

F/TPG
2004
033

9/2

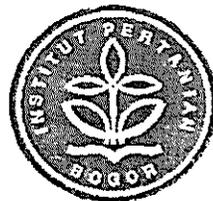
SKRIPSI

EFEKTIVITAS HIDROGEN PEROKSIDA DAN ASAM ASETAT
SEBAGAI SANITAISER DALAM MENGINAKTIVASI *SALMONELLA*
PADA TAUGE SEGAR

Oleh :

DERY WULANDARI SUHERMAN

F02499089



2004

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN
INSTITUT PERTANIAN BOGOR
BOGOR

"Sesungguhnya sesudah
kesulitan itu ada
kemudahan.

Maka apabila kamu telah
selesai (dari sesuatu
urusan), kerjakanlah
dengan sungguh-sungguh
(urusan) yang lain.

Dan hanya kepada
Tuhanmulah hendaknya
kamu berharap."

Alam Nasyrah (94) ayat 6-8

Kupersembahkan Karya Kecil ini
Untuk Mama, Papa, Nenek,
serta
Kakak dan Adik-adikku
tercinta

Dery Wulandari Suherman. F02499089. **Efektivitas Hidrogen Peroksida dan Asam Asetat Sebagai Sanitaiser dalam Menginaktivasi *Salmonella* pada Tauge Segar.** Di bawah bimbingan Ratih Dewanti-Hariyadi dan Dede R. Adawiyah. 2004.

RINGKASAN

Sayuran merupakan salah satu sumber pro-vitamin A, vitamin C, kalsium, zat besi, serat pangan serta sejumlah antioksidan yang terbukti mempunyai peranan penting bagi tubuh (Muchtadi dan Anjarsari, 1996). Namun, diketahui bahwa frekuensi isolasi bakteri yang diduga *Salmonella* pada tauge, kol, wortel dan kacang panjang relatif tinggi (Dewanti-Hariyadi, 2002). Bahkan *Salmonella* selalu ditemukan pada sampel tauge di tingkat pedagang (Susilawati, 2002), yang mengindikasikan tidak amannya bahan pangan tersebut. Untuk itu perlu dikembangkan formula sanitaiser dengan teknik aplikasi yang dapat menginaktivasi *Salmonella* secara efektif agar tauge segar aman dikonsumsi oleh konsumen.

Percobaan dilakukan dengan dua metode yaitu dengan inokulasi (Beuchat *et al.*, 1998) dan tanpa inokulasi. Percobaan dengan inokulasi dilakukan dengan menginokulasi sekitar 10^5 CFU/g inokulum *Salmonella* (*S. Typhimurium*, *S. Enteritidis*, dan *Salmonella* sp.) ke dalam tauge, yang dilanjutkan dengan memberi perlakuan sanitaiser serta menghitung jumlah *Salmonella* sebelum dan setelah perlakuan sanitaiser pada media HEA (AOAC, 1992). Percobaan lainnya dilakukan dengan memberi sanitaiser pada tauge yang tidak diinokulasi dengan *Salmonella*. Sanitaiser dengan konsentrasi, teknik aplikasi, dan waktu kontak yang terbaik dalam menginaktivkan *Salmonella* merupakan formula yang dinilai efektif untuk diterapkan. Selain itu juga dilakukan analisis kuantitatif residu hidrogen peroksida.

Bahan yang digunakan sebagai sanitaiser adalah hidrogen peroksida (H_2O_2) dan asam asetat. Formula yang diberikan ialah asam asetat 3%, H_2O_2 3%, H_2O_2 5%, H_2O_2 3% dan asam asetat 3%, serta H_2O_2 5% dan asam asetat 3%. Formula sanitaiser yang terbaik dilanjutkan dengan penggunaan teknik aplikasi perendaman dan penyemprotan dengan waktu kontak masing-masing selama 2 menit dan 5 menit.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua formula sanitaiser yang diaplikasikan dapat menurunkan jumlah *Salmonella*. Formula yang paling efektif untuk diterapkan adalah kombinasi H_2O_2 5% dan asam asetat 3%, yang dapat menurunkan *Salmonella* sebanyak $3.42 \log_{10}$ CFU/g.

