

Efektivitas Penggunaan Ozon Untuk Dekontaminasi Mikroba Pada Simplisia Herba Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) di Pasar Bringharjo Dengan Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Khamir (AKK)

Effectiveness of Using Ozone for Microbial Decontamination on the Herba Simplicia Andrographis paniculata (Burm.f.) Nees) at Bringharjo Market by Testing Total Plate Count (TPC) and Total Yeast and Mold Count (TYMC)

Agnesia Cempaka¹, Yosi Bayu Murti^{2,3*}, Indah Purwantini^{2,3}

¹ Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

² Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

³ Pusat Riset Tumbuhan Obat dan Bahan Alam, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

Corresponding author: Yosi Bayu Murti: Email: yosibayu.murti@ugm.ac.id

Submitted: 02-01-2024

Revised: 19-01-2024

Accepted: 22-01-2024

ABSTRAK

Indonesia secara geografis terletak pada daerah tropis yang memiliki kelembaban relatif tinggi. Kelembaban yang tinggi dapat meningkatkan risiko kontaminasi mikroba. Mikroba tumbuh subur pada lingkungan yang memiliki kadar air tinggi. Produk simplisia merupakan salah satu produk yang dapat terkontaminasi pada kondisi tersebut. Simplisia sebagai bahan baku obat tradisional/obat herbal biasanya disimpan dalam waktu yang cukup lama sebelum digunakan pada proses pembuatan obat. Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) merupakan tanaman yang sering digunakan untuk bahan baku obat herbal. Dekontaminasi menggunakan ozon merupakan metode untuk menghilangkan kontaminan mikroba. Dalam penelitian ini dilakukan perlakuan ozon pada 50 g sampel herba sambiloto dilakukan dengan kekuatan 10 g/h dengan interval 0; 30; 60; 90 dan 120 menit. Efektivitas ozon diukur dengan melakukan uji Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Khamir (AKK) pada sampel yang diberikan perlakuan dan tanpa perlakuan (kontrol). Dekontaminasi mikroba menggunakan ozon 30; 60; 90; dan 120 menit pada simplisia herba sambiloto dapat menurunkan persentase nilai ALT berturut-turut sebesar 88%; 99%; 99,6% dan 100%, sedangkan untuk persentase penurunan nilai AKK berturut-turut adalah 33%; 67%; 100% dan 100%.

Kata kunci: ozon; dekontaminasi mikroba; simplisia; *Andrographis paniculata*

ABSTRACT

Indonesia is geographically located in a tropical region with a relatively high level of humidity. High humidity can increase the risk of microbial contamination, as microorganisms thrive in environments with high water content. Simplicia is one of the products that can be contaminated under such conditions. Simplicia, as a raw material for traditional medicine/herbal medicine, is typically stored for a considerable amount of time before being used in the drug manufacturing process. Sambiloto (*Andrographis paniculata* (Burm.f.) Nees) is a plant commonly used as a raw material for herbal medicine. Ozone decontamination is a method used to eliminate microbial contaminants. In this study, ozone treatment was applied to 50 g sample of sambiloto herbs at a strength of 10 g/h, with intervals of 0, 30, 60, 90, and 120 minutes. The effectiveness of ozone was measured by conducting tests for Total Plate Count (TPC) and Total Mold and Yeast Count (TYMC) tests on treated and untreated samples (control). The decontamination of microbes using ozone for 30; 60; 90; and 120 minutes on sambiloto herb simplicia can reduce the percentage of TPC values successively by 88%, 99%, 99.6%, and 100%, meanwhile, for the percentage reduction of TYMC values successively is 33%, 67%, 100%, and 100%.

Keywords: ozon; microbial decontamination; simplicia; *Andrographis paniculate*

PENDAHULUAN

Penggunaan obat dari bahan alam sudah dilakukan sejak zaman nenek moyang bangsa Indonesia. Perkembangan sediaan obat dari bahan alam semakin berkembang dan meluas di berbagai kalangan masyarakat. Perkembangan ini didukung dengan keaneka ragam hayati Indonesia yang merupakan negara yang berada di daerah tropis.

