Ketiga spesies tersebut menunjukkan aktivitas sinergis dalam proses biodegradasi senyawa pencemar organik. Mekanisme degradasi berlangsung melalui produksi enzim-enzim hidrolitik seperti protease, amilase, dan lipase yang berfungsi dalam pemecahan protein, karbohidrat, dan lemak, sehingga mempercepat proses detoksifikasi dan mineralisasi polutan dalam lingkungan limbah (Novitasari et al., 2021).

Pengolahan air limbah dengan bioremediasi perlu memperhatikan parameter penting kualitas air limbah yaitu parameter organik. Parameter organik merupakan ukuran jumlah zat organik yang terdapat dalam limbah terdiri dari *Chemical Oxygen Demand* (COD), *Biochemical Oxygen Demand* (BOD) (Masyuroh, 2023). Parameter COD merupakan jumlah oksigen terlarut yang dibutuhkan untuk menstabilkan dan mengoksidasi kandungan anorganik dan organik dari larutan tertentu. COD merupakan indikator tingkat pencemaran air akibat keberadaan senyawa organik yang dapat dioksidasi secara kimia maupun biologis, yang pada akhirnya dapat menyebabkan penurunan kadar oksigen terlarut di perairan. Sementara itu, BOD merupakan salah satu parameter yang paling umum digunakan dalam analisis

kualitas air limbah dan air permukaan. Parameter ini mengukur jumlah oksigen terlarut yang dikonsumsi oleh mikroorganisme selama proses dekomposisi aerobik senyawa organik pada suhu tertentu. Baik BOD maupun COD digunakan sebagai parameter utama dalam penilaian kualitas limbah, karena keduanya mencerminkan tingkat pencemaran organik dan potensi penurunan oksigen terlarut dalam badan air (Andika et al., 2020).

Sejumlah mikroba telah terbukti secara signifikan mengurangi kadar COD dan BOD dalam air limbah. Berdasarkan penelitian (Wardhani & Titah, 2020) menyatakan bakteri yang terbukti dapat digunakan untuk bioremediasi adalah *Bacillus subtilis* dan *Pseudomonas putida*. Secara umum, genus *Pseudomonas* tidak secara konstitutif menghasilkan enzim hidrolitik utama yang berperan dalam pemecahan polimer menjadi monomer. Namun, bakteri ini memiliki sistem *inducible operon* yang memungkinkan ekspresi enzim-enzim tertentu yang tidak secara langsung terlibat dalam metabolisme sumber karbon utama. Kemampuan ini menjadikan *Pseudomonas* sebagai agen yang signifikan dalam proses biodegradasi senyawa kompleks di lingkungan (Anggraeni & Triajie, 2021). Biodegradasi dengan menggunakan bakteri *indigenous* menunjukkan penurunan nilai COD, BOD, dan TDS yang signifikan.

Penelitian serupa dilakukan oleh (Gholami et al., 2022) dimana bakteri *indigenous* hasil isolasi berhasil menurunkan nilai BOD dan COD limbah cair pabrik kertas daur ulang dan limbah cair industri hingga 70%. Bakteri dengan genus *Pseudomonas* mampu menurunkan COD (1%), BOD (33%), TSS (2.9%), dan nitrogen total (12%), serta meningkatkan kadar amilum (1.9%). Kemampuan ini terkait dengan aktivitas degradasi senyawa organik melalui proses oksidasi dan respirasi, yang mengubah senyawa kompleks menjadi molekul sederhana (Andika et al., 2020).

Pseudomonas menunjukkan kemampuan yang signifikan untuk bertahan dan beradaptasi terhadap kondisi lingkungan yang ekstrem, termasuk air limbah yang terkontaminasi. Spesies seperti *Pseudomonas putida* dan *Pseudomonas fluorescens* memiliki kemampuan untuk mendegradasi berbagai polutan yang terdapat dalam air limbah termasuk senyawa organik beracun dan hidrokarbon. Kemampuan ini terkait dengan mekanisme resistensi yang dimiliki oleh *Pseudomonas* yang tidak hanya bertahan hidup tetapi juga berkembang biak dalam lingkungan yang terkontaminasi. *Pseudomonas putida* dikenal karena kemampuannya dalam memecah senyawa aromatik dan senyawa beracun menjadikannya pilihan yang baik untuk aplikasi bioremediasi di lingkungan yang terkontaminasi. Sementara itu, *Pseudomonas fluorescens* juga memiliki sifat yang bermanfaat dalam mengendalikan patogen tanaman dan meningkatkan kesehatan tanah yang dapat berkontribusi pada proses bioremediasi (Lalucat et al., 2020).

Selain kedua spesies yang telah disebutkan, *Pseudomonas aeruginosa* juga diketahui memiliki kemampuan dalam mendegradasi berbagai polutan yang terdapat dalam air limbah. Salah satu peran penting *Pseudomonas aeruginosa* dalam proses bioremediasi adalah sebagai bioadsorben yang efektif dalam mengikat logam berat seperti tembaga (Cu), kadmium (Cd), dan timbal (Pb) dari limbah domestik. Bakteri ini bersifat motil dan mampu mendekomposisi senyawa organik dalam limbah cair, sehingga menghasilkan lingkungan yang lebih aman.

Selain itu, residu yang dihasilkan dari proses dekomposisi oleh *Pseudomonas aeruginosa* bersifat tidak toksik dan tidak memberikan dampak negatif terhadap ekosistem (Alifiansyah et al., 2023). *Pseudomonas aeruginosa* dapat memanfaatkan berbagai sumber karbon dan energi, serta memiliki sistem enzimatik yang efisien untuk mendegradasi polutan (Lalucat et al., 2020).

Pseudomonas aeruginosa merupakan bakteri proteolitik yang memiliki kapabilitas untuk mensintesis dan mensekresikan enzim protease ke lingkungan eksternal. Enzim protease tersebut berfungsi mengkatalisis reaksi hidrolisis terhadap senyawa-senyawa protein, menghasilkan produk degradasi berupa oligopeptida, peptida rantai pendek, dan asam amino. Aktivitas enzimatik ini berperan penting dalam menyediakan sumber nitrogen yang esensial bagi metabolisme seluler, karena produk-produk hasil hidrolisis tersebut dapat diangkut ke dalam sel dan dimanfaatkan dalam berbagai proses fisiologis (Hanum et al., 2022). Selain itu *Pseudomonas aeruginosa* juga berperan dalam menguraikan karbohidrat. Bakteri ini memiliki kemampuan untuk mensintesis enzim-enzim amilolitik, seperti α -amilase, eksomaltopentahidrolase, dan isoamilase. Enzim-enzim tersebut berperan sebagai katalis dalam proses hidrolisis ikatan glikosidik α -1,3; α -1,4; dan α -1,6 yang terdapat pada struktur pati. Proses hidrolisis ini menghasilkan produk akhir berupa gula sederhana, antara lain glukosa, oligosakarida, dan maltosa (Waluyo, 2018).

Masalah air limbah domestik merupakan isu signifikan di Indonesia, termasuk di wilayah pesisir kepulauan. Sekitar 60% dari total 250 juta penduduk Indonesia tinggal di daerah pesisir, sehingga peningkatan jumlah penduduk berdampak langsung pada meningkatnya produksi air limbah (Prastiwi & Rosariawari, 2023). Kondisi ini menyebabkan wilayah pesisir menjadi rentan terhadap penurunan kualitas lingkungan perairan sekitarnya. Permasalahan serupa juga terjadi di Pulau Barrang Lompo, yang secara geografis termasuk dalam gugusan Kepulauan Spermonde dan secara administratif berada di bawah wilayah Kelurahan Barrang Lompo, Kecamatan Ujung Tanah, Kota Makassar. Pulau ini memiliki karakteristik air tanah yang payau, dan kualitas airnya sangat dipengaruhi oleh aktivitas sehari-hari masyarakat. Berdasarkan data profil Kelurahan Barrang Lompo tahun 2024, jumlah penduduk di wilayah ini mencapai 5.227 jiwa. Peningkatan jumlah penduduk dan aktivitas ekonomi dari tahun ke tahun turut mendorong peningkatan volume air limbah domestik di Pulau tersebut.

Salah satu permasalahan utama yang terjadi di pulau ini adalah kurangnya kesadaran masyarakat dalam mengelola air limbah, yang terlihat dari kebiasaan membuang limbah langsung ke laut atau perairan sekitar tanpa melalui proses pengolahan terlebih dahulu. Berdasarkan hasil interview dengan koordinator IPAL Barrang Lompo, pemerintah telah membangun pengolahan air limbah dengan sistem pengolahan air limbah komunal (IPAL) di pulau tersebut. IPAL yang telah dibangun sebanyak 15 IPAL, namun hanya 7 yang digunakan dan 8 tidak digunakan masyarakat. Adapun alasan masyarakat tidak memanfaatkan IPAL yang telah disediakan adalah IPAL yang telah dibangun menimbulkan bau dan berefek pada air sumur masyarakat yang sebelumnya air sumur tersebut bersih menjadi berbau. Kurangnya pengelolaan instalasi pengolahan air limbah (IPAL) yang tepat dapat

menimbulkan masalah kesehatan masyarakat dan ekologi yang serius dan memicu berbagai penyakit yang ditularkan melalui air sehingga dapat memengaruhi kehidupan akuatik dan manusia (Yu et al., 2024).