Hasil penelitian juga menunjukkan bahwa teknik aplikasi dan waktu kontak yang paling efektif dalam menurunkan jumlah *Salmonella* adalah teknik perendaman dan waktu kontak 2 menit dengan besar penurunannya sebanyak $3.15 \log_{10}$ CFU/g. Dengan prosedur tersebut, total mikroba berkurang sebanyak $1.07 \log_{10}$ CFU/g.

Pada sampel tauge segar yang tidak diinokulasi ternyata tidak ditemukan *Salmonella*, sehingga tidak dilakukan analisis efektifitas formula sanitaiser dalam menginaktivkan *Salmonella* pada tauge tanpa inokulasi. Penerapan sanitaiser

tauge yang tidak diinokulasi hanya menurunkan total mikroba sebesar $1.16 \log_{10}$ CFU/g.

Hasil analisis kuantitatif H_2O_2 menunjukkan sampel tauge setelah perlakuan sanitaisier mengandung residu sekitar 0.0531% (531 ppm). Jika dibandingkan dengan aturan FDA mengenai batas maksimum residu untuk penggunaan H_2O_2 dalam sterilisasi bahan pengemas, residu H_2O_2 pada sampel tauge setelah perlakuan sanitaisier berada di atas batas maksimum yang diizinkan, oleh karena itu prosedur penerapan formula sanitaisier harus diperbaiki untuk menurunkan residu H_2O_2 .

**EFEKTIVITAS HIDROGEN PEROKSIDA DAN ASAM ASETAT
SEBAGAI SANITAISER DALAM MENGINAKTIVASI *SALMONELLA*
PADA TAUGE SEGAR**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar

SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN

Pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi

Fakultas Teknologi Pertanian

Institut Pertanian Bogor

Oleh :

DERY WULANDARI SUHERMAN

F02499089

2004

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

BOGOR

INSTITUT PERTANIAN BOGOR

FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN

EFEKTIVITAS HIDROGEN PEROKSIDA DAN ASAM ASETAT
SEBAGAI SANITAISER DALAM MENGINAKTIVASI *SALMONELLA*
PADA TAUGE SEGAR

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
SARJANA TEKNOLOGI PERTANIAN
Pada Departemen Teknologi Pangan dan Gizi
Fakultas Teknologi Pertanian
Institut Pertanian Bogor

Oleh :

DERY WULANDARI SUHERMAN

F02499089

Dilahirkan pada tanggal 20 September 1981

Di Sumedang

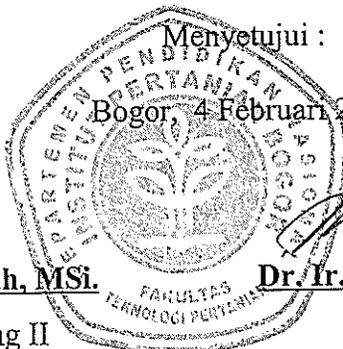
Tanggal lulus : 21 Januari 2004

Menyetujui :

Bogor, 4 Februari 2004

Ir. Dede R. Adawiyah, MSc.

Dosen Pembimbing II



Dr. Ir. Ratih Dewanti-Hariyadi, MSc.

Dosen Pembimbing I

RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Sumedang, pada tanggal 20 September 1981, dan merupakan anak kedua dari empat bersaudara. Putri dari pasangan bapak Dadang Suherman dan ibu Atty Gunarti memulai pendidikan dari TK Sejahtera Bogor (1986-1987).

Selanjutnya penulis menempuh pendidikan pada SDN Kebon Pedes III Bogor (1987-1993), SMPN 5 Bogor (1993-1996), dan SMUN 2 Bogor (1996-1999). Pada tahun 1999, penulis diterima di Institut Pertanian Bogor melalui jalur Undangan Seleksi Masuk IPB (USMI) dan terdaftar sebagai mahasiswa program studi Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian.

Selama menempuh pendidikan di Institut Pertanian Bogor, penulis pernah mengikuti kegiatan kepanitiaan seperti Pelatihan *Public Relation Plus* (2001) dan *Food Tech* (2001). Dalam rangka memenuhi syarat untuk memperoleh gelar sarjana pada Fakultas Teknologi Pertanian, penulis melakukan penelitian yang berjudul "Efektivitas Hidrogen Peroksida dan Asam Asetat sebagai Sanitaiser dalam Menginaktivasi *Salmonella* pada Tauge Segar" di bawah bimbingan Dr. Ir. Ratih Dewanti-Hariyadi, MSc. dan Ir. Dede R. Adawiyah, MSi.