Kondisi wilayah tropis memiliki keuntungan yaitu tingginya keaneka ragam hayati. Namun, hal tersebut menimbulkan masalah tersendiri yaitu kelembaban yang tinggi yang dapat meningkatkan jumlah kontaminasi mikroba. Kelembaban optimum yang dibutuhkan oleh bakteri untuk hidup yaitu di atas 85%, pada kelembaban di bawah 85% maka bakteri mengalami penurunan daya tahan. Oleh karena itu, semakin lembab kondisi udara akan menyebabkan banyak partikel air yang dapat membawa sel-sel bakteri yang berada di permukaan bergerak ke udara (Ginting *et al.*, 2022).

Penjaminan mutu obat tradisional diperlukan untuk menjaga khasiat dan keamanan produk. Dalam Peraturan Badan Pengawas Obat dan Makanan Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Keamanan dan Mutu Obat Tradisional, dipersyaratkan pada simplisia (dalam bentuk rajangan maupun serbuk) mengenai batas cemaran yang diterima, yakni: Angka Lempeng Total (ALT) $\leq 5 \times 10^7$ koloni/g dan Angka Kapang Khamir (AKK) $\leq 5 \times 10^5$ koloni/g.

Upaya mengurangi kontaminasi mikroba dapat dilakukan dengan berbagai metode. Upaya yang biasa digunakan untuk mengurangi kontaminasi pada simplisia diantaranya dengan melakukan pencucian, pengeringan, dan pengemasan, namun pada saat simplisia telah disimpan beberapa waktu, akan tetap ada pertumbuhan mikroba. Dekontaminasi pada simplisia tersebut diperlukan sebelum digunakan sebagai bahan baku obat herbal.

Metode pencucian simplisia dapat digunakan untuk proses dekontaminasi, namun terdapat beberapa kelemahan dalam metode pencucian ini, yaitu membutuhkan waktu yang lebih lama, karena setelah dicuci perlu dikeringkan kembali, selain itu membutuhkan biaya yang besar untuk proses pencucian dan pengeringannya.

Dewasa ini dikembangkan metode dekontaminasi produk pertanian dengan menggunakan gas ozon. Metode dekontaminasi mikroba menggunakan gas ozon ini terbukti efektif dalam mereduksi jumlah mikroba yang ada pada produk pertanian dan pangan. FDA (*Food and Drug Administration US*) telah memberikan izin terhadap penggunaan ozon sebagai agen anti-mikrobal pada makanan (Rice & Graham, 2001).

Pada penelitian yang dilakukan oleh Cabello *et al.*, (2021) diketahui bahwa ozon dapat digunakan untuk mendekontaminasi mikroba pada produk pangan yaitu *bee polen*. Pada penelitian tersebut diberikan paparan ozon selama 30 menit dan 60 menit pada *bee polen* hasilnya diketahui bahwa perlakuan ozon dapat mengurangi kontaminasi bakteri Enterobacteriaceae 80,0–90,9%; bakteri aerob mesofilik 69,1–83,1%, dan 89,4–89,5% kapang-khamir. Selain itu produk *bee polen* yang dihasilkan aman untuk dikonsumsi manusia, dan komposisi polifenolnya pun dapat dipertahankan dengan baik.

Penelitian yang pernah ada, diantaranya adalah penelitian dekontaminasi dengan ozon yang dilakukan terhadap sampel buah-buahan yaitu stroberi dan rasberi yang dilakukan oleh Bialka & Demirci (2007), diketahui bahwa stroberi dan rasberi yang telah dikontaminasi secara artifisial oleh Salmonella dan *E. coli* setelah diberi perlakuan ozon, terjadi pengurangan jumlah koloni Salmonella sebesar $3,98 \times 10^2$ CFU/g dan sebesar *E. coli* $9,12 \times 10^2$ CFU/g pada stroberi dan pada raspberry, pengurangan Salmonella sebesar $3,55 \times 10^3$ dan sebesar $5,6 \times 10^3$ diperoleh untuk *E. coli*.