Pencemaran sumber air, seperti sumur gali yang terkontaminasi oleh bakteri patogen *Enterobacter hafniae* dan *Staphylococcus aureus* berisiko tinggi menimbulkan penyakit diare pada masyarakat. Berdasarkan data dari Puskesmas Barrang Lompo, tercatat adanya peningkatan kasus diare di wilayah tersebut, dari 153 kasus pada tahun 2022 menjadi 201 kasus pada tahun 2023. Penyakit diare tidak hanya berkaitan dengan kebersihan pribadi (*personal hygiene*), tetapi juga sangat dipengaruhi oleh kondisi saluran pembuangan air limbah masyarakat. Umumnya, kejadian diare disebabkan oleh sanitasi dasar yang buruk, yang memungkinkan masuknya mikroorganisme patogen ke dalam tubuh dan memicu intoksikasi. Pada penelitian yang dilaksanakan di Pulau Barrang Lompo mengungkapkan bahwa ketersediaan sarana pembuangan air limbah (SPAL) merupakan salah satu indikator krusial dalam penilaian sanitasi lingkungan. Pada penelitian tersebut, SPAL terbukti memiliki pengaruh terhadap kejadian diare di masyarakat (Birawida et al., 2020).

Pada penelitian Subhan et al. (2020) menunjukkan bahwa air sumur dangkal yang digunakan sebagai sumber air minum di Pulau Barrang Lompo mengandung konsentrasi deterjen sebesar 0,11 mg/L, yang melebihi ambang batas yang ditetapkan oleh Permenkes RI. Kandungan deterjen dalam air tanah dapat menimbulkan risiko kesehatan bagi masyarakat, terutama karena air tercemar tersebut sering digunakan secara berulang. Paparan jangka panjang terhadap deterjen dan bahan kimia lainnya dalam air limbah dapat meningkatkan akumulasi zat pencemar, yang berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan seperti masalah pencernaan atau kerusakan organ.

Berdasarkan latar belakang tersebut, dilakukan penelitian untuk menguji efektivitas bakteri *Pseudomonas sp.* dalam menurunkan kadar BOD dan COD pada air limbah domestik melalui pendekatan bioremediasi. Berdasarkan hasil pemeriksaan awal menunjukkan bahwa kandungan BOD dan COD pada air limbah domestik di Pulau Barrang Lompo melebihi ambang batas baku mutu yang ditetapkan. Nilai BOD terukur sebesar 177,5 mg/L, jauh di atas batas maksimum yang disarankan dalam baku mutu air limbah domestik, yaitu 30 mg/L. Demikian pula, kadar COD awal tercatat sebesar 449,32 mg/L, melebihi nilai ambang batas sebesar 100 mg/L. Kondisi ini mencerminkan tingginya beban bahan organik dalam limbah yang dapat menyebabkan penurunan kualitas lingkungan. Olehnya itu, dilakukan upaya pengolahan limbah melalui metode bioremediasi yang memanfaatkan aktivitas mikroorganisme/bakteri untuk menguraikan senyawa pencemar organik secara biologis dan ramah lingkungan. Bakteri ini mempunyai potensi besar digunakan sebagai agen pembersih bahan pencemar dalam air limbah domestik. Bakteri ini memiliki keuntungan diantaranya biaya yang lebih murah karena berasal dari air limbah itu sendiri, kemampuan mendegradasi yang baik terbukti dari beberapa penelitian yang telah dilakukan. Selain itu, bakteri ini telah beradaptasi dengan kondisi lingkungan lokal, termasuk suhu, pH, dan nutrisi yang tersedia (Martiningsih & Rahmi, 2019).

Metode bioremediasi lebih efisien dan efektif dalam menghilangkan polutan-polutan dalam air limbah domestik. Bioremediasi dapat menemukan isolat khusus pendegradasi air limbah domestik dengan menggunakan bakteri asal air limbah itu sendiri. Upaya ini berkontribusi dalam mempertahankan keseimbangan ekosistem serta meminimalkan dampak merugikan terhadap lingkungan. Menurut (Crini & Lichtfouse, 2019) menunjukkan bahwa metode ini merupakan metode yang sederhana, diterima dengan baik oleh para pencinta lingkungan dan masyarakat serta menarik secara ekonomi. Selain itu, metode ini memberikan efek positif terhadap adaptasi perubahan iklim. Hal ini karena sejumlah besar varietas spesies yang berbeda sebagai kultur murni dapat digunakan untuk mendegradasi kontaminan dalam air limbah (Ojha et al., 2021). Keberhasilan bioremediasi dalam pengolahan air limbah telah banyak dilaporkan, antara lain dalam penghilangan padatan tersuspensi, BOD, COD, materi biodegradable, logam berat, hingga hidrokarbon (Mrozik, 2021).

Penelitian ini memiliki kebaruan dalam penerapan *Pseudomonas sp.* untuk menurunkan kadar BOD dan COD pada air limbah domestik yang berasal dari wilayah pesisir, khususnya di Pulau Barrang Lompo, Kota Makassar. Sebagian besar penelitian sebelumnya lebih banyak difokuskan pada limbah industri atau rumah sakit, sementara kajian mengenai efektivitas bakteri ini pada limbah domestik di daerah kepulauan yang memiliki karakteristik fisik-kimia berbeda masih sangat terbatas. Bioremediasi menjadi salah satu pendekatan yang relevan untuk diterapkan di wilayah kepulauan. Di wilayah kepulauan, keberadaan mikroorganisme lokal (indigenous) yang telah beradaptasi dengan kondisi perairan bersalinitas tinggi merupakan potensi besar dalam penerapan bioremediasi. Penerapan bioremediasi di wilayah kepulauan juga sejalan dengan kebutuhan untuk menjaga keberlanjutan ekosistem laut. Selain itu, bioremediasi berpeluang dikombinasikan dengan pendekatan berbasis ekosistem, seperti rehabilitasi mangrove, budidaya kerang, atau penanaman rumput laut yang juga memiliki fungsi biofilter alami. Integrasi ini tidak hanya meningkatkan efektivitas pengendalian pencemar, tetapi juga memberikan manfaat ekonomi dan ekologis bagi masyarakat kepulauan.

Oleh karena itu, pengembangan bioremediasi di wilayah kepulauan merupakan langkah strategis dalam pengelolaan lingkungan berkelanjutan. Implementasi teknologi ini tidak hanya membantu mengurangi pencemaran, tetapi juga mendukung kualitas hidup masyarakat yang sangat bergantung pada sumber daya laut. Penelitian dan pengembangan lebih lanjut diperlukan untuk mengidentifikasi jenis mikroba potensial, optimasi kondisi lingkungan, serta model penerapan yang sesuai dengan karakteristik sosial-ekonomi masyarakat kepulauan. Dengan demikian, bioremediasi dapat menjadi solusi inovatif dalam menjaga keseimbangan ekosistem sekaligus mendorong pembangunan berkelanjutan di wilayah kepulauan.

1.2 Teori tentang Bioremediasi

Bioremediasi adalah pengolahan air limbah dengan menggunakan mikroorganisme hidup untuk mendegradasi kontaminan berbahaya menjadi bentuk yang tidak berbahaya. Proses ini menggunakan bakteri dan jamur atau tanaman yang terjadi secara alami untuk mendegradasi atau mendetoksifikasi zat-zat berbahaya bagi kesehatan manusia atau lingkungan. Bioremediasi terjadi ketika interaksi antara

mikroorganisme dengan polutan sasaran. Interaksinya bergantung pada karakteristik metabolik dan sifat kimia polutan (Naloka et al., 2024). Beberapa strategi dapat dilakukan untuk dapat meningkatkan tingkat keberhasilan bioremediasi yaitu sebagai berikut

1. Bioaugmentasi

Bioaugmentasi adalah teknik dalam bioremediasi dengan cara menambahkan mikroorganisme spesifik yang sudah terbukti efektif untuk mempercepat proses degradasi polutan. Bioaugmentasi merupakan proses inokulasi mikroorganisme ke dalam lokasi yang terkontaminasi guna mempercepat proses biodegradasi. Mikroorganisme yang digunakan sebagai inokulan dapat berasal dari strain alami maupun hasil rekayasa genetika, dan dapat diaplikasikan dalam bentuk individu tunggal ataupun konsorsium mikroba. Mikroba diseleksi dengan media tertentu untuk melihat apakah mempunyai potensi yang tinggi untuk menguraikan polutan. Mikroorganisme yang memiliki kemampuan spesifik dalam menguraikan kontaminan tertentu ditambahkan ke dalam air atau tanah yang telah tercemar. Pendekatan ini merupakan salah satu metode yang paling umum diterapkan dalam upaya remediasi lingkungan terhadap pencemaran (Kuppan et al., 2024).

Bioaugmentasi melibatkan penambahan kultur mikroba yang telah tumbuh sebelumnya untuk meningkatkan degradasi senyawa yang tidak diinginkan (Ayilara & Babalola, 2023; John et al., 2020). Bioaugmentasi atau penambahan mikroorganisme telah menjadi alternatif strategi yang menarik untuk bioremediasi. Keuntungan bioremediasi adalah proses ini terjadi secara alami karena menggunakan mikroba yang dapat secara efektif memetabolisme kontaminan dan tumbuh di dalamnya. Residu atau produk akhir tidak berbahaya dan tidak beracun. Proses *in situ* ini tidak memerlukan perpindahan kontaminan dari satu media ke media lainnya sehingga tidak memiliki potensi menimbulkan ancaman terhadap kesehatan manusia dan lingkungan. Bioremediasi adalah proses yang relative murah untuk menghilangkan kontaminan berbahaya (Shah & Rodriguez, 2021).