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT, karena hanya dengan rahmat dan hidayah-Nyalah penulis dapat menyelesaikan penelitian hingga tersusunnya skripsi ini. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih yang tak terhingga kepada :

1. Dr. Ir. Ratih Dewanti-Hariyadi, MSc. selaku dosen pembimbing utama yang telah banyak meluangkan waktunya untuk memberi bimbingan dan pengarahan selama penulis menuntut ilmu di Departemen Teknologi Pangan dan Gizi, FATETA, IPB, hingga akhir penyusunan skripsi ini.
2. Ir. Dede R. Adawiyah, MSi. selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktunya untuk memberi bimbingan dan pengarahan selama penulis mengerjakan penelitian hingga selesainya skripsi ini.
3. Ir. C.C. Nurwitri, DAA. selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberikan saran dan masukan serta menguji penulis.
4. *Project Grant 2003 Sub Project QUE Food Technology Study Program* yang telah mendanai penelitian ini.
5. Mama dan papaku tercinta yang selalu mencurahkan kasih sayang dan memberikan dukungan baik moril maupun materil.
6. Nenekku tersayang yang selalu mendoakan penulis.
7. Teh Nita, Ani, dan Adi yang selalu memberikan dukungan dan semangat.
8. *My best friends* Anna, Yuya, Omel, Septi, Ena dan Lili yang selalu memberikan semangat dan masukan, serta berbagi cerita dan pengalaman dalam berbagai hal.
9. Teman-teman satu bimbingan dan penelitian Ane, Nani, Ika, Eci dan Intan yang selalu memberikan semangat dan bersama-sama dalam suka dukanya penelitian, serta *micro babe* lainnya Pipit, Itinx, Stella, dan Uun yang selalu berbagi ilmu dan keceriaan.
9. Pak Koko, pak Sidik, pak Mul, mbak Ari, pak Wahid, teh Ida, pak Sobirin, pak Rojak, bu Rubi, dan pak Gatot atas bantuan dan kerjasamanya.
10. Tante Tutus dan keluarga atas dukungan dan bantuannya.

11. Teman-temanku Idew, Fanie, Ima, Isqiray, Evit, Dety, Tyas, Enik, Yuni, Ulil, Ida, Yoan, Wini, Ria, Ate, Kiki Y, Gina, Minah, Anis, Mimi, dan Tiwi yang selalu berbagi pengalaman, masukan, dan keceriaan.
12. Teman-teman satu kelompok praktikum Ima, Doni, dan Niko yang pernah bersama-sama dalam satu perjuangan serta atas pinjaman bukunya untuk Ima.
13. Teman-teman TPG '36 lainnya yang telah bersama-sama menempuh pendidikan di Teknologi Pangan dan Gizi selama 4 tahun.
14. Gembit, Kiki, Kheri, Pungki, Niko, Doni, Imam, dan Putra atas bantuannya selama di Labkom.
15. Tim INTRO atas kue-kuenya yang lezat.
16. Mas Adi dan mbak Novi atas bantuannya.
17. Seluruh pihak yang tidak dapat disebutkan satu-persatu, yang telah membantu penulis dalam menempuh pendidikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangannya. Oleh karena itu, saran dan kritik yang sifatnya membangun sangat penulis harapkan. Akhir kata, semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi yang memerlukannya.

Bogor, Januari 2004

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
KATA PENGANTAR.....	iii
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
I. PENDAHULUAN	1
II. TINJAUAN PUSTAKA	
A. TAUGE.....	3
B. MUTU MIKROBIOLOGI SAYURAN	4
C. <i>SALMONELLA</i>	5
D. SANITAISER.....	7
1. Hidrogen Peroksida	8
2. Asam Asetat.....	10
III. METODOLOGI PENELITIAN	
A. BAHAN DAN ALAT	14
B. METODE PENELITIAN.....	15
1. PERCOBAAN DENGAN INOKULASI	16
2. PERCOBAAN TANPA INOKULASI	19
C. PROSEDUR EVALUASI EFEKTIVITAS SANITAISER	
1. Analisis Kuantitatif Total Mikroba.....	20
2. Analisis Kuantitatif <i>Salmonella</i>	20
3. Analisis Kualitatif <i>Salmonella</i> (Uji Lengkap)	21
4. Identifikasi <i>Salmonella</i> pada Sampel.....	25
D. METODE ANALISIS KUANTITATIF RESIDU H ₂ O ₂	25
IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. PEMERIKSAAN KEMURNIAN DAN KONFIRMASI	
KULTUR <i>SALMONELLA</i>	26
B. KURVA PERTUMBUHAN	27
C. EFEKTIFITAS BEBERAPA FORMULA SANITAISER	
DALAM MENGINAKTIVASI <i>SALMONELLA</i>	29

