

**PERBEDAAN JUMLAH BAKTERI TOTAL DAN
KOLIFORM PADA SUSU SEGAR DENGAN OZONISASI
DAN PASTEURISASI**

Artikel Penelitian

disusun sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan
studi pada Program Studi Ilmu Gizi, Fakultas Kedokteran
Universitas Diponegoro



disusun oleh :
Dessiani Dwi Kusumawati
G2C008018

**PROGRAM STUDI ILMU GIZI FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2012**

LEMBAR PERSETUJUAN

Artikel penelitian dengan judul “Perbedaan Jumlah Bakteri Total dan Koliform pada Susu Segar dengan Ozonisasi dan Pateurisasi” telah dipertahankan di hadapan penguji dan telah direvisi.

Mahasiswa yang mengajukan :

Nama : Dessiani Dwi Kusumawati
NIM : G2C008018
Fakultas : Kedokteran
Program Studi : Ilmu Gizi
Universitas : Diponegoro Semarang
Judul Proposal : Perbedaan Jumlah Bakteri Total dan Koliform pada Susu Segar dengan Ozonisasi dan Pateurisasi

Semarang, 23 Juni 2012

Mengetahui,
Ketua Penguji

Prof.dr.HM. Sulchan, MSc.DA.Nutr.,SpGk
NIP.1949062019703001

Penguji 1

Arintina Rahayuni, STP, M.Pd
NIP. 196509121988032001

Penguji 2

Fitriyono Ayustaningwarso S.TP, M.Si...
NIP. 198410012010121006

HALAMAN PENGESAHAN

Artikel penelitian dengan judul “Perbedaan Jumlah Bakteri Total dan Koliform pada Susu Segar dengan Ozonisasi dan Pateurisasi” telah dipertahankan di hadapan penguji dan telah direvisi.

Mahasiswa yang mengajukan :

Nama : Dessiani Dwi Kusumawati
NIM : G2C008018
Fakultas : Kedokteran
Program Studi : Ilmu Gizi
Universitas : Diponegoro Semarang
Judul Proposal : Perbedaan Jumlah Bakteri Total dan Koliform pada Susu Segar dengan Ozonisasi dan Pateurisasi

Semarang, 23 Juni 2012

Pembimbing

Prof.dr.HM. Sulchan, MSc.DA.Nutr.,SpGk

NIP.1949062019703001

Perbedaan Jumlah Bakteri Total dan Koliform pada Susu segar dengan Ozonasi dan Pasteurisasi

Dessiani Dwi K* HM Sulchan** Zaenul Muhlisin***

ABSTRAK

Latar Belakang: Susu merupakan salah satu sumber protein hewani yang juga merupakan media pertumbuhan yang baik bagi bakteri, sehingga berpotensi sebagai media penyebaran bakteri patogen. Bakteri koliform digunakan sebagai indikator sanitasi produk susu. Pasteurisasi merupakan metoda yang paling sering digunakan sebagai upaya menghilangkan 95-99% bakteri. Ozonasi merupakan metode yang relatif baru dalam pengolahan susu sebagai desinfeksi pada bakteri sehingga susu menjadi layak untuk dikonsumsi.

Tujuan: Menganalisis perbedaan jumlah bakteri total dan koliform pada susu yang diozonasi dengan susu pasteurisasi.

Metode: Merupakan penelitian eksperimental laboratorik sesungguhnya jenis *randomized control groups pre-post design* untuk mengetahui perbedaan jumlah bakteri total dan koliform pada susu pasteurisasi dan ozonasi setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Analisis statistik menggunakan uji *independent t-test* CI 95%.

Hasil: Terdapat beda nyata antara total bakteri dan koliform pada susu pasteurisasi dan susu ozonasi, total bakteri pada susu pasteurisasi $4,83 \pm 0,19$ log cfu/ml dan total bakteri pada susu ozonasi adalah $5,87 \pm 0,98$ log cfu/ml. Total koiform pada susu pasteurisasi $0,62 \pm 0,18$ log mpn/ml dan total koliform pada susu ozonasi $1,07 \pm 0,09$ logmpn/ml.

Simpulan: Total bakteri dan koliform pada susu ozonasi dan pasteurisasi keduanya mengalami penurunan yang signifikan, namun penurunan paling banyak terjadi pada susu pasteurisasi.

Kata Kunci: Susu, Pasteurisasi, Ozonasi, Total Bakteri, Koliform, Ozon

* Mahasiswa Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

** Dosen Program Studi Ilmu Gizi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro Semarang.

*** Dosen Program Studi Fisika Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro

The Difference Amount of Total Bacteria and Coliform on Ozonation Pasteurized Milk

Dessiani Dwi K* HM Sulchan** Zaenul Muhlisin***

ABSTRACT

Background : milk is one source of animal protein which is also a good growth medium for bacteria, so the potential as a medium for the spread of bacterial pathogens. Coliform bacteria used as indicators of sanitation dairy products. Pasteurization is one of the most frequently used methods as an effort to eliminate 95-99% of bacteria. Ozonation is a relatively new method in the processing of milk as the disinfection of bacterial in order to make milk safely consumed.

Objective : Analyze difference amount of total and coliform bacteria in ozonated milk and pasteurized milk.

Method : True experimental laboratory research with randomized control groups to determine the differences amount of total and coliform bacteria in pasteurized and ozonation milk treatment done every three replications. Statistical analysis using independent t-test 95% CI.

Result : there is a significant difference between the total and coliform bacteria in pasteurized milk and ozonated milk, total bacteria in pasteurized milk $4,83 \pm 0,19$ log cfu/ml and total bacteria in ozonated milk is $5,87 \pm 0,98$ log cfu/ml. Total coliform at pasteurized milk $0,62 \pm 0,18$ log mpn/ml and total coliform in milk $1,07 \pm 0,09$ logmpn/ml ozonation .