2. Bioreaktor

Bioreaktor adalah teknologi penggunaan alat atau sistem yang dirancang untuk mendukung reaksi biokimia yang melibatkan mikroorganisme, enzim atau sel tanaman yang bertujuan mengolah bahan organik dan limbah atau menghasilkan produk tertentu. Pada konteks bioremediasi, bioreaktor digunakan untuk mengendalikan dan mengoptimalkan proses degradasi polutan seperti bahan kimia beracun, logam berat atau polutan organik lainnya melalui aktivitas mikroorganisme atau sel biologis. Keunggulan penggunaan bioreaktor yaitu dapat mengontrol faktor lingkungan seperti suhu, pH dan kandungan oksigen terkontrol secara sistematis sehingga proses degradasi menjadi lebih efisien. Selain itu mikroorganisme dapat bekerja lebih efisien dan efektif dalam menguraikan polutan karena kondisi dapat dioptimalkan (Ashar et al., 2024).

Bioreaktor digunakan sebagai strategi terkontrol untuk mengoptimalkan proses degradasi polutan dengan mikroorganisme. Strategi ini dikenal sebagai bioremediasi *ex-situ*, di mana limbah tercemar diproses di luar lokasi

menggunakan bioreaktor. Bioreaktor adalah wadah di mana bahan baku diubah menjadi produk tertentu setelah serangkaian reaksi biologis. Ada beberapa mode operasi bioreaktor, yaitu: *batch*, *fed-batch*, *sequencing batch*, *continuous* dan *multistage*. Bioreaktor menyediakan kondisi pertumbuhan yang optimal untuk bioremediasi. Bioreaktor diisi dengan sampel yang tercemar untuk proses remediasi. Pengolahan tanah yang tercemar berbasis bioreaktor memiliki beberapa keunggulan dibandingkan dengan prosedur bioremediasi ex-situ. Proses bioremediasi berbasis bioreaktor yang memiliki kontrol pH, suhu, agitasi dan aerasi, konsentrasi substrat dan inokulum yang sangat baik secara efisien mengurangi waktu bioremediasi. Kemampuan dalam mengatur serta mengendalikan parameter-parameter proses di dalam bioreaktor menunjukkan adanya keterlibatan reaksi biologis. Desain bioreaktor yang bersifat fleksibel memungkinkan terjadinya degradasi biologis secara optimal, sekaligus meminimalkan kerugian akibat proses abiotik (Hassan et al., 2023).

1.3 Teori tentang BOD dan COD

1. BOD (*Biological Oxygen Demand*)

BOD merupakan salah satu parameter kimia yang digunakan untuk menilai kualitas limbah cair di perairan. Nilai BOD merepresentasikan jumlah oksigen yang dibutuhkan oleh mikroorganisme dalam proses dekomposisi biologis senyawa organik yang terkandung dalam limbah cair. Tingginya nilai BOD mengindikasikan penurunan kualitas air yang disebabkan oleh akumulasi polutan organik. Senyawa organik tersebut akan diuraikan oleh aktivitas mikroorganisme, yang membutuhkan oksigen terlarut (DO) dalam prosesnya. Semakin tinggi konsentrasi senyawa organik terlarut dalam air limbah, maka kebutuhan oksigen juga akan meningkat, sehingga menyebabkan penurunan kadar oksigen terlarut (Mulyadi & Ajid, 2020).

Pengukuran BOD dilakukan sebagai bagian dari prosedur oksidasi biologis, di mana mikroorganisme berperan sebagai agen pengurai senyawa organik menjadi karbon dioksida (CO_2) dan air (H_2O). Melalui proses ini, dapat diestimasi jumlah bahan organik yang bersifat mudah terdegradasi (biodegradable) dalam air. Pengujian BOD secara luas digunakan untuk mengevaluasi tingkat pencemaran perairan (Yulis et al., 2018). Berdasarkan Peraturan Pemerintah Republik Indonesia Nomor 22 Tahun 2021 tentang Penyelenggaraan Perlindungan dan Pengelolaan Lingkungan Hidup, ambang batas BOD untuk air kelas III ditetapkan sebesar 6 mg/L. Nilai BOD yang tinggi umumnya berkorelasi dengan tingginya populasi mikroorganisme dalam air, yang berpotensi menimbulkan gangguan kesehatan, seperti infeksi saluran pencernaan, termasuk diare (Rachmawati et al., 2019).

2. COD (*Chemical Oxygen Demand*)

merupakan jumlah oksigen yang dibutuhkan untuk mengoksidasi seluruh senyawa organik yang terdapat dalam air, baik yang dapat terurai secara biologis maupun yang resisten terhadap degradasi biologis. COD adalah kapasitas air untuk menggunakan oksigen selama peruraian senyawa organik terlarut dan mengoksidasi senyawa anorganik seperti ammonia dan nitrit (*biological* / *biochemical*). Kebutuhan oksigen kimia adalah suatu uji yang menentukan jumlah

oksigen yang dibutuhkan oleh bahan oksidan untuk mengoksidasi bahan organik yang terdapat didalam air. Nilai COD merupakan ukuran bagi tingkat pencemaran oleh bahan organik (Ajalín et al., 2022).

1.4 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang masalah di atas, yang menjadi rumusan masalah dalam penelitian ini yaitu bagaimana efektivitas bakteri *Pseudomonas sp.* dalam mendegradasi BOD dan COD pada air limbah domestik Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.

1.5 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan umum dan tujuan khusus pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Tujuan Umum

Untuk menguji efektivitas bakteri *Pseudomonas sp.* dalam mendegradasi BOD dan COD pada air limbah domestik Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.

2. Tujuan Khusus

- a. Mengidentifikasi keberadaan bakteri *Pseudomonas sp.* pada air limbah domestik di Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.
- b. Menganalisis perbedaan BOD antar konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi pada air limbah domestik di Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.
- c. Menganalisis perbedaan COD antar konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi pada air limbah domestik di Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.
- d. Menganalisis efektivitas bakteri *Pseudomonas sp.* dalam mendegradasi BOD pada air limbah domestik Pulau Barrang Lompo Kota Makassar
- e. Menganalisis efektivitas bakteri *Pseudomonas sp.* dalam mendegradasi COD pada air limbah domestik Pulau Barrang Lompo Kota Makassar

1.6 Manfaat Penelitian

Adapun manfaat penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Manfaat Ilmiah

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi salah satu informasi dan referensi yang menjadi acuan untuk penelitian selanjutnya bagi mahasiswa terkait efektivitas bakteri *Pseudomonas sp.* dalam mendegradasi BOD dan COD pada air limbah domestik Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.

2. Manfaat Praktis

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan acuan pemerintah kelurahan barrang lompo tentang pemanfaatan bakteri *Pseudomonas sp.* dalam mendegradasi BOD dan COD pada air limbah domestik Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.

3. Manfaat Masyarakat

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan pengetahuan kepada masyarakat tentang pemanfaatan bakteri sebagai agen bioremedias air limbah domestik Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.

1.7 Studi Penelitian Terdahulu

Berikut beberapa artikel terkait efektivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam mendegradasi BOD dan COD pada air limbah domestik di pulau barrang lompo kota makassar.yaitu pada tabel 1.1 berikut:

Tabel 1.1 Studi Penelitian Terdahulu

No	Penulis	Judul penelitian	Hasil
1.	(Khairunnisa et al., 2024)	Pengaruh bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dengan penambahan ekoenzim kulit nanas terhadap konsentrasi COD dan BOD pada limbah cair rumah potong hewan	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> menunjukkan pengaruh signifikan terhadap penurunan kadar COD dan BOD dalam limbah cair rumah potong hewan. Perlakuan terbaik untuk penurunan COD diperoleh pada kombinasi P4 (<i>Pseudomonas aeruginosa</i> dan ekoenzim), dengan konsentrasi rata-rata sebesar 2.466 mg/L pada hari ke-0 yang menurun menjadi 1.818 mg/L setelah 10 hari inkubasi. Selanjutnya, perlakuan P2 (hanya <i>Pseudomonas aeruginosa</i>) mengalami penurunan dari rata-rata 2.499 mg/L menjadi 1.827 mg/L setelah inkubasi 10 hari. Sementara itu, penurunan BOD hanya terjadi pada perlakuan P2, yaitu dari rata-rata 132,84 mg/L pada hari ke-0 menjadi 85,20 mg/L setelah 10 hari inkubasi
2.	(Chellapandian et al., 2024)	<i>Bioremediation of textile effluent using indigenous</i>	Penurunan BOD 70.16 % dan COD 49.23 % pada limbah pewarna tekstil
3.	(Faruok et al., 2024)	<i>Application of Pseudomonas aeruginosa and Bacillus subtilis for Heavy Metal Bioremediation in Wastewater from Wupa Wastewater Treatment Plant, Abuja, Nigeria.</i>	Hasil penelitian menunjukkan bahwa aplikasi <i>Pseudomonas aeruginosa</i> efektif dalam menurunkan kadar <i>Biochemical Oxygen Demand</i> (BOD) pada air limbah domestik yang tercemar logam berat. Nilai konduktivitas, BOD5, dan DO (Dissolved Oxygen) pada air limbah yang tidak diolah menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0,05$) dibandingkan dengan kontrol
4.	(Mirtasari, 2024)	Efektivitas Isolat Bakteri <i>Indigenous</i> dari Tanah Tpa Piyungan untuk Bioremediasi Logam Kadmium (Cd) pada Air Limbah Industri Tekstil	Hasil penelitian menunjukkan bahwa bakteri dengan konsentrasi 0,5% mampu menurunkan BOD sebesar 90% dan COD sebesar 73%, sedangkan pada konsentrasi 0,9%, penurunan BOD mencapai 89% dan COD sebesar 75%.