D. EFEKTIVITAS TEKNIK APLIKASI DAN WAKTU KONTAK SANITAISER TERBAIK.....	32
1. Jumlah <i>Salmonella</i>	33
2. Total Mikroba.....	34
E. EFEKTIFITAS SANITAISER TERHADAP <i>SALMONELLA</i> PADA TAUGE SEGAR TANPA INOKULASI.....	36
F. ANALISIS KUANTITATIF RESIDU H ₂ O ₂	39
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
A. KESIMPULAN.....	42
B. SARAN.....	43
DAFTAR PUSTAKA.....	44
LAMPIRAN	48

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Efektivitas antimikroba asam asetat	9
Tabel 2. Perlakuan kombinasi formula sanitaiser	19
Tabel 3. Koloni tipikal <i>Salmonella</i> pada beberapa media	23
Tabel 4. Reaksi biokimia pada <i>Salmonella</i>	24
Tabel 5. Hasil pemeriksaan kemurnian kultur <i>Salmonella</i>	26
Tabel 6. Hasil uji konfirmasi kultur <i>Salmonella</i>	27
Tabel 7. Hasil pengukuran pH dan penurunan jumlah <i>Salmonella</i> dengan beberapa formula sanitaiser	32
Tabel 8. Hasil penurunan jumlah <i>Salmonella</i> dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak	34
Tabel 9. Hasil penurunan total mikroba dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak	36
Tabel 10. Hasil penurunan total mikroba pada tauge tanpa inokulasi	39
Tabel 11. Hasil analisis kuantitatif residu H ₂ O ₂	41

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Penampakan tauge kacang hijau (<i>Sprouts</i>).....	3
Gambar 2. Tahap-tahap penelitian	15
Gambar 3. Diagram uji kualitatif <i>Salmonella</i>	22
Gambar 4. Kurva pertumbuhan <i>S. Typhimurium</i>	28
Gambar 5. Kurva pertumbuhan <i>S. Enteritidis</i>	29
Gambar 6. Kurva pertumbuhan <i>Salmonella</i> sp.	29
Gambar 7. Pengaruh perlakuan sanitaiser terhadap jumlah <i>Salmonella</i>	31
Gambar 8. Pengaruh teknik aplikasi dan waktu kontak terhadap jumlah <i>Salmonella</i>	33
Gambar 9. Pengaruh teknik aplikasi dan waktu kontak terhadap total . mikroba.....	35
Gambar 10. Hasil identifikasi <i>Salmonella</i> dengan API 20E.....	37
Gambar 11. Total mikroba pada tauge tanpa inokulasi.....	39

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Reaksi biokimia berbagai jenis bakteri pada media <i>Triple Sugar Iron Agar</i> (TSIA)	49
Lampiran 2. Reaksi biokimia berbagai jenis bakteri pada media <i>Lysine Iron Agar</i> (LIA)	50
Lampiran 3. Cara analisis kuantitatif H_2O_2	51
Lampiran 4. Hasil perhitungan penetapan fase pertumbuhan <i>Salmonella</i>	53
Lampiran 5. Hasil perhitungan jumlah <i>Salmonella</i> dan penurunannya dengan perlakuan beberapa formula sanitaiser.....	54
Lampiran 6. Hasil perhitungan jumlah <i>Salmonella</i> dan penurunannya dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak.....	55
Lampiran 7. Hasil perhitungan total mikroba dan penurunannya dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak.....	56
Lampiran 8. Hasil perhitungan total mikroba pada tauge tanpa inokulasi	57
Lampiran 9. Hasil standarisasi $KMnO_4$	58
Lampiran 10. Cara perhitungan standarisasi $KMnO_4$	59
Lampiran 11. Hasil analisis kuantitatif residu H_2O_2	60
Lampiran 12. Cara perhitungan analisis kuantitatif residu H_2O_2	61