Pengamatan dosis perlakuan ozon yang diperlukan sebagai agen dekontaminan yang pernah ada yaitu penelitian yang dilakukan oleh (Farajzadeh *et al.*, 2013) pada buah kurma, Penelitian ini menunjukkan bahwa perlakuan ozon dengan kekuatan 5 g/h selama 3 jam; 5 g/h selama 5 jam; 10 g/h selama 3 jam; dan 10 g/h selama 5 jam menghasilkan penurunan sekitar 25%, 25%, 53%, dan 46% angka kapang dan khamir pada kurma, serta penurunan sekitar 6%, 9%, 76%, dan 74,7% pada bakteri. Konsentrasi dan durasi ozon yang tepat dapat mengurangi mikroba pada kurma adalah 10 g/h selama 3 jam.

Produk makanan relatif lebih rendah jumlah kontaminannya dibandingkan dengan simplisia, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian dekontaminasi ozon pada produk simplisia. Herba sambiloto merupakan bahan baku obat tradisional/obat herbal yang sering digunakan pada proses

produksi obat. Kontaminasi pada simplisia herba sambiloto ini rentan terjadi, sehingga sambiloto dapat digunakan untuk mengukur efektivitas ozon dalam mengeliminasi mikroba. Pengujian yang diperlukan untuk mengukur efektivitas dekontaminasi ozon adalah dengan mengukur Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Khamir (AKK) pada sampel sebelum dan setelah perlakuan ozon untuk mengetahui kemampuannya dalam mendekontaminasi cemaranbakteri pada herba sambiloto.

Berdasarkan paparan di atas, meminimalkan cemaran mikroba menggunakan ozon pada simplisia diharapkan dapat menjadi alternatif metode dekontaminasi yang lebih efektif dan cepat karena tidak memerlukan pencucian dan pengeringan kembali; lebih murah karena tidak memerlukan penggunaan cairan kimia tertentu namun hanya membutuhkan ruangan yang besar dan ozon generator; serta aman bagi simplisia yang akan digunakan sebagai bahan baku obat.

Metode dekontaminasi simplisia dengan ozon diharapkan dapat diterapkan pada Usaha Kecil Obat Tradisional (UKOT), Usaha Menengah Obat Tradisional (UMOT), Industri Obat Tradisional (IOT) maupun pelaku penyedia simplisia. Metode dekontaminasi ozon ini merupakan metode yang sederhana dengan biaya modal maupun operasional yang terjangkau, karena hanya memerlukan ruangan dan ozon generator, selain itu cara mengoperasikannya juga relatif mudah.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental yang dan dilaksanakan pada Laboratorium *Advanced Pharmaceutical Sciences Learning Center (APSLC)* dan Laboratorium Mikrobiologi dan Biologi Sel, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada. Variabel bebas dalam penelitian yaitu lama paparan ozon pada simplisia herba sambiloto- dan tempat pengambilan sampel. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah Angka Lempeng Total (ALT), Angka Kapang Khamir (AKK) serbuk simplisia sebelum perlakuan dan setelah perlakuan. Variabel terkontrol pada penelitian ini yakni *power* atau kekuatan yang digunakan ozon generator, ketebalan sampel ketika dekontaminasi dan ukuran kompartemen ozon.