Conclusion : Total bacteria and coliform in both ozonated milk and pasteurized milk decreased significantly, although they decreased the lowest amount in pasteurized milk.

Keywords: Milk, Pasteurisation, Ozonation, bacteria total, coliform, Ozone

* Student of Nutrition Science Program, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Semarang.

** Lecturer of Nutrition Science Program, Faculty of Medicine, Diponegoro University, Semarang.

*** Lecturer of Physics Science Program, Faculty of Sains and Mathematics, Diponegoro University, Semarang.

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR LAMPIRAN	iv
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
ABSTRAK	
PENDAHULUAN	1
METODE PENELITIAN	2
HASIL	4
Waktu Efektif Ozonisasi.....	4
Penentuan Konsentrasi Ozon Terlarut	4
Perbedaan Jumlah Total Bakteri dan Koliform pada Susu Ozonisasi dan Pasteurisasi	5
PEMBAHASAN	6
1. Penelitian Pendahuluan	6
Hubungan Waktu Ozonisasi dengan Penurunan Jumlah Bakteri Total	6
2. Penelitian Utama	8
Perbandingan Jumlah Total Bakteri dan Koliform Pada Susu Ozonisasi dan	

Pasteurisasi LTLT.....	8
SIMPULAN	10
SARAN	11
UCAPAN TERIMA KASIH	11
DAFTAR PUSTAKA	11
LAMPIRAN	13

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Prosedur Pengujian Total Plate Count.....	13
Lampiran 2. Prosedur Peengujian Most Probable Number (MPN) Koliform.....	14
Lampiran 3. Rangkaian Sistem Ozonasi pada Susu	15
Lampiran 4. Prosedur Penentuan Konsentrasi Ozon Terlarut	16

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Analisis TPC Susu Ozonisasi dengan Variasi waktu.....	4
Tabel 2. Hasil perhitungan Konsentrasi Ozon terlarut	4
Tabel 3. Perbedaan Jumlah Total Bakteri pada Susu Ozonisasi dan Pasteurisasi	5
Tabel 4. Perbedaan jumlah koliform pada susu ozonisasi dan pasteurisasi	5
Tabel 5 : Perbandingan Efektifitas Ozonasi dan Pasteurisasi dalam Membunuh Bakteri	10

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 : Grafik Hubungan Waktu Ozonisasi dengan Konsetrasi Ozon Terlarut.....	6
Gambar 2 : Grafik Hubungan antara Waktu Ozonisasi dengan Penurunan Total Bakteri.....	7
Gambar 3 : Perbandingan Jumlah Total Bakteri dan Koliform pada Susu Ozonasi dan Susu Pasteurisasi	8

PENDAHULUAN

Susu merupakan salah satu sumber protein hewani.¹ Susu juga merupakan media pertumbuhan yang baik bagi bakteri, sehingga berpotensi sebagai media penyebaran bakteri patogen. Pencemaran pada susu terjadi sejak proses pemerahan.²

Kelompok bakteri koliform digunakan sebagai indikator sanitasi penanganan susu dan produk lainnya.² Koliform merupakan bakteri yang diekskresikan dari saluran pencernaan hewan dan manusia.³ Berdasarkan SNI No 01-6366 tahun 2000 mengenai batas maksimum cemaran mikroba dan batas maksimum residu dalam makanan asal ternak. Batas maksimum cemaran mikroba untuk jumlah bakteri total pada susu segar 6 log cfu/ml dan untuk jumlah bakteri koliform pada susu segar 1,3 log mpn/ml. Sementara batas maksimum cemaran mikroba untuk susu pasteurisasi 4,47 log cfu/ml dan untuk jumlah bakteri koliform pada susu pasteurisasi 1 log mpn/ml.⁴

Bakteri dapat mengakibatkan kerusakan sehingga susu menjadi tidak layak untuk dikonsumsi. Perlu dilakukan penanganan untuk mencegah adanya kerusakan dan adanya bakteri patogen serta dapat meningkatkan daya tahan serta menjamin keamanan susu agar layak untuk dikonsumsi.⁵

Pasteurisasi sering digunakan dalam pengolahan susu di Amerika karena dapat menghilangkan 95 - 99% dari bakteri yang terkandung dan secara signifikan dapat memperpanjang umur simpan. Penelitian lain mengatakan bahwa pasteurisasi rumahan tidak menurunkan jumlah total bakteri dan koliform secara signifikan disebabkan oleh daerah buangan feses yang masih berdekatan dengan kandang, peralatan yang tidak dibersihkan secara maksimal dan penyimpanan yang kurang baik.²

Ozon merupakan desinfektan yang layak untuk menjamin keamanan produk makanan, karena telah digunakan untuk membunuh bakteri pada daging, unggas, telur, ikan, buah – buahan, sayuran, makanan kering dan air.⁶ FDA menyatakan

bahwa ozon dalam makanan aman selama kurang dari 400ppm.⁷ Ozon pada konsentrasi sebesar 0,1 mg/l dapat menginaktivasi 99% E.Coli.⁸

Tujuan penelitian ini adalah menganalisis perbedaaan jumlah bakteri total dan koliform pada susu yang diozonasi dengan susu pasteurisasi. Tujuan khusus pada penelitian ini adalah menganalisis jumlah total bakteri dan koliform sebelum ozonasi dan pasteurisasi dan dibandingkan dengan batas maksimal total bakteri dan koliform pada SNI No 01-6366 tahun 2000 dan menganalisis jumlah total bakteri dan koliform setelah ozonasi dan pasteurisasi kemudian dibandingkan dengan batas maksimal total bakteri dan koliform pada SNI No 01-6366 tahun 2000.