5.	(Arliyani et al., 2023)	<i>Enhanced leachate phytodetoxification test combined with plants and Rhizobacteria bioaugmentation</i>	Efisiensi penurunan COD dan BOD >70%
6.	(Harahap et al., 2023)	Kemampuan <i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1 dalam serapan logam besi (Fe) pada limbah lindi di TPA gampong jawa kota banda aceh	Temuan penelitian menunjukkan bahwa penurunan konsentrasi logam Fe, COD, TSS, dan pH pada limbah lindi mencapai tingkat tertinggi pada waktu kontak selama 30 jam. Konsentrasi Fe berhasil ditekan hingga 4,45 mg/L dengan efisiensi penyerapan sebesar 38,19%. Nilai COD mengalami penurunan dari 1.432 mg/L menjadi 1.301 mg/L. Selain itu, konsentrasi TSS menurun dari 223 mg/L menjadi 213 mg/L, dan nilai pH mengalami penurunan signifikan dari 9,6 menjadi 8,1
7.	(Ratna and Kumar, 2022)	<i>Production of di-rhamnolipid with simultaneous distillery wastewater degradation and detoxification by newly isolated Pseudomonas aeruginosa SRRBL1</i>	Penurunan COD 61.32% dan BOD 53.53% pada limbah cair dari industri penyulingan alkohol
8.	(Al-Ansari et al., 2021)	<i>Effective removal of heavy metals from industrial effluent wastewater by a multi metal and drug resistant Pseudomonas aeruginosa Strain RA-14 using integrated sequencing batch reactor</i>	Efisiensi penurunan BOD dan COD $91.3 \pm 2.1\%$, $97.6 \pm 3.3\%$, dan $94.3 \pm 4.4\%$ pada limbah cair industri
9.	(Ruan et al., 2020)	<i>Bioaugmentation and quorum sensing disruption as solutions to increase nitrate removal in sequencing batch reactors treating nitrate-rich wastewater</i>	Efisiensi penghilangan COD 92% pada reaktor BA dan 85% tanpa reaktor
10.	(Mallick & Chakraborty, 2019)	<i>Bioremediation of Wastewater from Automobile Service Station in Anoxic-Aerobic Sequential Reactors and Microbial Analysis</i>	Pengolahan air limbah dari bengkel servis kendaraan bermotor menggunakan sistem reaktor berurutan anoksik-aerobik efektif dalam menurunkan kadar COD. Melalui kombinasi waktu tinggal hidraulik selama 24 jam, sistem ini mampu menurunkan COD hingga 94%, sehingga efluen akhir memenuhi batas baku mutu untuk potensi pemanfaatan kembali.

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *Pseudomonas sp.* memiliki potensi besar dalam proses bioremediasi, khususnya dalam menurunkan kadar BOD (*Biological Oxygen Demand*) dan COD (*Chemical Oxygen Demand*) pada berbagai jenis limbah. Penelitian oleh Khairunnisa et al. (2024) membuktikan bahwa kombinasi *Pseudomonas aeruginosa* dengan bioaktivator ekoenzim kulit nanas mampu menurunkan BOD dan COD limbah cair rumah potong hewan secara signifikan, dengan efisiensi penurunan yang lebih tinggi dibandingkan perlakuan tunggal. Hal ini menunjukkan bahwa sinergi antara bakteri dan bahan alami dapat meningkatkan efektivitas degradasi organik.

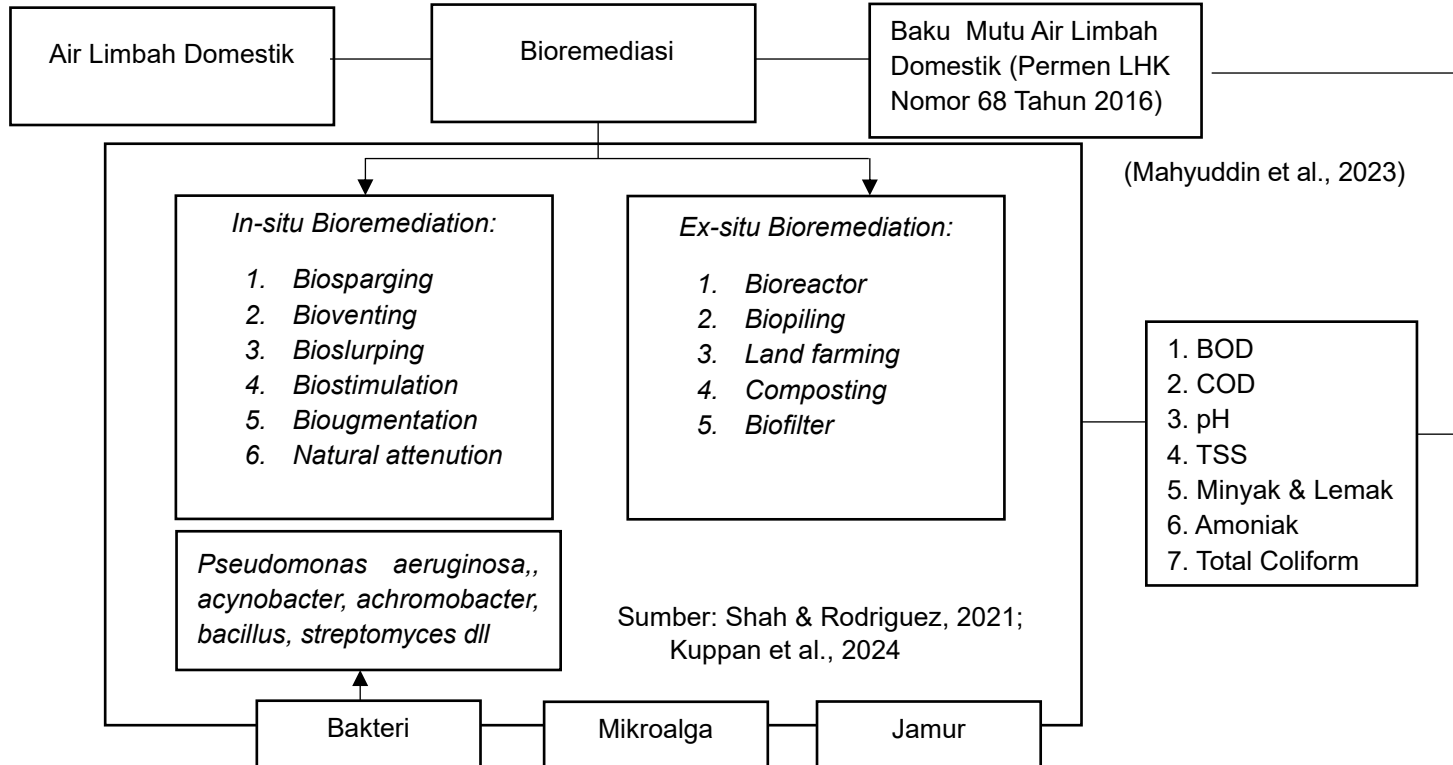
Chellapandian et al. (2024) juga menemukan bahwa bioremediasi limbah tekstil menggunakan bakteri indigenous menghasilkan penurunan BOD sebesar 70,16% dan COD sebesar 49,23%. Sejalan dengan itu, Farouk et al. (2024) melaporkan bahwa aplikasi *Pseudomonas aeruginosa* bersama *Bacillus subtilis* efektif menurunkan BOD pada limbah domestik yang terkontaminasi logam berat. Penelitian lain oleh Mirtasari (2024) menunjukkan efektivitas isolat bakteri indigenous dari tanah TPA dalam menurunkan BOD hingga 90% dan COD hingga 73%, menegaskan bahwa bakteri lokal yang telah beradaptasi dengan kondisi pencemar spesifik dapat memberikan hasil optimal.

Selain pada limbah domestik, *Pseudomonas sp.* juga terbukti efektif pada limbah industri dan lingkungan ekstrem. Arliyani et al. (2023) melaporkan efisiensi penurunan COD dan BOD >70% melalui kombinasi fitodetoksifikasi dan bioaugmentasi rhizobakteria. Sementara itu, Harahap et al. (2023) menunjukkan kemampuan *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 dalam menurunkan konsentrasi logam Fe, COD, TSS, serta memperbaiki pH pada limbah lindi TPA. Penelitian Ratna dan Kumar (2022) menegaskan bahwa *Pseudomonas aeruginosa* mampu menurunkan BOD dan COD lebih dari 50% pada limbah industri penyulingan alkohol.

Efisiensi tinggi juga ditunjukkan oleh penelitian Al-Ansari et al. (2021) dengan strain *Pseudomonas aeruginosa* RA-14 yang resisten logam berat, menghasilkan penurunan BOD dan COD lebih dari 90%. Ruan et al. (2020) menambahkan bahwa bioaugmentasi dengan *Pseudomonas sp.* dapat meningkatkan penghilangan COD hingga 92% pada sistem reaktor batch berurutan. Sementara itu, Mallick dan Chakraborty (2019) membuktikan bahwa sistem reaktor anoksik-aerobik yang diinokulasi bakteri efektif menurunkan COD limbah bengkel hingga 94%, mendekati baku mutu pemanfaatan kembali.