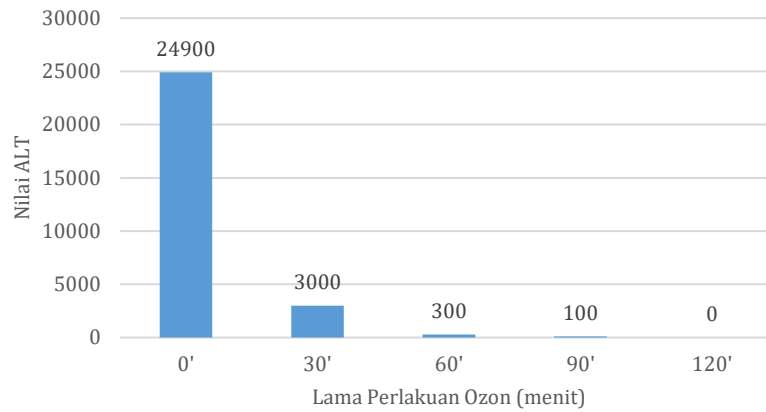
Sampel yang digunakan yaitu herba sambiloto yang dibeli dari Pasar Beringharjo, Kota Yogyakarta, Provinsi Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia. Herba sambiloto yang sudah disortasi kemudian diberikan perlakuan ozon. dengan kekuatan ozon generator 10 g/h untuk sampel sebanyak 50 g selama 0; 30; 60; 90 dan 120 menit. Proses dekontaminasi dihitung saat kondisi alat ozon generator mencapai konsentrasi yang sudah stabil yaitu 2 jam dari waktu dinyalakan. Simplisia dihaluskan dengan blender agar menjadi serbuk. Serbuk simplisia disimpan pada plastik klip yang dilengkapi *silica gel pack* di dalam lemari es sebelum dilanjutkan dengan pengujian ALT dan AKK.

Uji AKK dan ALT menggunakan serial pengenceran dengan lima kali pengenceran, yaitu pengenceran 10^{-1} hingga 10^{-5} dan setiap pengenceran dilakukan tiga kali replikasi. Sampel serbuk ditimbang sebanyak 1 g dan dimasukkan ke tabung reaksi pertama, ditambahkan 9 ml pengencer *saline water*, lalu encerkan sesuai dengan serial pengencerannya. Sampel diinokulasikan ke dalam cawan petri menggunakan *spreader* sebanyak 100 μ L. Media yang digunakan pada AKK yaitu PDA (*Potato Dextrose Agar*) yang ditambahkan antibiotik kloramfenikol 50 mg/L. Cawan petri diinkubasi pada suhu 25^o C selama 4 hari pada posisi terbalik. Pada pengujian ALT, media yang digunakan adalah *Tryptic Soy Agar (TSA)*. Cawan petri diinkubasi pada suhu 36^o C selama 24 jam dengan posisi cawan petri terbalik. Pada uji ALT maupun AKK dilakukan uji sterilitas media dan uji sterilitas pengencer. Pada cawan kontrol pengencer diberi media dan pengencer *saline water* (uji sterilitas pengencer). Pada cawan kontrol media hanya diberikan media saja (uji sterilitas media).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengujian Angka Lempeng Total (ALT) pada herba sambiloto menunjukkan bahwa pada sampel yang diperoleh dari Pasar Beringharjo, menunjukkan bahwa terjadinya penurunan Angka Lempeng Total hingga 0 CFU/g pada perlakuan ozon 120 menit (Tabel I). Sebelum perlakuan ozon, sampel menunjukkan nilai ALT yaitu 24.900 CFU/g (Gambar 1), setelah diberi perlakuan ozon 30 menurun sebanyak 88% menjadi 3.000 CFU/g (Gambar 2). Pada perlakuan ozon selama 60 menit diketahui terjadi penurunan Angka Lempeng Total sebanyak 99%. Pada perlakuan 90 menit menurunkan nilai ALT sebesar 99,6% dan pada perlakuan 120 menit memberikan efek penurunan Angka Lempeng

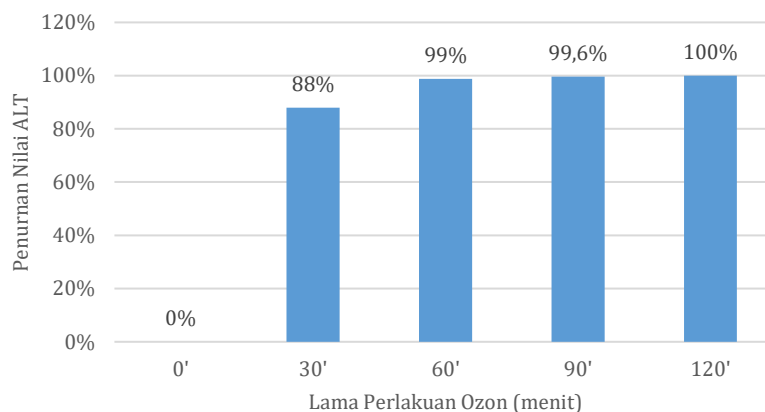
Efektivitas Penggunaan Ozon Untuk Dekontaminasi Mikroba Pada Simplisia