I. PENDAHULUAN

A. LATAR BELAKANG

Sayuran merupakan salah satu sumber pro-vitamin A, vitamin C, kalsium, dan zat besi, serta menyumbangkan sedikit kalori dan sejumlah elemen mikro. Sayuran juga merupakan sumber serat pangan serta sejumlah antioksidan yang telah terbukti mempunyai peranan penting bagi tubuh (Muchtadi dan Anjarsari, 1996).

Laporan penelitian Isyanti (2001) menunjukkan bahwa sayur segar seperti kemangi, daun poh-pohan, tauge, selada, kacang panjang, dan kol yang dikumpulkan di tingkat petani maupun pedagang di Bogor mengandung mikroba dalam jumlah yang tinggi. Sayuran segar diketahui sebagai sumber penyebaran mikroba patogen penyebab penyakit. Namun, dokumentasi tentang kasus *food borne illness* yang berhubungan dengan konsumsi sayuran segar baik di negara-negara maju maupun sedang berkembang relatif masih sedikit.

Salmonella merupakan salah satu bakteri indikator keamanan yang penting. Frekuensi isolasi bakteri yang diduga *Salmonella* dilaporkan relatif tinggi pada tauge, kol, wortel, dan kacang panjang (Dewanti-Hariyadi, 2002). Di Indonesia, produk segar seperti buah dan sayuran kemungkinan besar terkontaminasi oleh *Salmonella*, yang mungkin disebabkan oleh air pencucian yang tidak memenuhi syarat atau penanganan pasca panen yang kurang baik.

Susilawati (2002) menunjukkan bahwa keamanan mikrobiologi maupun kimiawi beberapa sayur di Bogor dan sekitarnya baik di tingkat petani maupun pedagang tidak memenuhi standar. Berdasarkan survei yang dilakukan diketahui penyiraman dan pencucian tauge dilakukan dengan menggunakan air kali. Penelitiannya juga menunjukkan bahwa *Salmonella* ditemukan pada 3 sampel dari 4 sampel yang dianalisis pada tauge di tingkat petani sedangkan *Salmonella* selalu ditemukan pada sampel tauge di tingkat pedagang. Hal tersebut yang mendasari pemilihan sampel tauge pada penelitian ini.

Akibat yang ditimbulkan oleh *Salmonella* dapat berdampak fatal terhadap manusia jika tertelan dan masuk ke dalam tubuh, maka dinilai perlunya formula dan penerapan sanitaisir terhadap sayur segar siap santap agar dapat menginaktifkan *Salmonella* yang terkandung di dalamnya. Formula dan penerapan sanitaisir perlu dikembangkan dalam menangani bakteri indikator keamanan tersebut secara efektif sehingga keracunan makanan yang berasal dari sayuran segar dapat ditekan seminimum mungkin.

B. TUJUAN

Tujuan penelitian ini adalah :

1. Untuk mempelajari dan mengevaluasi efektifitas beberapa formula sanitaisir H₂O₂ dan asam asetat terhadap *Salmonella*.
2. Untuk menghasilkan formula sanitaisir yang efektif dalam menginaktifkan atau menurunkan jumlah *Salmonella*, yang dapat diterapkan pada tauge segar siap santap untuk menjamin keamanannya
3. Untuk mengetahui teknik aplikasi dan waktu kontak sanitaisir terbaik dalam menginaktifkan atau menurunkan jumlah *Salmonella*.
4. Untuk mengetahui besarnya residu H₂O₂ pada sampel tauge setelah perlakuan sanitaisir.