METODA

Penelitian yang dilakukan ditinjau dari segi keilmuan termasuk dalam bidang Ilmu Gizi dengan konsentrasi *Food Production*. Penelitian ini dilaksanakan mulai April 2012 di Laboratorium Fisika Plasma Fakultas Sains dan Matematika, Laboratorium Fisiologi dan Mikrobiologi Fakultas Peternakan Universitas Diponegoro Semarang dan Balai Pengujian dan Informasi Konstruksi Srandol Semarang.

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik sesungguhnya jenis *randomized control groups pre-post design* untuk mengetahui perbedaan jumlah bakteri total dan koliform pada susu pasteurisasi dan ozonasi setiap perlakuan dilakukan 3 kali ulangan. Subjek dalam penelitian ini adalah susu sapi yang diperoleh dari peternakan sapi perah di kelurahan Sumurejo Kecamatan Gunung Pati, dengan besar sampel pada penelitian ini 900 mililiter yang kemudian dibagi menjadi 9 sampel masing masing 300ml. 3 sampel susu segar tanpa perlakuan sebagai kontrol, 3 sampel susu segar di ozonasi dan 3 sampel susu segar di pasteurisasi. Cara pengambilan sampel dilakukan dengan metode *simple random sampling*, dimana proses pengambilan dilakukan secara acak pada peternak sapi memenuhi kriteria sebagai berikut: sampel diambil dari sapi yang sehat, Sampel tidak diberi tambahan apapun setelah pemerahan dan sampel diambil sesaat setelah pemerahan pagi pukul 6.00.

Sebelum dilakukan penelitian utama mengenai perbedaan total bakteri koliform pada susu segar pasteurisasi dan ozonasi, dilakukan penelitian pendahuluan guna memperoleh waktu efektif ozonasi dan menentukan konsentrasi ozon terlarut. Penelitian ini menggunakan alat osiloskop merek instek tipe GOS 620, probe tegangan tinggi merk SEW tipe PD-28, multimeter sanwa model yx360TRF, air pump –aa350, Regulated DC power suply merek Thunder tipe VS-10A, ozon meter merek ecoxsensors tipe OS-4 dan reaktor ozon berkonfigurasi kawat bidang dengan tiga kawat yang dibuat oleh mahasiswa jurusan fisika fakultas sains dan matematika Universitas Diponegoro. Tegangan yang digunakan 5 kV, arus 45 mA, dan volume udara 0,0035 m³. Nilai tersebut didapat berdasarkan tegangan dan arus minimal pembentukan ozon. Sementara untuk menentukan konsentrasi ozon terlarut menggunakan alat UV- Vis, alat UV – Vis hanya menghasilkan molaritas ozon yang terkandung di dalam 10 ml air yang diikat oleh KI, konsentrasi ozon terlarut dapat di hasilkan melalui perhitungan rumus 1 :

rumus 1 :

$$O_3 (\mu gm^{-3}) = 48 \times 10^3 \times V_1 \times \frac{C}{V} \quad (\text{rumus 1})$$

Keterangan :

V_1 = volume larutan pengikat yang terdapat dlm larutan sampel (mL) = 10ml

$C = MO_3$ = konsentrasi yang di peroleh dari uv-vis (mol / L) (dapat dilihat pada tabel 2)

V : = volume udara (M³) = (0,0035 m³ x waktu ozonasi)⁹

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ozonasi dan pasteurisasi dan variabel terikat pada penelitian ini adalah nilai total bakteri, koliform. Data dianalisis menggunakan program komputer dan diuji kenormalannya dengan menggunakan uji kenormalan *saphiro-wilk*. Uji untuk mengetahui perbedaan menggunakan uji *independent t-test* karena data berdistribusi normal Uji beda digunakan untuk mengetahui perbedaan nyata nilai TPC dan MPN pada susu pasteurisasi dan ozonasi.

HASIL

1. Waktu Efektif Ozonasi

Waktu efektif didapatkan dari ozonasi susu selama 0, 5, 10, 15 menit dengan tegangan 5kV arus 45 mA, kemudian di uji nilai total bakteri dan di dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis TPC Susu Ozonasi dengan Variasi waktu

Variasi waktu	Nilai Total Bakteri (log(Cfu/ml))	Rerata (log(Cfu/ml))	Δ (post – pre) (log(Cfu/ml))
P0	6,17 6,14 6,11 6,07	$6,15 \pm 0,21$	
P1	5,78 5,41 5,96 5,94	$6,09 \pm 0,02$	$-0,65 \pm 0,07$
P2		$5,59 \pm 0,26$	$-0,56 \pm 0,24$
P3		$5,95 \pm 0,14$	$-0,20 \pm 0,07$

Keterangan :

P0 = kelompok pre test

P1 = kelompok perlakuan ozonasi 5 menit

P2 = kelompok perlakuan ozonasi 10 menit

P3 = kelompok perlakuan ozonasi 15 menit

Hasil analisis *Total Plate Count (TPC)* pada Tabel 1 menunjukkan penurunan jumlah bakteri paling besar adalah pada ozonasi susu selama 10 menit yaitu sebesar 0,56 logCfu/ml.

2. Penentuan Konsentrasi Ozon Terlarut

Molaritas Ozon yang diikat oleh larutan pengikat KI, didapat melalui alat spektrofotometer UV-Vis pada λ 320nm dapat dilihat pada Tabel2.