Gambar 1. Nilai Angka Lempeng Total Simplisia Sambilotto Selama Perlakuan Ozon

Tabel I. Nilai Angka Lempeng Total (ALT) Simplisia Herba Sambilotto Selama Perlakuan Ozon

	Pengenceran	Jumlah Koloni		Rata-Rata	ALT (koloni/g)
		Cawan A	Cawan B		
Perlakuan Ozon 0 menit	10 ⁻¹	257	241	249	24.900
	10 ⁻²	3	1	2	
	10 ⁻³	1	3	2	
	10 ⁻⁴	0	1	1	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai ALT (koloni/g)					24.900
Perlakuan Ozon 30 menit	10 ⁻¹	30	30	30	3.000
	10 ⁻²	8	5	7	
	10 ⁻³	0	1	1	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai ALT (koloni/g)					3.000
Perlakuan Ozon 60 menit	10 ⁻¹	3	3	3	300
	10 ⁻²	2	0	1	
	10 ⁻³	0	3	2	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai ALT (koloni/g)					300
Perlakuan Ozon 90 menit	10 ⁻¹	1	1	1	100
	10 ⁻²	0	0	0	
	10 ⁻³	0	0	0	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai ALT (koloni/g)					100
Perlakuan Ozon 120 menit	10 ⁻¹	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	
	10 ⁻³	0	0	0	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai ALT (koloni/g)					0



Gambar 2. Persentase Penurunan Nilai Angka Lempeng Total Simplisia Sambiloto Selama Perlakuan Ozon

Total hingga 100%. Dalam hal ini, Angka Lempeng Total pada perlakuan 120 menit tidak ditemukan adanya koloni bakteri.

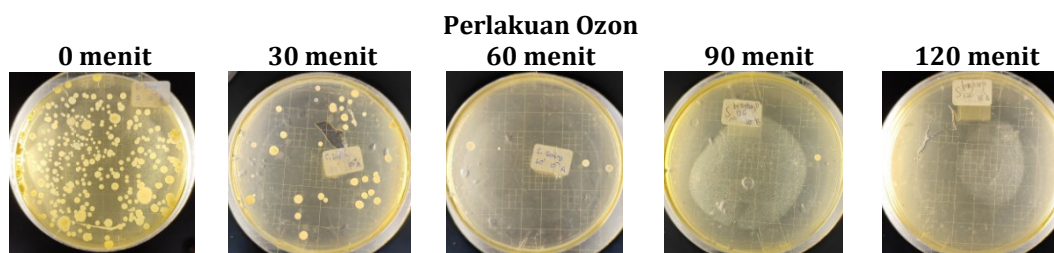
Terlihat pada Gambar 3 bahwa pada cawan perlakuan ozon 0 menit terlihat banyak koloni mikroba yang tumbuh pada media, sedangkan pada cawan yang berisi sampel perlakuan ozon 30 menit hingga 90 menit, tampak jumlah koloni mikroba yang semakin sedikit, hingga akhirnya pada perlakuan ozon 120 menit, koloni mikroba sudah tidak ditemukan lagi.

Pada penetapan nilai Angka Kapang Khamir diketahui bahwa jumlah angka kapang khamir yang awalnya pada perlakuan 0 menit terdapat 150 koloni kapang dan khamir, setelah mendapat perlakuan ozon, terjadi penurunan menjadi 100 koloni (Tabel II) atau terjadi penurunan jumlah angka kapang khamir sebanyak 33% (Gambar 5). Pada perlakuan ozon 60 menit diketahui terjadi penurunan jumlah koloni menjadi 50 atau sebesar 67% dibandingkan dengan AKK pada perlakuan 0 menit. Penurunan AKK tertinggi, yaitu 100% terjadi pada perlakuan ozon 90 menit dan 120 menit, atau sudah tidak ditemukan lagi koloni yang tumbuh.