1.8 Kerangka Teori

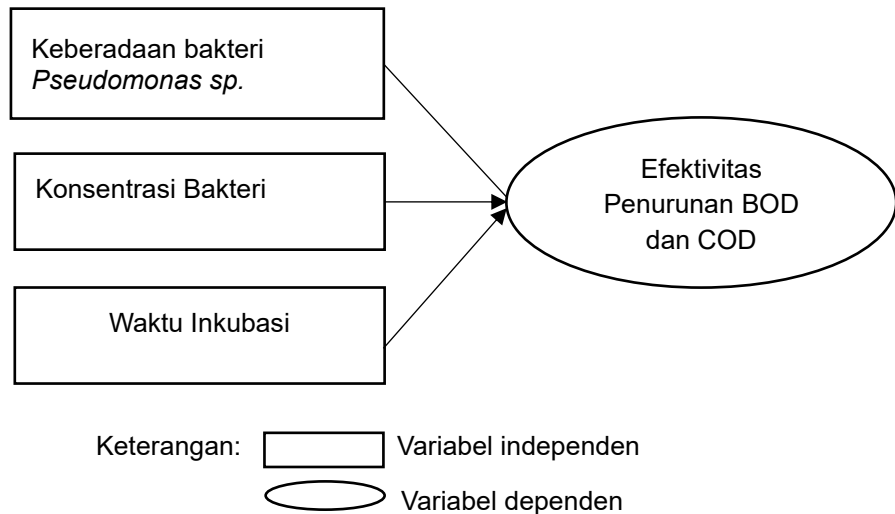
Berikut ini adalah kerangka teori yang menjadi acuan dalam penelitian ini disajikan pada gambar 1.1 berikut:



Gambar 1.1 Kerangka Teori Penelitian

1.9 Kerangka Konsep

Adapun kerangka konsep dalam penelitian ini yaitu pada gambar 1.2 berikut:



Gambar 1.2 Kerangka Konsep Penelitian

Pada kerangka konsep diatas, dapat dijabarkan yaitu sebagai berikut:

a. Variabel independen (bebas)

Variabel independen adalah variabel yang memiliki pengaruh terhadap variabel dependen, yaitu variabel yang menjadi faktor penyebab terjadinya perubahan atau munculnya respons pada variabel dependen (Sugiyono, 2019). Pada penelitian ini yang menjadi variabel independen adalah keberadaan bakteri *Pseudomonas sp.*, konsentrasi Bakteri (0%, 5%, 10% dan 15%) dan waktu inkubasi (2 hari, 4 hari, 6 hari dan 8 hari).

b. Variabel dependen (terikat)

Variabel dependen adalah variabel yang mengalami perubahan sebagai dampak dari pengaruh variabel independen (Sugiyono, 2019). Dalam penelitian ini, variabel dependen yang diamati adalah penurunan kadar BOD dan COD.

1.10 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

Definisi operasional beserta kriteria objektif dari variabel-variabel yang digunakan dalam penelitian mengenai efektivitas bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dalam mendegradasi BOD dan COD pada air limbah domestik di Pulau Barrang Lompo, Kota Makassar, sebagaimana disajikan pada Tabel 1.2 berikut:

Tabel 1.2 Definisi Operasional dan Kriteria Objektif

Variabel	Definisi Operasional	Kriteria objektif	Skala	Cara Ukur
Keberadaan bakteri <i>Pseudomonas sp.</i>	<i>Pseudomonas sp.</i> Yaitu bakteri berbentuk batang, berwarna hijau, bersifat aerob obligat	1. Ada jika sesuai dengan karakteristik <i>Pseudomonas sp.</i> 2. Tidak ada jika tidak sesuai dengan karakteristik <i>Pseudomonas sp.</i>	Nominal	Uji MALDI-TOF MS
Konsentrasi bakteri	Persentase konsentrasi bakteri <i>Pseudomonas sp.</i> yang diinokulasikan kedalam air limbah (0%, 5%, 10% dan 15%)	-	Rasio	Jumlah bakteri = konsentrasi bakteri × volume limbah
Waktu inkubasi	Lama waktu perlakuan berlangsung oleh bakteri terhadap air limbah (2 hari, 4 hari, 6 hari dan 8 hari)	-	Rasio	2 hari, 4 hari, 6 hari dan 8 hari
Penurunan BOD	Rerata perbedaan BOD berdasarkan konsentrasi bakteri 0%, 5%, 10%, 15% dan waktu inkubasi 2 hari, 4 hari, 6 hari, 8 hari	1. Signifikan: Terdapat perbedaan konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi terhadap BOD ($p < 0,05$). 2. Tidak signifikan: Tidak terdapat perbedaan konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi terhadap BOD ($p > 0,05$).	Rasio	-
Penurunan COD	Rerata perbedaan COD berdasarkan konsentrasi bakteri 0%, 5%, 10%, 15% dan waktu inkubasi	1. Signifikan: Terdapat perbedaan konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi terhadap COD ($p < 0,05$).	Rasio	-

	2 hari, 4 hari, 6 hari, 8 hari	2.	Tidak signifikan: Tidak terdapat perbedaan konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi terhadap COD yang bermakna secara statistik antar perlakuan ($p > 0,05$).		
Efektivitas bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dalam mendegradasi BOD	Tingkat penurunan BOD berdasarkan konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi	1.	Efektif apabila dapat menurunkan BOD $\geq 60\%$ dengan konsentrasi bakteri $\leq 10\%$ dan waktu inkubasi ≤ 6 hari	Rasio	-
		2.	Tidak efektif apabila tidak dapat menurunkan BOD $\geq 60\%$ dengan konsentrasi bakteri $> 10\%$ dan waktu inkubasi > 6 hari (Anindya et al., 2025; Khadijah et al., 2023; P. B. Lestari, 2016)		
Efektivitas bakteri <i>Pseudomonas aeruginosa</i> dalam mendegradasi COD	Tingkat penurunan BOD berdasarkan konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi	1.	Efektif apabila dapat menurunkan COD $\geq 60\%$ dengan konsentrasi bakteri $\leq 10\%$ dan waktu inkubasi ≤ 6 hari.	Rasio	-
		2.	Tidak efektif apabila tidak dapat menurunkan COD $\geq 60\%$ dengan konsentrasi bakteri $> 10\%$ dan waktu inkubasi > 6 hari (Anindya et al., 2025; Khadijah et al., 2023; P. B. Lestari, 2016)		

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian yang digunakan pada penelitian ini adalah penelitian eksperimen (*experimental designs*) dengan faktorial rancangan acak lengkap (RAL). Metode eksperimen merupakan pendekatan penelitian yang dilakukan dengan memanipulasi variabel independen, mengendalikan variabel luar (ekstraneous), serta mengamati pengaruhnya terhadap variabel dependen (Hastjarjo, 2019). RAL adalah suatu metode desain percobaan yang digunakan untuk menganalisis dua atau lebih faktor secara bersamaan. Pada desain ini, setiap kombinasi dari level faktor yang berbeda diuji dalam kondisi yang acak sehingga dapat mengurangi bias dan meningkatkan ketelitian hasil percobaan (Rahmawati, 2023).

Metode RAL memiliki kelebihan yaitu mudah dipahami dan diterapkan, sehingga cocok untuk penelitian yang tidak memerlukan desain yang kompleks dan metode ini membantu mengurangi bias yang terjadi akibat faktor eksternal yang tidak terkontrol. Sedangkan kekurangan metode ini yaitu kebutuhan sampel yang besar untuk mendapatkan hasil yang valid (Anggraeni & Triajie, 2021). Pada penelitian ini faktorial rancangan acak lengkap dilakukan dengan variasi konsentrasi bakteri disertai pengulangan pada waktu inkubasi yang telah ditentukan. Sebelum perlakuan dilakukan uji BOD dan COD terlebih dahulu untuk melihat kadar awal parameter.

2.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada dua lokasi, yaitu lokasi pengambilan dan lokasi pengujian sampel. Pengambilan sampel dilakukan di Pulau Barrang Lompo, Kota Makassar, sedangkan pengujian sampel dilaksanakan di Balai Besar Laboratorium Kesehatan Masyarakat (BBLK) Makassar. Adapun pelaksanaan penelitian berlangsung pada bulan September hingga November 2024.

2.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Populasi dan sampel pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Populasi

Populasi merupakan himpunan objek atau subjek yang memiliki karakteristik dan atribut tertentu yang telah ditentukan oleh peneliti sebagai fokus kajian, guna dilakukan analisis dan dijadikan dasar dalam penarikan kesimpulan penelitian (Sugiyono, 2018). Populasi dalam penelitian ini adalah semua air limbah domestik di Pulau Barrang Lompo Kota Makassar.

2. Sampel Penelitian

Sampel merupakan bagian dari populasi yang diambil untuk mewakili karakteristik atau kondisi dari keseluruhan populasi yang diteliti. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini merupakan sebagian air limbah domestik yang diperoleh dari salah satu rumah penduduk di Pulau Barrang Lompo, Kota Makassar.

2.4 Pengambilan Sampel

1. Metode Pengambilan Sampel

Teknik pengambilan sampel yang digunakan adalah purposive sampling, yaitu pengambilan sampel pada satu lokasi tertentu yang dianggap representatif mewakili keseluruhan populasi sampel. Kriteria penentuan titik pengambilan sampel didasarkan pada pertimbangan bahwa lokasi tersebut menghasilkan volume air limbah yang cukup banyak sehingga memenuhi kebutuhan sampel dalam penelitian. Selain itu, akses pengambilan sampel di titik tersebut relatif mudah dijangkau, sehingga memudahkan proses pengambilan dan pengangkutan sampel untuk keperluan pengujian lebih lanjut.

Pada penelitian ini, pengambilan sampel dilakukan sebanyak dua kali dengan tujuan yang berbeda. Pengambilan pertama dilakukan untuk keperluan pengujian awal parameter kualitas air khususnya kadar BOD dan COD, serta untuk proses identifikasi dan isolasi bakteri *Pseudomonas sp.*. Setelah dilakukan identifikasi dan proses kultur *Pseudomonas sp.*, dilakukan pengambilan sampel kedua sebanyak 20 liter yang digunakan sebagai bahan uji dalam penelitian untuk mengukur efektivitas bakteri dalam menurunkan kadar BOD dan COD pada air limbah domestik.

2. Waktu pengambilan sampel

Waktu pengambilan sampel dilakukan pada pukul 16.00 - 18.00, pengambilan sampel pada sore hari dikarenakan volume aliran air limbah maksimal pada waktu tersebut. Sore hari merupakan puncak aktivitas harian, seperti mencuci, mandi, dan penggunaan air lainnya. Hal ini menyebabkan volume air limbah yang lebih tinggi dan representatif untuk diuji.