Tabel 2. Hasil Perhitungan Konsentrasi Ozon Terlarut

Variasi waktu	Molaritas O ₃ (mol /L)	Konsentrasi O ₃ (ppm)
0 menit	0	0
5 menit	0,000119	3,263
10 menit	0,000317	4,247
15 menit	0,000432	3,949

Hasil analisis penentuan konsentrasi ozon terlarut pada Tabel 2 menunjukkan konsentrasi ozon terlarut paling tinggi adalah pada ozonasi selama 10 menit yaitu sebesar 4, 247 ppm.

3. Perbedaan Jumlah Total Bakteri dan Koliform pada Susu Ozonasi dan Pasteurisasi

Perbedaan jumlah total bakteri dan koliform pada susu ozonasi selama 10 menit dan pasteurisasi LTLT 63° C selama 30 menit dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Tabel 3. Perbedaan jumlah total bakteri pada susu ozonasi dan pasteurisasi

Perlakuan	Total bakteri (log(cfu/ml))	
Tanpa perlakuan	6,79 ± 0,35	
Ozonasi	5,87 ± 0,98	p < 0,00
Pasteurisasi	4,83 ± 0,19	

Hasil analisis Perbedaan jumlah total bakteri pada susu ozonasi dan pasteurisasi pada Tabel 3 menunjukkan ada perbedaan bermakna antara nilai total bakteri ozonasi dan pasteurisasi dikarenakan p < 0.05.

Tabel 4. Perbedaan jumlah koliform pada susu ozonasi dan pasteurisasi

Perlakuan	Total koliform (log(mpn/ml))	
Tanpa perlakuan	1,22 ± 0,06	P < 0.04
Ozonasi	1,07 ± 0,09	
Pasteurisasi	0,62 ± 0,18	

Hasil analisis Perbedaan jumlah koliform pada susu ozonasi dan pasteurisasi pada Tabel 4 menunjukkan ada perbedaan bermakna antara nilai MPN ozonasi dan pasteurisasi dikarenakan $p < 0.05$.

PEMBAHASAN

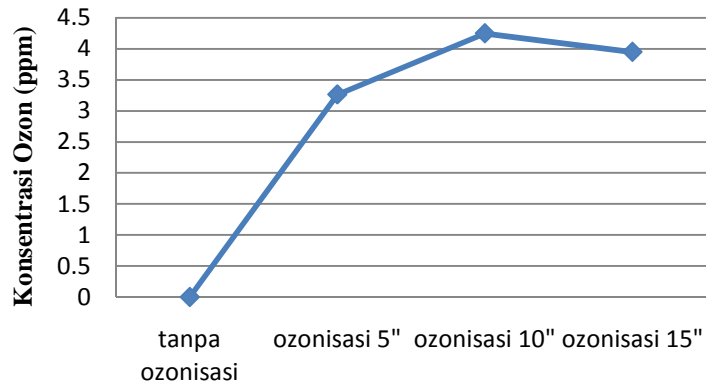
1. Penelitian Pendahuluan

Hubungan Waktu Ozonasi dengan Penurunan Jumlah Bakteri Total

Molekul ozon mengandung tiga atom oksigen dan lebih tidak stabil jika dibandingkan dengan gas oksigen namun ozon jauh lebih reaktif daripada gas oksigen. Ozon termasuk pengoksidasi terkuat yang ada dipasaran.⁹

Ozon merupakan desinfektan yang layak untuk menjamin keamanan produk makanan, karena telah digunakan untuk membunuh bakteri pada daging, unggas, telur, ikan, buah – buahan, sayuran, makanan kering dan air.⁶ FDA menyatakan bahwa ozon dalam makanan aman selama kurang dari 400ppm.⁷ Hasil penelitian pendahuluan mengenai penentuan konsentrasi ozon terlarut menyatakan bahwa ozon terlarut pada susu kurang dari 400ppm. Hubungan waktu ozonasi dengan konsentrasi ozon terlarut dapat di lihat pada Gambar 1.

Gambar 1 : Hubungan Waktu Ozonasi Dengan Konsetrasi Ozon Terlarut



Gambar 1 menunjukkan adanya peningkatan konsentrasi ozon terlarut dari menit ke 5 sampai menit ke 10, dan terjadi penurunan pada menit ke 15. Hal ini diduga karena pada menit ke 15 konsentrasi ozon yang diberikan berlebih sehingga akan merusak ozon yang telah diberikan sebelumnya (mengacu pada persamaan reaksi 3-7). Persamaan reaksi 1 sampai 7 menunjukkan proses pembentukan dan penguraian ozon.

Produksi pada atom oksigen



I. Konversi atom oksigen menjadi ozon

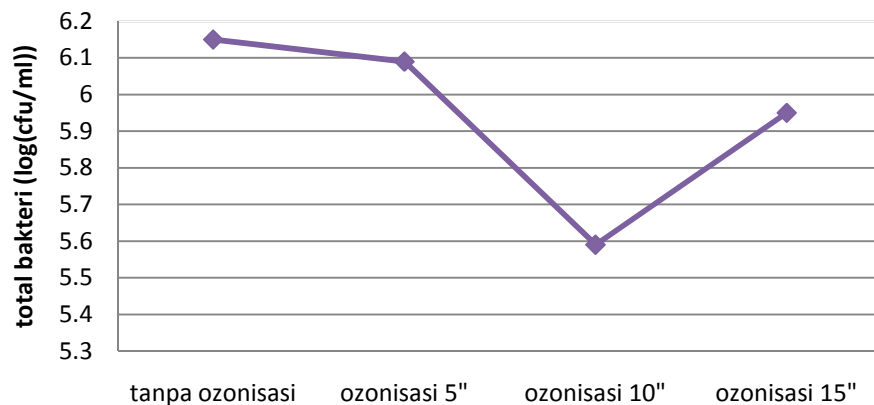


II. Dekomposisi pada ozon



Gambar 1 menunjukkan konsentrasi ozon terlarut yang paling tinggi pada menit ke 10 yaitu sebesar 4,247 ppm. Berdasarkan persamaan reaksi diatas molekul paling reaktif terhadap bakteri adalah molekul O_2^- dan O^- . Hubungan antara waktu ozonasi dengan penurunan total bakteri dapat dilihat pada gambar 2.