Pada Gambar 6, cawan perlakuan ozon 0 menit terlihat memiliki jumlah koloni kapang dan khamir yang relatif lebih banyak dibandingkan pada cawan perlakuan ozon 30 menit. Pertumbuhan koloni kapang maupun khamir pada cawan perlakuan 30 menit hingga 90 menit terlihat jumlah koloni kapang khamir yang semakin sedikit, hingga akhirnya pada perlakuan ozon 120 menit, koloni kapang khamir sudah tidak ditemukan pada media.

Terdapat perbedaan waktu yang diperlukan dalam mencapai hasil 0 CFU/g pada koloni uji ALT dan AKK, yaitu pada ALT diperlukan waktu paparan selama 120 menit sedangkan pada AKK diperlukan 90 menit paparan ozon dengan kekuatan yang sama yaitu 10 g/h. Perbedaan lama waktu paparan ozon yang diperlukan untuk menginaktivasi mikroba ini dipengaruhi beberapa faktor, yaitu faktor intrinsik (jumlah awal mikroba; karakteristik dari strain mikroba yang berbeda; keadaan fisiologis sel mikroorganisme; dan asal mikroorganisme alami atau yang diinokulasi secara artifisial) dan faktor ekstrinsik (jenis bahan, misalnya, buah, sayuran, daging, dan biji-bijian; karakteristik permukaan bahan, yaitu ukuran permukaan, permukaan utuh, retakan, celah-celah, hidrofobisitas, dan tekstur; bobot bahan; dan aktivitas air/*water activity* (aW) dari bahan itu sendiri) (Xue *et al.*, 2023).

Dekontaminasi ini merupakan proses yang dilakukan untuk meminimalkan kontaminan yang ada pada permukaan simplisia. Hasil penelitian yang dilakukan oleh (Epelle, *et al.*, 2023), ozon mendekontaminasi simplisia dengan mekanisme inaktivasi mikroba secara langsung (inaktivasi elektrofilik langsung) maupun tidak langsung, Inaktivasi secara tidak langsung terbentuknya *Reactive Oxidative Species* (ROS) yaitu OH^* , HO_2^* , O_2^{*-} , O_3^{*-} , HO_3^{*-} , H_2O_2 , O^- , yang dapat terbentuk selama dekomposisi ozon spontan di air atau udara. Radikal hidroksil (OH^*) sangat tidak stabil dan mudah bereaksi dengan senyawa lain untuk mendapatkan elektron yang hilang. Radikal ini memiliki potensi oksidasi yang lebih tinggi (2,80 V) dibandingkan dengan ozon itu sendiri (2,07 V). Selama



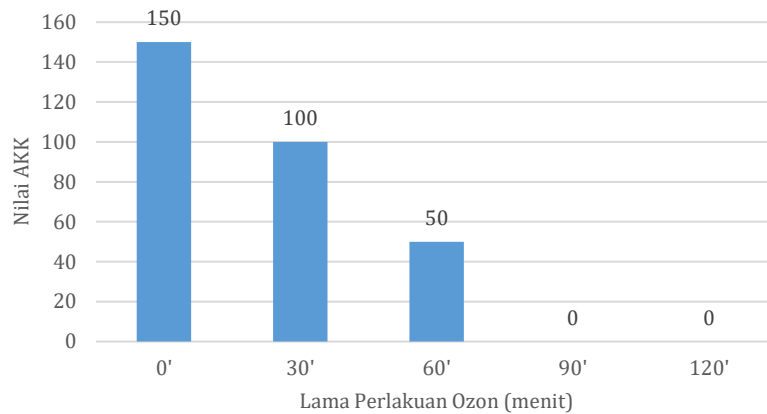
Gambar 3. Visual koloni mikroba yang tumbuh pada cawan pengujian ALT sambiloto tanpa perlakuan ozon dan setelah perlakuan ozon 30; 60; 90 dan 120 menit pada pengenceran 10^{-1} .