2.5 Metode Pengumpulan Data

Adapun metode pengumpulan data yang dilakukan pada penelitian ini yaitu sebagai berikut:

1. Data Primer

Data primer merupakan data yang diperoleh secara langsung dari sumber yang diteliti. Data primer pada penelitian ini diperoleh langsung dari hasil pemeriksaan laboratorium dengan parameter BOD dan COD.

2. Data Sekunder

Data sekunder diperoleh melalui studi literatur yang mencakup referensi dari buku, hasil penelitian terdahulu, artikel ilmiah, serta dokumen dari instansi terkait yang mendukung pelaksanaan penelitian ini.

2.6 Rancangan Percobaan

Penelitian ini merupakan penelitian faktorial yang disusun dalam Rancangan Acak Lengkap (RAL) menggunakan dua faktor yakni presentase inokulum dan waktu inkubasi. Presentase inokulum terdiri dari empat taraf yaitu 0%, 5%, 10%, 15% (Khadijah et al., 2023). Fungsi dari perbedaan konsentrasi yaitu untuk mengetahui kemampuan bakteri dalam mendegradasi limbah pada konsentrasi tersebut (Januar, 2024). Kemudian waktu inkubasi selama 2 hari, 4 hari, 6 hari, dan 8 hari. Pemilihan variasi waktu inkubasi 2, 4, 6, dan 8 hari didasarkan pada penelitian sebelumnya yang menggunakan titik pengamatan pada hari ke-0, ke-3, ke-6, dan hari ke-9. Pada penelitian tersebut, pengamatan dilakukan dengan

interval tiga hari untuk melihat dinamika degradasi polutan selama inkubasi. Pada penelitian ini waktu inkubasi menyesuaikan dan memodifikasi interval waktu menjadi dua hari guna mendapatkan resolusi data yang lebih tinggi, serta untuk menangkap perubahan aktivitas bakteri yang mungkin terjadi dalam rentang waktu yang lebih pendek. Dengan demikian, variasi waktu inkubasi yang digunakan dalam penelitian ini tetap mengacu pada studi sebelumnya namun disesuaikan untuk meningkatkan ketelitian dalam menganalisis efektivitas proses bioremediasi (Rahardja et al., 2010). Faktor I adalah presentase inokulum (C) dan faktor II waktu inkubasi (D) yaitu:

Tabel 2.1. Interval pengujian BOD dan COD

Konsentrasi Bakteri (%)	Waktu Inkubasi			
	2 hari	4 hari	6 hari	8 hari
0 (C1)	C1D1	C1D2	C1D3	C1D4
5 (C2)	C2D1	C2D2	C2D3	C2D4
10 (C3)	C3D1	C3D2	C3D3	C3D4
15 (C4)	C4D1	C4D2	C4D3	C4D4

Keterangan:

C1D1, C1D2, C1D3, C1D4: konsentrasi 0% tanpa penambahan bakteri

C2D1 : konsentrasi 5% bakteri dengan waktu 2 hari

C2D2 : konsentrasi 5% bakteri dengan waktu 4 hari

C2D3 : konsentrasi 5% bakteri dengan waktu 6 hari

C2D4 : konsentrasi 5% bakteri dengan waktu 8 hari

C3D1 : konsentrasi 10% bakteri dengan waktu 2 hari

C3D2 : konsentrasi 10% bakteri dengan waktu 4 hari

C3D3 : konsentrasi 10% bakteri dengan waktu 6 hari

C3D4 : konsentrasi 10% bakteri dengan waktu 8 hari

C4D1 : konsentrasi 15% bakteri dengan waktu 2 hari

C4D2 : konsentrasi 15% bakteri dengan waktu 4 hari

C4D3 : konsentrasi 15% bakteri dengan waktu 6 hari

C4D4 : konsentrasi 15% bakteri dengan waktu 8 hari

2.7 Prosedur Eksperimen Penelitian

Adapun prosedur kerja pada penelitian ini dapat dijabarkan sebagai berikut:

1. Pengambilan sampel

Adapun alat yang digunakan yaitu *coolbox*, *autoclave*, aluminium foil, botol sampel steril, korek api. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu *icepack*, sampel air limbah, masker dan *handscoon*. Prosedur pengambilan sampel dilakukan dengan menggunakan botol steril. Tutup botol dilepaskan, kemudian botol ditenggelamkan ke dalam kolam limbah hingga terisi. Setelah itu, botol segera diangkat ke permukaan dan ditutup kembali. Sampel yang telah diambil disimpan dalam *coolbox* berisi *icepack*, kemudian dibawa ke laboratorium untuk dilakukan pemeriksaan (Santo, 2021).

2. Isolasi bakteri (Rohmawati, 2019)

a. Alat dan bahan

Adapun alat yang digunakan yaitu cawan petri, autoklaf, water bath, pinset steril, vacuum pump, vacuum flask, steril filter holder. Sedangkan bahan

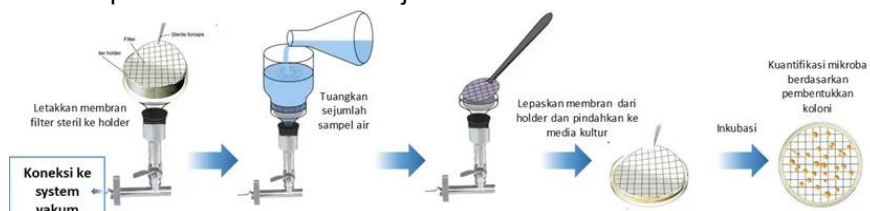
yang digunakan yaitu cetrimide Agar powder (media siap pakai), akuades (air suling steril), pipet, masker, handscoon, sampel air limbah, aquadest, dan alkohol 70%.

b. Pembuatan media *Pseudomonas* (CN Agar)

Media *Cetrimide Nalidixic Agar* (CN Agar) adalah media selektif yang digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri *Pseudomonas sp.*. Proses pembuatannya dimulai dengan menimbang bubuk media sekitar 45 - 50 gram untuk setiap liter air suling. Bubuk media tersebut kemudian dilarutkan dalam air suling steril sambil dipanaskan dan diaduk hingga larut sempurna. Proses sterilisasi terhadap larutan media dilakukan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Setelah sterilisasi, media didinginkan hingga mencapai suhu 45 - 50°C untuk menghindari kerusakan komponen nutrisi, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril dengan ketebalan sekitar 3 - 4 mm. Media padat yang telah mengalami pemadatan dapat langsung digunakan untuk inokulasi atau disimpan pada suhu 4°C guna mencegah kontaminasi mikroba dari lingkungan. Media ini mengandung *cetrimide*, zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain, sehingga mempermudah isolasi dan identifikasi *Pseudomonas sp.*.

c. Penanaman sampel pada media CN agar

Prosedur ini dilakukan menggunakan metode membran filter, yaitu teknik filtrasi yang memanfaatkan kertas filter berpori (membran) untuk menyaring sampel cair. Secara umum, prosedur filtrasi membran (Membrane Filtration/MF) diawali dengan proses penyaringan sampel air menggunakan membran filter yang dilengkapi dengan sistem vakum. Pada tahap ini, sampel air terhisap melalui membran sehingga air dapat melewati pori-pori filter, sementara mikroorganisme tertahan di permukaan membran. Pada penelitian ini, proses diawali dengan menyiapkan seluruh alat dan bahan yang diperlukan. Membran filter kemudian diletakkan pada filter holder, diikuti dengan menuangkan sebanyak 100 mL sampel air ke membran selulosa steril untuk dilakukan penyaringan. Setelah filtrasi selesai, membran selulosa dipindahkan secara aseptis ke atas permukaan media agar dalam cawan petri menggunakan pinset steril, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Setelah inkubasi, pertumbuhan koloni bakteri pada media diamati untuk keperluan analisis lebih lanjut.



Gambar 2.1 Alur Kerja Metode Membran Filter

Sumber: Sciencewerke.com

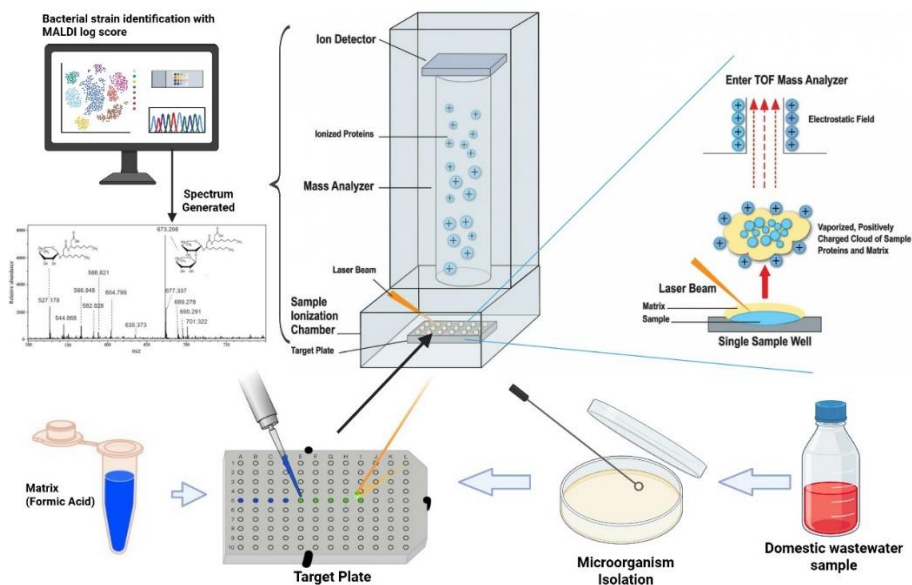
3. Karakterisasi dan identifikasi bakteri (Izzati, 2018)

a. Alat dan bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan pada pemeriksaan ini yaitu alat *inoculum loop*, kaca preparat, kertas saring, ose, mesin VITEK MS, slide uji VITEK MS. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu sampel bakteri, tip 1 μ , matriks VITEK MS-CHCA.

b. Prosedur

Setelah proses isolasi bakteri menggunakan metode membran filter, langkah selanjutnya adalah melakukan identifikasi lanjutan (identifikasi molekuler) menggunakan uji MALDI-TOF (*Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization-Time of Flight*). Uji malditof ms untuk mengidentifikasi bakteri yang ditemukan, uji ini dilakukan dengan menggunakan isolat koloni bakteri dengan mengoleskan isolat subjek ke titik sampel pada slide target dengan menggunakan ose. Tambahkan 1 μ L matriks VITEK MS-CHCA (α -cyano-4-hydroxycinnamic acid) pada spot target yang sudah terdapat isolat. Vitek α -cyano-4-hydroxycinnamic acid adalah matriks yang digunakan dalam MALDITOF MS untuk membantu ionisasi sampel bakteri. Matriks ini berfungsi untuk memastikan transfer energi laser ke molekul sampel sehingga dapat terionisasi dan di deteksi oleh spektrometer massa. Kemudian slide dikeringkan sampai matriks dan sampel terkristalisasi. Setelah itu masukan slide ke dalam alat VITEK MS. Pembacaan hasil dilakukan menggunakan alat bantu komputer berupa nama spesies bakteri.