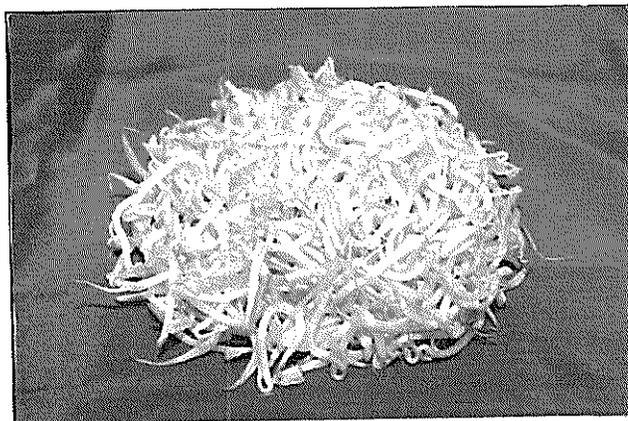
II. TINJAUAN PUSTAKA

A. TAUGE

Tauge dapat dihidangkan dalam bentuk segar misalnya lalapan, dan dapat pula dalam bentuk yang sudah dimasak lebih dahulu misalnya campuran sayur tahu dan gado-gado. Beberapa jenis sayuran yang disajikan sebagai lalapan mentah diantaranya adalah daun selada, daun kubis, daun kemangi, daun poh-pohan, dan tauge kacang yang biasanya disajikan bersama dengan sambal.

Di pasaran terdapat berbagai jenis tauge, yaitu tauge kedelai yang dibuat dari kacang kedelai, tauge kulup (tauge lalap) dan tauge pendek yang dibuat dari kacang hijau. Tauge dibuat dengan cara merendam biji selama satu malam, ditiriskan selama beberapa hari, direndam kembali selama satu hari satu malam kemudian ditiriskan dalam suatu wadah berlubang, ditutup rapat, dan dibiarkan selama beberapa hari tergantung jenis tauge yang akan dibuat (Novary, 1999).

Tauge sebagai bahan pangan mempunyai keuntungan yaitu mudah diproduksi dan tidak mengenal musim (Imrie, 1991). Penampakan tauge kacang hijau dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Penampakan tauge kacang hijau (*Sprouts*)

Kecambah kacang hijau atau tauge berasal dari kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) Wilczek, atau *Phaseolus aureus* Roxb. atau *P. Radiatus* L.) yang dikecambahkan (Kay, 1979). Tauge secara luas dikonsumsi terutama di Asia Tenggara dan Afrika Timur sebagai sayuran yang bernilai gizi tinggi (Novary, 1999). Kandungan kadar air, protein, lemak, dan karbohidrat pada tauge (kacang hijau) dalam % bb berturut-turut yaitu 92.4, 2.90, 0.20, dan 4.10 (Direktorat Gizi, Depkes RI, 1979).

B. MUTU MIKROBIOLOGI SAYURAN

Berdasarkan survei Susilawati (2002), penyiraman dan pencucian tauge dilakukan dengan menggunakan air kali. Kontaminan mikroorganisme patogen pada sayuran segar dapat berasal dari (Beuchat dan Ryu, 1997) :

- a. Pra-panen, yaitu kotoran (feses), tanah, air irigasi, pupuk dari kotoran hewan, udara (debu), hewan (unggas, reptilia, insekta), dan manusia.
- b. Pasca panen, yaitu feses, manusia (pekerja, konsumen), wadah, hewan, udara, air dan air buangan, cara penanganan (sortasi, pemotongan), peralatan proses, es, peralatan transportasi, penyimpanan (suhu, keadaan lingkungan), pengemasan yang tidak sesuai, dan adanya kontaminasi silang.

Mikroorganisme pada sayuran umumnya adalah dari spesies bakteri gram negatif (Lund *et al.*, 2000). Bakteri tersebut antara lain *Pseudomonas*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Flavobacterium* spp., *Xanthomonas* spp., *Chromobacterium* spp., dan *Alcaligenes* spp. Bakteri ini terdapat pada sayuran terutama brokoli, kol, andewi, tauge, dan wortel. Di Amerika Serikat, patogen yang menjadi perhatian utama pada buah dan sayuran segar adalah *Salmonella*, *Shigella*, virus gastroenteral, *Entamoeba histolytica*, dan *Ascaris* spp. (Ayres *et al.*, 1980). Sayur segar apabila tercemar oleh mikroba dalam jumlah yang cukup tinggi maka sayuran tersebut tidak aman untuk dikonsumsi.