Gambar 2 : Hubungan antara waktu ozonasi dengan penurunan total bakteri



Berdasarkan Gambar 2 diketahui bahwa penurunan jumlah total bakteri paling tinggi di tunjukkan pada waktu ozonasi 10 menit. Waktu Ozonasi 10 menit dihasilkan ozon terlarut yang paling tinggi, sehingga reaksi antara ozon dengan bakteri paling intensif.

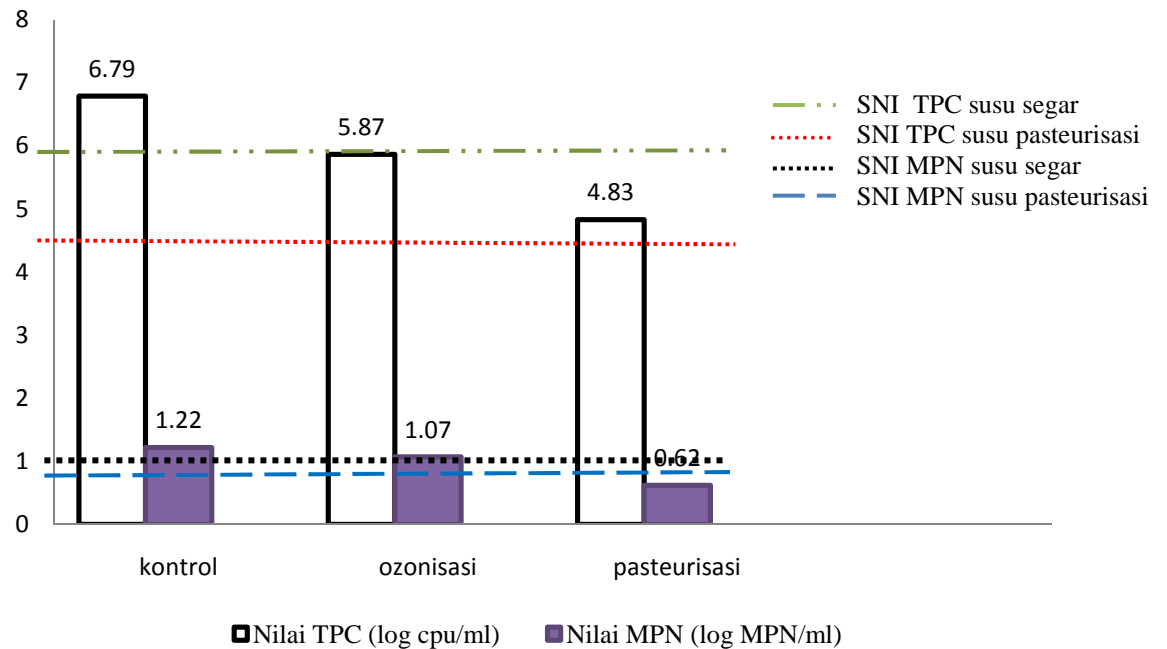
Mekanisme ozon dalam membunuh bakteri, Ozon dalam media cair menghasilkan radikal bebas yang menginaktivasi mikroorganisme. Ozon mempengaruhi permeabilitas, aktivitas enzim dan DNA dari sel bakteri. Residu guanine dan atau thymine merupakan sasaran dari ozon. Pengolahan ozon menyebabkan konversi *circular plasmid* DNA tertutup (ccDNA) *E.coli* menjadi *circular* DNA terbuka (ocDNA). Ozon menginaktivasi virus dengan merusak inti asam nukleat. Pada rotavirus, ozon merubah capsid dan inti RNA.⁸

2. Penelitian Utama

Perbandingan Jumlah Total Bakteri dan Koliform Pada Susu Ozonasi dan Pasteurisasi LTLT

Penurunan jumlah total bakteri dan koliform pada susu segar ozonasi dapat dilihat pada gambar 3.

Gambar 3 : Perbandingan Jumlah Total Bakteri dan Koliform pada Susu Ozonasi dan Susu Pasteurisasi



Gambar 3 menunjukkan bahwa jumlah total bakteri pada sampel kontrol adalah 6,79 logcfu/ml dan telah melewati batas maksimum cemaran mikroba susu segar yang ditetapkan SNI no 3141.1 tahun 2011 yaitu 6 logcfu/ml. Sementara jumlah koliform pada susu segar adalah 1,22 logMPN/ml dan tidak melewati batas maksimal jumlah koliform pada susu segar yaitu 1,3 logMPN/ml.

Tingginya nilai total bakteri pada susu segar diduga penanganan pasca pemerahan yang tidak disimpan pada suhu kurang dari 10°C selama perjalanan. Air susu yang baru diperah memiliki suhu 37°C, hal tersebut sangat menguntungkan mikroorganisme untuk dapat berkembang biak, untuk

menghambat pertumbuhan mikroorganisme susu disimpan pada suhu 20-30°C dan untuk menonaktifkan mikroorganisme susu disimpan pada suhu <10°C.¹¹ Tingginya angka total bakteri pada sampel juga dipengaruhi oleh lamanya masa simpan sebelum pengujian dilakukan sehingga bakteri dapat berkembang biak.