Tabel II. Nilai Angka Kapang Khamir (AKK) Simplisia Herba Sambiloto Selama Perlakuan Ozon

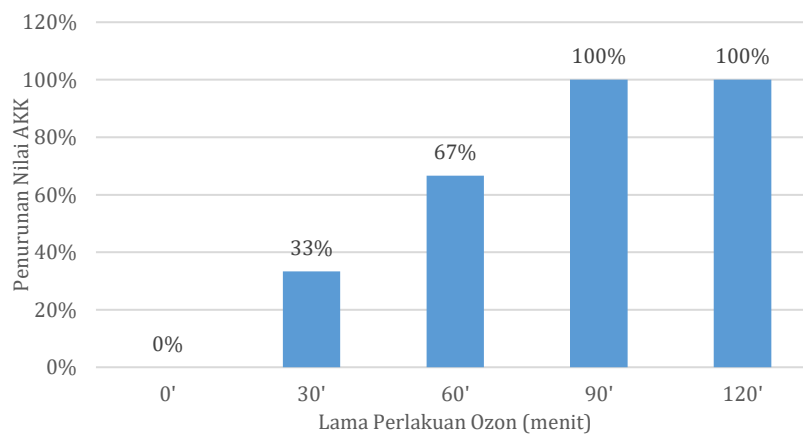
	Pengenceran	Jumlah Koloni		Rata-Rata	AKK (koloni/g)
		Cawan A	Cawan B		
Perlakuan Ozon 0 menit	10^{-1}	2	1	1.5	150
	10^{-2}	0	0	0	
	10^{-3}	0	0	0	
	10^{-4}	0	0	0	
	10^{-5}	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					150
Perlakuan Ozon 30 menit	10^{-1}	2	0	1	100
	10^{-2}	0	0	0	
	10^{-3}	0	0	0	
	10^{-4}	0	0	0	
	10^{-5}	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					100
Perlakuan Ozon 60 menit	10^{-1}	1	0	0.5	50
	10^{-2}	0	0	0	
	10^{-3}	0	0	0	
	10^{-4}	0	0	0	
	10^{-5}	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					50
Perlakuan Ozon 90 menit	10^{-1}	0	0	0	0
	10^{-2}	0	0	0	
	10^{-3}	0	0	0	
	10^{-4}	0	0	0	
	10^{-5}	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					0
Perlakuan Ozon 120 menit	10^{-1}	0	0	0	0
	10^{-2}	0	0	0	
	10^{-3}	0	0	0	
	10^{-4}	0	0	0	
	10^{-5}	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					0

perlakuan ozon, spesies reaktif ini menghancurkan membran sel mikroorganisme, yang akhirnya menyebabkan inaktivasi bakteri.

Proses inaktivasi bakteri terjadi ozon menyerang banyak konstituen seluler termasuk protein, lipid tak jenuh dan enzim pernapasan di membran sel, peptidoglikan dalam amplop sel, enzim dan asam nukleat dalam sitoplasma, dan protein dan peptidoglikan (Khadre, *et al.*, 2001). Proses inaktivasi kapang khamir yang merupakan fungi, berkaitan juga dengan proses metabolisme sel jamur, yang menyebabkan apoptosis dan stres oksidatif, dan hal ini terbukti efektif dalam



Gambar 4. Nilai Angka Kapang Khamir Simplisia Sambiloto Selama Perlakuan Ozon



Gambar 5. Persentase Penurunan Nilai Angka Kapang Khamir Simplisia Sambiloto Selama Perlakuan Ozon



Gambar 6. Visual koloni mikroba yang tumbuh pada cawan pengujian AKK sambiloto tanpa perlakuan ozon dan setelah perlakuan ozon 30; 60; 90; dan 120 menit pada pengenceran 10^{-1} .

mengendalikan perkembangan jamur toksogenik (Savi, *et al.*, 2014). Mekanisme-mekanisme tersebut kemungkinan yang bertanggung jawab terhadap terjadinya penurunan Angka Lempeng Total maupun Angka Kapang Khamir pada proses dekontaminasi ozon pada simplisia herba sambiloto.