Laporan mengenai Salmonellosis pada manusia yang disebabkan oleh konsumsi *cantalope* (sejenis melon) (Ries *et al.*, 1990 di dalam Beuchat,

1998) dan tauge biji *alfalfa* (Mahon *et al.*, 1990 di dalam Beuchat, 1998) yang diimpor dari Amerika Serikat. Selain itu, kasus Salmonellosis juga terjadi pada tahun 1994 di Swedia (282 kasus) dan Finlandia (210 kasus) akibat konsumsi *sprouts* (tauge). Tahun 1995 kasus Salmonellosis di Oregon dan British Columbia karena konsumsi tauge *alfalfa* yang disebabkan oleh *Salmonella newport*, serta di Finlandia dan Amerika Serikat disebabkan oleh *Salmonella stanley* (Beuchat, 1998)

Konsumsi tauge menyebabkan kasus Salmonellosis pada tahun 1994 di Swedia dan Finlandia (Lund *et al.*, 2000). Tahun 1998, *S. havana* dan *S. cubana* menyebabkan kasus keracunan di Arizona dan California karena konsumsi tauge alfalfa (Lang *et al.*, 2000). Tahun 1999, kasus keracunan terjadi karena *Salmonella* Mbandaka yang terdapat pada tauge (Suslow *et al.*, 2002). Dokumentasi kasus yang besar (*outbreaks*) oleh patogen di dalam bahan pangan di negara-negara berkembang, termasuk Indonesia dapat dikatakan masih belum atau jarang dilakukan (Isyanti, 2001).

Standar mutu mikrobiologi meliputi total mikroba (TPC) dan mikroba patogen yaitu *E. coli*, *Salmonella*, dan *Listeria monocytogenes*. ICMSF (*International Commission on Microbiological Specification for Foods*) (1996) merekomendasikan sayuran yang akan dimakan mentah mengandung *E. coli* kurang dari 10^3 CFU per gram dan *Salmonella* harus tidak ada dalam 25 g sampel. Standar TPC sayuran yang akan dimakan mentah adalah $n=5$, $c=3$, $m=10^5$ dan $M=10^6$, artinya maksimal 3 sampel dari 5 sampel yang dianalisis boleh mengandung total mikroba 10^5 - 10^6 CFU/g. Di Indonesia Ditjen POM (1989), mensyaratkan bahwa sayuran yang dimakan mentah maksimum mengandung *E. coli* dalam 10^2 CFU per gram dan tidak mengandung *Salmonella*.

C. SALMONELLA

Salmonella merupakan salah satu genus dari Enterobacteriaceae, berbentuk batang, gram negatif, anaerobik fakultatif, dan aerogenik (Supardi dan Sukanto, 1999). Biasanya bersifat motil dan mempunyai flagella

peritrikus kecuali *S. gallinarum-pullorum* yang selalu bersifat non motil. *Salmonella* dapat memproduksi H₂S dan asam dari glukosa, maltosa, manitol, sorbitol, dan sitrat tetapi tidak memfermentasi salisin, sukrosa, dan laktosa (Hayes, 1995). Ia juga mengemukakan bahwa *Salmonella* tidak membentuk spora dan mempunyai ukuran sekitar 1-2 µm. Biasanya bersifat katalase positif, oksidase negatif, dan mengubah nitrat menjadi nitrit (Roberts, 1996).

Bakteri ini dapat tumbuh pada suhu antara 5-47°C, dengan suhu optimum 35-37°C. Di samping itu, *Salmonella* dapat tumbuh pada pH 4.1-9.0, dengan pH optimum 6.5-7.5. Nilai pH minimum tergantung kepada serotipe, suhu inkubasi, komposisi medium, a_w dan jumlah sel. Pada pH di bawah 4.0 dan di atas 9.0, *Salmonella* akan mati secara perlahan. *Salmonella* pada umumnya dapat tumbuh pada medium dengan a_w 0.945-0.999. Pada a_w 0.2-0.9 tingkat kematian akan naik dengan naiknya a_w (Supardi dan Sukamto, 1999).

Salmonella mungkin terdapat pada makanan dalam jumlah tinggi, tetapi tidak selalu menimbulkan perubahan dalam hal warna, bau, maupun rasa dari makanan tersebut. Semakin tinggi jumlah *Salmonella* di dalam makanan, semakin besar timbulnya gejala infeksi pada orang yang menelan makanan tersebut, dan semakin cepat waktu inkubasi sampai timbulnya gejala infeksi (Supardi dan Sukamto, 1999).