Gambar 3 menunjukkan bahwa jumlah total bakteri pada sampel susu pasteurisasi adalah 4,83 logcfu/ml dan telah melawati batas maksimum cemaran mikroba susu pasteurisasi yang ditetapkan SNI no 01-6366 tahun 2000 yaitu 4,47 log cfu/ml. Sementara jumlah koliform pada susu pasteurisasi adalah 0,62 logmpn/ml dan tidak melewati batas maksimal jumlah koliform pada susu pasteurisasi yaitu 1 logMPN/ml. Tingginya nilai total bakteri pada susu pasteurisasi diduga pemanasan kurang merata sehingga masih ada bakteri yang hidup dan juga dipengaruhi oleh lamanya masa simpan sebelum pengujian dilakukan sehingga bakteri dapat berkembang biak.

Gambar 3 menunjukkan bahwa jumlah total bakteri pada susu ozonasi adalah 5,87 logcfu/ml dan telah melewati batas cemaran mikroba untuk susu pasteurisasi yaitu 4,47 log cfu/ml. Jumlah koliform pada susu ozonasi adalah 1,07 logmpn/ml dan telah melewati batas maksimal jumlah koliform pada susu pasteurisasi yaitu 1 logMPN/ml.

Penelitian yang dilakukan oleh Mariyaselvam Sheelamary dan Muthusamy Muthukumar mengenai “*Efektivitas Ozon dalam Inaktivasi Listeria Monocytogenes pada Sample Susu*”, ozon dapat menurunkan *Listeria Monocytogenes* pada beberapa merk susu dari 1.105 CFU/ml sampai nilai 0 (nol) CFU/ml dalam waktu ozonasi 10 menit,¹² perbedaan dengan penelitian ini adalah alat yang digunakan alat ozonasi dengan arus AC, dengan debit udara yang rendah dan menggunakan O₂ murni sebagai sumber pembentuk ozon sehingga ozon yang dihasilkan lebih besar meskipun menggunakan waktu ozonasi yang sama.

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

1. Nilai *Total Plate Count (TPC)* dan nilai *Most Probability Number (MPN)* susu pasteurisasi lebih rendah bila dibandingkan dengan susu ozonasi.
2. Jumlah total bakteri pada susu pasteurisasi adalah 4,83 logcfu/ml dan telah melawati batas maksimum cemaran mikroba susu pasteurisasi yang ditetapkan SNI no 01-6366 tahun 2000 yaitu 4,47 log cfu/ml. Sementara jumlah koliform pada susu pasteurisasi adalah 0,62 logmpn/ml dan tidak melewati batas maksimal jumlah koliform pada susu pasteurisasi yaitu 1 logMPN/ml sehingga susu pasteurisasi tidak layak untuk dikonsumsi karena telah melewati batas SNI.
3. Jumlah total bakteri pada susu ozonasi adalah 5,87 logcfu/ml dan telah melewati batas cemaran mikroba untuk susu pasteurisasi yang ditetapkan SNI no 01-6366 tahun 2000 yaitu 4,47 log cfu/ml. Jumlah koliform pada susu ozonasi adalah 1,07 logmpn/ml dan telah melewati batas maksimal jumlah koliform pada susu pasteurisasi yaitu 1 logMPN/ml sehingga susu pasteurisasi tidak layak untuk dikonsumsi karena telah melewati batas SNI.

B. Saran

Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai analisis zat gizi makro pada susu segar setelah ozonasi dan pasteurisasi, serta perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai uji mutu berupa uji fisik, kimiawi, warna dan aroma susu pasteurisasi dan ozonasi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan kemudahan yang telah diberikan-Nya. Penulis ingin menyampaikan terimakasih untuk Prof. dr. H.M. Sulchan M.Sc, DA Nutr, Sp.GK., Fitriyono Ayustaningwarso S.TP, M.Si., dan Arintina Rahayuni, STP, M.Pd atas masukan

dan saran yang telah diberikan. Staf Laboratorium Fisika Plasma Fakultas Sains Dan Matematika Undip, dan Staf Laboratorium Fisiologi Dan Mikrobiologi Faakultas Peternakan Undip yang telah membantu penelitian ini sehingga penelitian ini dapat berjalan dengan lancar. Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada keluarga, sahabat, dan teman-teman yang telah memberikan semangat dan dukungan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Rombaut R. Dairy Microbiology and Starter Cultures. Laboratory of Food Technology and Engineering. Gent University. Belgium. 2005.
2. Roostita L, Ellin H, Denny S. Jumlah Bakteri Total dan Koliform pada Susu Segar Peternakan Sapi Perah Rakyat dan Susu Pasteurisasi tanpa Kemasan di Pedagang Kaki Lima [Skripsi]. Fakultas Peternakan Universitas Padjadjaran 2006-2-6.
3. Widodo S. Bakteri Yang Sering Mencemari Susu: Deteksi, Patogenesis, Epidemiologi, dan Cara Pengendaliannya, Balai Pengkajian Teknologi Pertanian Yogyakarta. 2010.
4. Standar Nasional Indonesia. SNI no 01-6366. Badan Standarisasi Nasional . 2000.
5. Gillis E. The Effect of Heat Treatment on the Nutritional Value of Milk. 2005-2.
6. Kim, Jin-Gab, Yousef, Ahmed E., Dave, Sandhaya, Application of Ozone for Enchaning the Microbiological Safety and Quality of Food. Vol 62, number 9, 1999 1071-1087.
7. U.S Food and Drud Administration, Food Additive Status List [serial online] available from: URL : HYPERLINK <http://www.fda.gov/food/foodingredienspackaging/foodadditives/foodadditivelistings/ucm091048.htm>

8. Patel K., *What is Ozon*, Ozonetek Limited, 30 Landons Road, Madras 600010, India 2001.
9. Radojevic M, Bashkin V. N., *Practical Enviromental Analysis*. Royal Society Chemistry, Cornwall Uk, 1999.
10. Rahel, J. *Study of Ozone Production by Negative Corona Discharge in Mixture of Oxygen with some Chlorinated Methane*, Department of Plasma Physics, Comenius University, Slovakia 2000.
11. Muchtadi T. R., Sugiyono, Ayustaningwarno F., *Ilmu Pengetahuan Bahan Pangan*, Alfabeta, Bandung 2010. P-72.
12. Sheelamary M., Muthukumar M., *Effectiveness of Ozone in Inactivating Listeria monocytogenes from Milk Samples*, India, 2011.
13. Fardiaz S, *Analisis Mikrobiologi Pangan*, PT. Raja Grafindo Persada. Jakarta 1993. 35-42, 68-73.