ROS yang terbentuk pada proses perlakuan ozon juga dapat menghancurkan dinding sel tumbuhan, sehingga dengan sifat ozon sebagai oksidator ini, dapat mempengaruhi komponen senyawa kimia yang terkandung di dalam sel tumbuhan tersebut, sehingga perlu dilakukan

penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh dekontaminasi ozon terhadap senyawa kimia yang terkandung pada simplisia ini.

KESIMPULAN

Ozon terbukti dapat mendekontaminasi mikroba pada simplisia herba sambiloto diketahui dari nilai Angka Lempeng Total dan Angka Kapang Khamir selama perlakuan 30; 60; 90; dan 120 menit dapat menurunkan persentase nilai ALT berturut-turut sebesar 88%; 99%; 99,6% dan 100%, sedangkan untuk persentase penurunan nilai AKK berturut-turut adalah 33%; 67%; 100% dan 100%.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas bantuan dana dari Beasiswa LPDP (Lembaga Pengelola Dana Pendidikan) Kementerian Keuangan sehingga penelitian ini dapat terlaksana dengan baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Bialka, K.I., Demirci, A. 2007, Utilization of Gaseous Ozone for the Decontamination of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* on Raspberries and Strawberries. *Journal of Food Protection*, Vol. 70, No. 5, 2007, Pages 1093–1098.
- BPOM RI. 2019, *Peraturan Badan Pengawas Obat Dan Makanan Nomor 32 Tahun 2019 tentang Persyaratan Keamanan Dan Mutu Obat Tradisional*, Jakarta, Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Cabello, J.R., Serrano, S., Rodriguez, I., García-Valcárcel, A.I., Hernando, M.D., Flores, J.M. 2021, Microbial Decontamination of Bee Pollen by Direct Ozone Exposure. *Foods* 2021, 10, 2593. <https://doi.org/10.3390/foods10112593>.
- Epelle, E.I., Macfarlane, A., Cusack, M., Burns, A., Thissera, B., Mackay, W., Rateb, M.E., Yaseen, M. 2022, Bacterial and fungal disinfection via ozonation in air, *Journal of Microbiological Methods*, Volume 194, 2022, 106431, ISSN 0167-7012, <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2022.106431>.
- Epelle, E.I., Macfarlane, A., Cusack, M., Burns, A., Okolie, J.A., Mackay, W., Rateb, M., Yaseen, M. 2023, Ozone application in different industries: A review of recent developments, *Chemical Engineering Journal*, Volume 454, Part 2, 2023, 140188, ISSN 1385 8947, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.140188>.
- Farajzadeh D., Qorbanpoor A., Rafati H., Isfeedvajani M.S. 2013, Reduction of date microbial load with ozone. *Journal of Research in Medical Sciences* 2013; 18:330-34.
- Ginting, D., Santosa, I., Trigunarso, S. 2022, *Jurnal Analis Kesehatan* : Volume 11, Nomor 1, Juni 2022. DOI:10.30821/kfl:jibt.v1i2.1598.
- Khadre, M. A., Yousef, A. E., & Kim, J.-G. 2001, Microbiological Aspects of Ozone Applications in Food: A Review. *Journal of Food Science*, 66(9), 1242–1252. doi:10.1111/j.1365-2621.2001.tb15196.
- Rice, R.G. & Graham, D.M. 2001, US FDA regulatory approval of ozone as an antimicrobial agent—what is allowed and what needs to be understood. *Ozone News* 2001, 29, 22–31.
- Savi, G. D., & Scussel, V. M. 2014, Effects of Ozone Gas Exposure on Toxigenic Fungi Species from *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium* Genera. *Ozone: Science Engineering*, 36(2), 144–152. <https://doi.org/10.1080/01919512.2013.846824>.
- Xue, W., Macleod, J., & Blaxland, J. 2023, The Use of Ozone Technology to Control Microorganism Growth, Enhance Food Safety and Extend Shelf Life: A Promising Food Decontamination Technology. *Foods (Basel, Switzerland)*, 12(4), 814. <https://doi.org/10.3390/foods1204081>