Gambar 2.2 Ilustrasi Proses Identifikasi Bakteri Menggunakan MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization - Time of Flight) Mass Spectrometry

4. Kulturasasi dan perbanyakan bakteri/pembuatan *inoculum*

a. Alat dan bahan

Adapun alat dan bahan yang digunakan yaitu alat inkubator, erlenmeyer, ose, bunsen. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu media nutrient broth (NB), masker, handscoon, dan botol steril.

b. Prosedur

Proses pengkulturan bakteri dilakukan dengan cara mengambil koloni bakteri yang telah melalui tahap identifikasi morfologi pada fase isolasi sebelumnya. Koloni tunggal (*single colony*) yang telah tumbuh kemudian diinokulasikan ke dalam media agar miring untuk dilakukan pemeliharaan kultur. *Single colony* tujuannya adalah untuk mengembangbiakkan bakteri yang diinginkan ke dalam media NA dengan metode teknik gores menggunakan jarum ose. Setelah dilakukan teknik inokulasi melalui metode gores menggunakan jarum ose, cawan petri yang telah ditanami bakteri selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 hingga 72 jam. Tahapan inkubasi ini bertujuan untuk menciptakan kondisi optimum bagi pertumbuhan bakteri. Setelah masa inkubasi berakhir, dilakukan pemeriksaan ulang terhadap karakter morfologi koloni guna memastikan bahwa koloni tunggal (*single colony*) yang diharapkan telah terbentuk, serta untuk memastikan tidak adanya kontaminasi oleh mikroorganisme lain (Januar, 2024).

Tahapan selanjutnya adalah proses inokulasi bakteri dari media padat agar miring ke dalam tabung reaksi yang telah berisi *Nutrient Broth* (NB), yang berfungsi sebagai media cair untuk memperbanyak biomassa bakteri yang akan digunakan dalam reaktor pengolahan limbah. Formulasi NB cair dilakukan dengan menimbang 1,3 gram serbuk *Nutrient Broth* menggunakan neraca digital, kemudian melarutkannya ke dalam 100 mL akuades dalam labu ukur berkapasitas 250 mL, dan dikocok hingga larutan homogen. Medium ini kemudian disterilisasi menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm (15 psi) untuk memastikan bebas dari kontaminan. Proses kultur bakteri dilakukan dengan mencampurkan isolat ke dalam medium NB di bawah kondisi aseptik, yakni di dalam ruang *Laminar Air Flow* (LAF), guna mempertahankan sterilitas lingkungan kerja. Proses perbanyakan dilakukan dengan mengambil enam ose koloni bakteri dan diinokulasikan ke dalam 200 mL media NB, kemudian diinkubasi menggunakan *shaker incubator* pada kecepatan 110 rpm selama 24 jam (Anggraeni & Triajie, 2021).

5. Pembuatan reaktor limbah

Setelah pembuatan isolate bakteri langkah selanjutnya adalah pembuatan reaktor limbah yang akan digunakan sebagai media pengujian bioremediasi air limbah menggunakan bakteri. Sistem pengolahan air limbah domestik menggunakan reaktor sederhana berbasis tong plastik biru. Sistem ini terdiri dari 5 tong plastik biru yang dihubungkan secara seri menggunakan pipa PVC. Setiap tong dilengkapi dengan keran kontrol aliran untuk mengatur proses pengolahan pada masing-masing tahap. Fungsi reaktor adalah sebagai berikut:

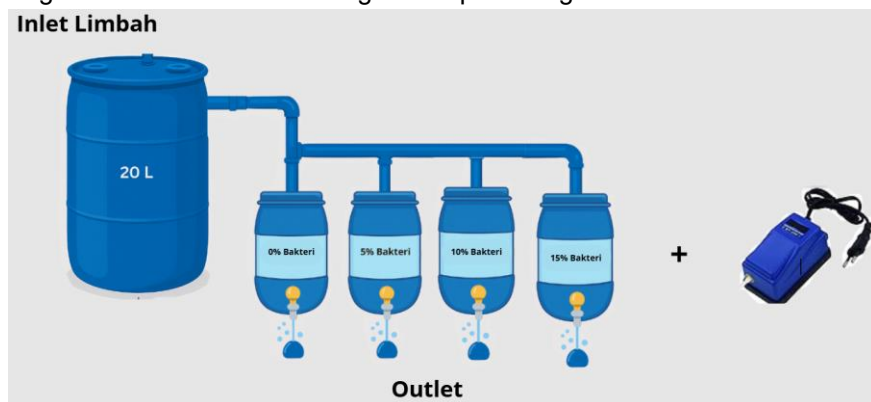
1) Tong Utama (Tong Pertama)

Tong pertama bertindak sebagai bak penerima air limbah awal. Air limbah

domestik dimasukkan ke dalam tong ini untuk memulai proses pengendapan dan filtrasi partikel besar dan berat.

2) Tong Pengolahan Lanjutan

Tong-tong berikutnya bertindak sebagai unit pengolahan lanjutan dimana sistem pengolahan ini menggunakan empat tong sebagai reaktor biologis, masing-masing tong memiliki konsentrasi bakteri pengurai yang berbeda: 0%, 5%, 10%, dan 15%. Penambahan konsentrasi bakteri ini bertujuan untuk mengoptimalkan proses degradasi limbah organik secara bertahap dengan memanfaatkan kemampuan mikroorganisme dalam menguraikan polutan. Ke empat tong ini di lengkapi dengan aerator yang berfungsi sebagai pompa udara untuk meningkatkan aktivitas mikroorganisme aerobik, meningkatkan oksigen terlarut dan mendukung dekomposisi organik.



Gambar 2.3 Desain Reaktor Limbah Modifikasi (Ramadhana, 2023)

6. Pengoperasian reaktor

a. Alat dan bahan

Setelah reaktor limbah dibuat langkah selanjutnya adalah melakukan pengujian dengan menggunakan reaktor yang telah dibuat. Adapun alat dan bahan yang digunakan yaitu alat berupa aerator, colokan, pH meter, termometer dan ATK. Sedangkan bahan yang digunakan adalah air limbah domestik, kultur cair bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, masker, dan *handscoon*.

b. Prosedur

Prosedur kerja pada penelitian ini yaitu dengan persiapan alat dan bahan kemudian dilakukan pengujian pada reaktor limbah yang telah dibuat sebelumnya. Tujuan menggunakan reaktor ini adalah untuk melihat efektivitas bakteri dalam mendegradasi air limbah domestik tanpa adanya pengaruh dari luar. Pada proses ini total limbah yang digunakan adalah 20 liter air limbah domestik yang diperoleh dari lokasi pengambilan isolate bakteri pendegradasi. Reaktor 1 berfungsi sebagai tahap awal dalam sistem pengolahan air atau limbah yang menggabungkan pengendapan (sedimentasi) dan filtrasi untuk mengurangi padatan tersuspensi, partikel kasar, dan kontaminan awal lainnya sebelum air atau limbah diproses lebih lanjut. Adapun media filtrasi yang digunakan yaitu media ijuk dari pohon aren yang memiliki karakteristik serat kasar dan berpori memungkinkan penyaringan partikel halus seperti lumpur,

pasir, dan zat organik kecil. Setelah itu air limbah di alirkan pada masing-masing reaktor pengolahan lanjutan dimana setiap perlakuan menggunakan 5 liter air limbah yang dialirkan pada masing-masing reaktor pengolahan.