Lampiran 1. Prosedur Pengujian Total Plate Count (TPC)¹³

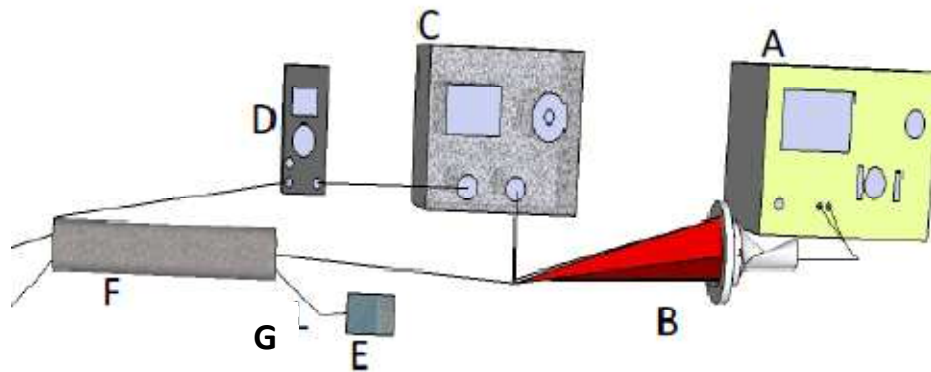
- Sampel yang diperkirakan mengandung lebih dari 300 sel mikroba per ml, dilakukan pengenceran secara desimal yaitu 1:10, 1:100, 1:1000 dst pengambilan sampel dilakukan secara aseptik dan pada setiap pengencerannya dilakukan pengocokan kira kira 25 kali, kemudian di tumbuhkan pada cawan petri.
- Larutan yang digunakan untuk pengenceran dapat berupa larutan fosfat bufer, larutan garam fisiologis 0,85%, atau larutan Ringer.
- Berdasarkan pengenceran yang dikehendaki, sebanyak 1 ml atau 0,1 ml. larutan tersebut dipipet ke dalam cawan petri menggunakan pipet 1 ml.
- Masukkan agar cair steril kedalam cawan sampai 50°C sebanyak 15 ml.
- Selama penuangan tutup jangan dibuka terlalu lebar.
- cawan digerakkan di atas meja secara hati-hati untuk menyebarkan bakteri secara merata.
- Inkubasi pada waktu dan suhu sesuai jenis mikroba yang akan dihitung.
- Hitung koloni yang terbentuk.
- Cawan yang dihitung yang mengandung koloni 30 sampai 300.
- Beberapa koloni yang bergabung menjadi satu dapat dihitung satu koloni.
- Satu deretan koloni yang berderet membentuk garis tebal dihitung satu koloni.

Lampiran 2 Prosedur Pengujian Most Probable Number (MPN) Koliform¹³

- Lakukan pengenceran sampel secara desimal.
- Kemudian dari masing masing pengenceran dimasukkan ke dalam tabung yang berisi lactosa broth dan tabung durham.
- Setiap pengenceran digunakan tiga seri tabung.
- Setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu dilihat tabung yang positif, yaitu tabung yang ditumbuhi mikroba yang ditandai dengan terbentuknya gas di dalam tabung durham.
- Kombinasi tabung yang positif di cocokkan dengan tabel yang menunjukkan nilai MPN.
- Hasil perhitungan menggunakan rumus

$$\text{MPN mikroba} = \text{nilai MPN} \times \frac{1}{\text{pengenceran tabung yang ditegah}}$$

Lampiran 3 Rangkaian Sistem Ozonasi pada Susu



Keterangan:

- A. Osiloskop sebagai penampil nilai tegangan.
- B. Probe tegangan tinggi dengan skala 1:1000 sebagai pengkonversi nilai tegangan keluaran dari generator DC ke masukan osiloskop.
- C. Generator DC sebagai sumber tegangan tinggi pembangkit plasma
- D. Multimeter sebagai membaca besarnya nilai arus.
- E. Aerator / pompa udara sebagai pemompa udara masukan kedalam reaktor ozon.
- F. Reaktor ozon berkonfigurasi kawat bidang sebagai tempat berlangsungnya proses pembentukan ozon dengan masukan udara bebas
- G. Pipa udara dari aerator

Lampiran 4 Prosedur Penentuan Konsentrasi Ozon Terlarut

1. Menentukan Molaritas Ozon

- Buat larutan standar I_2 dengan cara melarutkan KI sebanyak 3,2 gr yang ditambahkan dengan I_2 0,635 gr dan dilarutkan dengan aquadest sampai volume 100 ml, untuk mendapatkan larutan I_2 0,025 M.
- Diamkan larutan ini selama 1 hari tanpa terkena cahaya matahari agar efektif.
- Larutkan 4 ml larutan I_2 0,025 M dengan aquadest sampai volume 100 ml untuk mendapatkan larutan I_2 0,001 M.
- Dari larutan ini, persiapkan larutan standar mulai dari 1×10^{-5} M – 1×10^{-4} M dengan cara melarutkan 0,5 ml larutan I_2 0,001 M kedalam labu ukur dengan aquadest sampai volume 50 ml untuk mendapatkan larutan I_2 1×10^{-5} M. Lakukan sebanyak 10 kali dengan peningkatan konsentrasi I_2 kelipatan 0,5.
- Larutan ini dicari nilai absorbansinya pada panjang gelombang 320nm menggunakan spektrofotometer UV-VIS kemudian memplotkan grafik kalibrasi standar hubungan antara konsentrasi dengan nilai absorbansi yang diperoleh.

2. Menentukan Konsentrasi Ozon Terlarut

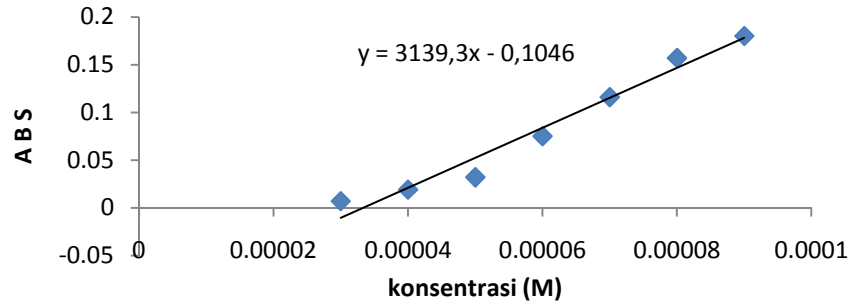
- Buat larutan KI 0,06 M sebagai larutan pengikat ozon, dengan melarutkan KI 10 gr, Na_2HPO_4 (*disodium phosphate*) 14,2 gr dan KH_2PO_4 (*potassium phosphate*) 13,61 gr kedalam labu ukur menggunakan aquadest sampai volume 1 liter.
- Siapkan 10 ml dari larutan KI 0,06 M untuk tiap pengujian sampel ozon terlarut.
- Sampel yang akan dicari konsentrasi ozon terlarutnya ditambahkan larutan pengikat yang sama (KI 0,06M) dan dialiri ozon dari 0 menit sampai 15 menit dengan rentang waktu 5 menit.
- Cari nilai absorbansinya pada panjang gelombang 320 nm. Hasilnya dibandingkan dengan grafik pada larutan standar kemudian ditentukan nilai konsentrasi dari ozon terlarutnya.

Tabel Absorbansi Larutan Standar

Konsentrasi (M)	Nilai Absorbansi
0,00003	0,007
0,00004	0,019
0,00005	0,032
0,00006	0,075
0,00007	0,116
0,00008	0,157
0,00009	0,18

Nilai absorbansi 0,00001 dan 0,00002 tidak dapat muncul karena hasil minus (-)

Grafik kalibrasi larutan standar Iodin pada penentuan absorbansi ozon terlarut



Tabel Molaritas Ozon Terlarut

t (Menit)	MO ₃
0	0
5	0,000119
10	0,000317
15	0,000432

Hasil analisis

- Mean jumlah total bakteri (log(cfu/ml)) berdasarkan waktu ozonasi

Descriptives			
		Statistic	Std. Error
Pre	Mean	6.1550	.01500
	Std. Deviation	.02121	
Lima	Mean	6.0900	.02000
	Std. Deviation	.02828	
Sepuluh	Mean	5.5950	.18500
	Std. Deviation	.26163	
limabelas	Mean	5.9500	.01000
	Std. Deviation	.01414	

- Paired sample T-Test mengetahui Δ ozonasi

Paired Samples Test									
		Paired Differences					t	df	Sig. (2-tailed)
					95% Confidence Interval of the Difference				
		Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean	Lower	Upper			
Pair 1	lima - pre	-.06500	.00707	.00500	-.12853	-.00147	-13.000	1	.049
Pair 2	sepuluh - pre	-.56000	.24042	.17000	-2.72005	1.60005	-3.294	1	.188

Paired Samples Test

Pair 3	limabelas - pre	- .20500	.00707	.00500	-.26853	-.14147	- 41.000	1	.016
--------	--------------------	-------------	--------	--------	---------	---------	-------------	---	------

- Mean hasil TPC dan MPN kelompok kontrol, ozonasi dan pasteurisasi

Descriptives

		Statistic	Std. Error
TPC kontrol	Mean	6.7920	.15692
	Std. Deviation	.35088	
TPC ozonasi	Mean	5.8760	.04411
	Std. Deviation	.09864	
TPC Pasteurisasi	Mean	4.8320	.08668
	Std. Deviation	.19383	
MPN kontrol	Mean	1.2260	.02977
	Std. Deviation	.06656	
MPN Ozonasi	Mean	1.0740	.04106
	Std. Deviation	.09182	
MPN Pasteurisasi	Mean	.6280	.08249
	Std. Deviation	.18445	

- Normalitas data

Tests of Normality

	Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.
TPC kontrol	.900	5	.409
TPC Ozonasi	.997	5	.997
TPC Pasteurisasi	.961	5	.813
MPN kontrol	.865	5	.248
MPN Ozonasi	.994	5	.991
MPN Pasteurisasi	.832	5	.144

a. Lilliefors Significance Correction

*. This is a lower bound of the true significance.

- Uji beda

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
TPC	Equal variances assumed	1.116	.316	10.949	10	.000	1.03333	.09438	.82304	1.24363
	Equal variances not assumed			10.949	9.011	.000	1.03333	.09438	.81987	1.24680

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
MPN	Equal variances assumed	7.467	.023	5.022	9	.001	.42867	.08535	.23559	.62175
	Equal variances not assumed			4.726	5.652	.004	.42867	.09071	.20335	.65398