Reaktor 2 dengan variasi konsentrasi bakteri 0% (tanpa penambahan bakteri), reaktor 3 dengan variasi konsentrasi bakteri 5%. Reaktor 4 dengan variasi konsentrasi bakteri 10% dan reaktor 4 dengan variasi konsentrasi bakteri 15%. Setiap perlakuan dari reaktor kemudian di aerasi menggunakan aerator dan di inkubasi selama 2 hari, 4 hari, 6 hari, dan 8 hari (Riwanda, 2024). Pemeriksaan kadar BOD dan COD pada air limbah dilakukan setiap 2 hari, 4 hari, 6 hari, dan 8 hari.

c. Jumlah larutan bakteri yang digunakan

Adapun perhitungan untuk menentukan berapa banyak bakteri yang akan digunakan yaitu sebagai berikut (Ramadhana, 2023) :

- 1) Total air limbah domestik yang akan digunakan pada setiap perlakuan yaitu 5 liter
- 2) Konsentrasi 0% (tanpa penambahan bakteri)
5 liter = 5000 ml
 $5000 \text{ ml} \times 0\% = 0 \text{ ml}$
- 3) Perhitungan untuk perlakuan konsentrasi bakteri (5%)
5 liter = 5000 ml
 $5000 \text{ ml} \times 5\% = 250 \text{ ml}$ (total larutan yang akan digunakan)
Jumlah bakteri = $250 \times 5\%$
= 12.5 ml
- 4) Perhitungan untuk perlakuan konsentrasi bakteri (10%)
5 liter = 5000 ml
 $5000 \text{ ml} \times 10\% = 500 \text{ ml}$ (total larutan yang akan digunakan)
Jumlah bakteri = $500 \times 10\%$
= 50 ml
- 5) Perhitungan untuk perlakuan konsentrasi bakteri (15%)
5 liter = 5000 ml
 $5000 \text{ ml} \times 15\% = 750 \text{ ml}$ (total larutan yang akan digunakan)
Jumlah bakteri = $750 \times 15\%$
= 112.5 ml

7. Uji penurunan kadar BOD dan COD oleh bakteri

Adapun alat yang digunakan dalam uji BOD dan COD sampel air limbah yaitu botol *winkler*, *coolbox*, pH meter, termometer. Sedangkan bahan yang digunakan yaitu handscoon, label, dan air limbah domestik. Adapun prosedur pengambilan sampel uji BOD dan COD yaitu menyiapkan alat pengambilan sampel, dilakukan pemeriksaan pH air limbah menggunakan pH meter dan pemeriksaan suhu menggunakan termometer. Pemeriksaan kadar BOD dilakukan sesuai dengan ketentuan (SNI 06-6989.72-2009) dan COD (SNI 6989.2:2019).

2.8 Pengolahan dan Analisis Data

1. Pengolahan Data

Data yang dikumpulkan berasal dari hasil analisis laboratorium terhadap parameter BOD dan COD, baik sebelum maupun setelah perlakuan

penambahan bakteri pendegradasi. Data ini digunakan untuk mengevaluasi efektivitas bakteri dalam menurunkan konsentrasi BOD dan COD pada sampel limbah.

2. Analisis Data

Data penelitian yang diperoleh melalui analisis laboratorium terhadap sampel sebelum dan sesudah perlakuan dianalisis secara deskriptif dengan penyajian dalam bentuk tabel, grafik, dan uraian naratif. Analisis ini bertujuan untuk menggambarkan efektivitas bakteri *Pseudomonas* sp. dalam menurunkan konsentrasi BOD dan COD pada air limbah domestik (*grey water*). Penurunan kadar BOD dan COD dihitung dengan menggunakan rumus sebagai berikut: (Deffy et al., 2020):

$$\text{Efisiensi removal\%} = \frac{C_{\text{awal}} - C_{\text{akhir}} \times 100\%}{C_{\text{awal}}}$$

Ket:

C awal : Konsentrasi Awal Sebelum Perlakuan

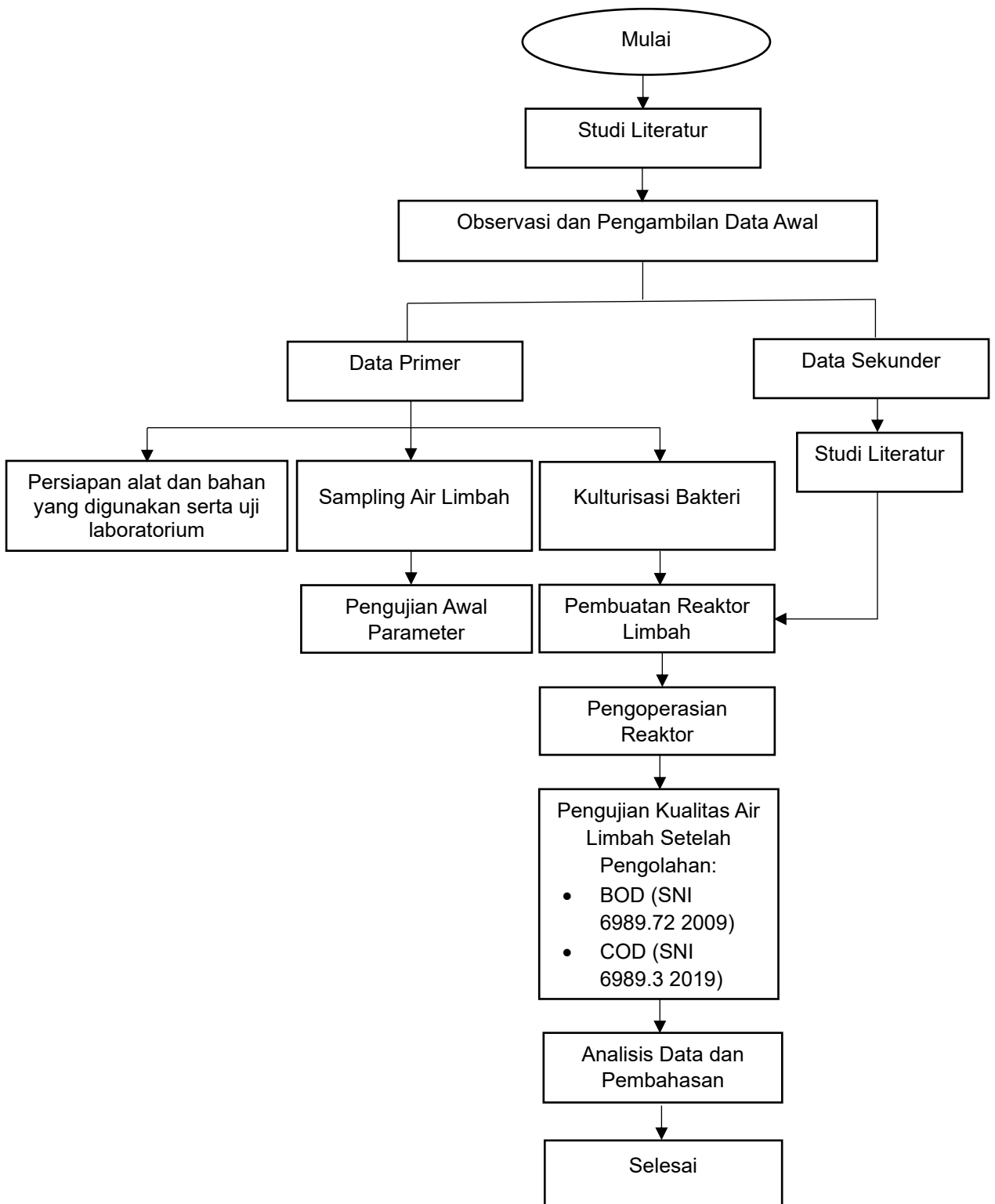
C akhir : Konsentrasi Akhir Sesudah Perlakuan

Analisis menggunakan persen penurunan sebagai metrik adalah cara yang efektif untuk mengevaluasi efektivitas perlakuan dalam penelitian RAL. Persen penurunan memberikan pandangan yang jelas tentang seberapa besar perubahan yang disebabkan oleh perlakuan, dan dapat dibandingkan langsung antar perlakuan. Namun, untuk menyatakan apakah perbedaan tersebut signifikan secara statistik, dilakukan analisis lanjutan Two - Way ANOVA (*Analysis of Variance*). Uji Two - Way ANOVA digunakan untuk mengevaluasi signifikansi pengaruh interaksi antara konsentrasi bakteri dan waktu inkubasi terhadap variabel respon secara statistik. Sebelum melakukan analisis tersebut, dilakukan terlebih dahulu uji normalitas data untuk menentukan apakah data mengikuti distribusi normal. Pada penelitian ini, uji normalitas dilakukan menggunakan metode Shapiro-Wilk melalui perangkat lunak SPSS, yang sesuai untuk jumlah sampel kurang dari 30. Interpretasi hasil uji didasarkan pada nilai signifikansi (*p-value*); apabila $p > 0,05$ maka data dianggap berdistribusi normal, dan sebaliknya apabila $p \leq 0,05$ maka data tidak berdistribusi normal. Apabila uji Two - Way ANOVA signifikan dilakukan uji *post-hoc* untuk melihat variabel yang paling berpengaruh.

2.9 Bagan Alir Penelitian

Penelitian diawali dengan melakukan studi literatur tentang topik yang akan diteliti. Setelah melakukan studi literatur kemudian melakukan pengambilan data awal dan observasi ke lokasi. Kemudian dilakukan persiapan penelitian yaitu membuat media selektif dan menyiapkan alat dan bahan serta pengambilan sampel air limbah. Tahapan selanjutnya isolasi dan pemurnian bakteri, bakteri yang telah dimurnikan dilakukan identifikasi morfologi dan uji MALDITOF-MS. Bakteri yang diperoleh dilakukan proses bioremediasi pada reaktor yang telah dibuat dengan perlakuan yang telah ditentukan sebelumnya. Setelah proses bioremediasi dilakukan maka selanjutnya melakukan pengujian kualitas air limbah untuk melihat efektivitas bakteri sebagai agen bioremediator. Hasil penelitian dianalisis dan

dibahas dalam pembahasan. Berikut gambaran penelitian yang akan digambarkan dengan bagan alir penelitian.



Gambar 2.3 Bagan Alir Penelitian

2.10 Etika Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan atas persetujuan dari komisi etik penelitian Fakultas Kesehatan Masyarakat Universitas Hasanuddin Kota Makassar dan dilanjutkan izin pada bagian laboratorium terkait pemeriksaan yang akan dilaksanakan, dalam hal ini penanggung jawab pada laboratorium. Data dan informasi yang terkumpul hanya digunakan untuk keperluan penelitian.