Penyakit yang tidak disebabkan oleh produk-produk bakteri seperti toksin, tapi terinfeksi mikroorganisme seperti bakteri, rickettsia, virus, atau parasit disebut dengan infeksi pangan (*food infections*) (Marriot, 1999). Jika tertelan dan masuk ke dalam tubuh akan menimbulkan gejala yang disebut salmonellosis. Salmonellosis merupakan suatu infeksi pangan karena masuknya suatu spesies hidup organisme *Salmonella* (Marriot, 1999). Infeksi *Salmonella* dimulai setelah mengkonsumsi pangan atau air yang terkontaminasi (Cary *et al.*, 2000)

Salmonellosis adalah suatu infeksi yang kadang-kadang fatal, terutama menyerang bayi atau hewan-hewan muda yang kurang dari satu tahun. Gejala salmonellosis paling umum terjadi karena kontaminasi *Salmonella* sp. yang menyerang saluran gastrointestinal (perut, usus halus dan usus besar/kolon).

Terjadinya sakit perut yang mendadak membedakan gejala ini dengan penyakit lain seperti desentri basilar maupun amuba (Pelczar dan Chan, 1988). Gejala salmonellosis yang paling sering terjadi adalah gastroenteritis. Selain gastroenteritis, beberapa spesies *Salmonella* juga dapat menimbulkan gejala penyakit lainnya misalnya demam enterik seperti demam tifoid dan demam paratifoid, serta infeksi lokal. Beberapa spesies *Salmonella* yang dapat menyebabkan infeksi makanan ialah *S. enteritidis* var. Typhimurium dan varietas-varietas lain serta *S. choleraesuis* (Supardi dan Sukanto, 1999).

Mikroorganisme ini tumbuh dan memproduksi endotoksin yang dapat menyebabkan penyakit (Marriot, 1999). Walaupun *Salmonella* dapat hidup di jaringan skeletal, sumber utama infeksi berasal dari kontaminasi pangan melalui penanganan pengolahan baik kontaminasi balik maupun kontaminasi silang (Marriot, 1999).

D. SANITAISER

Senyawa antimikroba dapat dibedakan atas beberapa kelompok berdasarkan mekanismenya atau tujuan penggunaannya, misalnya desinfektan, antiseptik, sterilizer, sanitaiser, dan sebagainya (Fardiaz *et al.*, 1988). Sanitaiser adalah komponen yang dapat mengurangi mikroba kontaminan sampai batas aman yang ditentukan oleh standar kesehatan masyarakat. Suatu bahan yang mengurangi populasi mikroba sampai pada batas yang dianggap aman menurut kesehatan masyarakat disebut bahan sanitasi (Pelczar dan Chan, 1988). Biasanya merupakan bahan kimia yang mematikan 99.9% bakteri yang sedang tumbuh. Efektifitas sanitaiser terutama sanitaiser kimia dipengaruhi oleh faktor fisik kimia seperti waktu kontak, temperatur, konsentrasi, pH, kebersihan peralatan, kesadahan air, dan serangan bakteri (Marriot, 1999).

Tujuan penggunaan sanitaiser ialah untuk mereduksi jumlah mikroorganisme patogen dan perusak di dalam proses pengolahan pangan serta pada fasilitas dan perlengkapan makanan. Faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas penggunaan sanitaiser adalah waktu kontak, suhu,

konsentrasi sanitaiser, pH, kesadahan air, jumlah dan jenis mikroba (Beuchat *et al.*, 2001).

Mikroorganisme dapat disingkirkan, dihambat, atau dibunuh dengan sarana atau proses fisik atau proses kimia. Bahan kimia adalah suatu substansi (padat, cair atau gas) yang dicirikan oleh komposisi molekuler yang pasti dan menyebabkan terjadinya reaksi, contohnya ialah senyawa-senyawa fenolik, alkohol, klor, iodium, dan etilen oksida (Pelczar dan Chan, 1988).

Suatu bahan yang mengurangi populasi mikroba sampai pada batas yang dianggap aman menurut persyaratan kesehatan disebut bahan sanitasi. Biasanya merupakan bahan kimia yang mematikan 99.9% bakteri yang sedang tumbuh (Pelczar dan Chan, 1988).

1. Hidrogen peroksida (H₂O₂)

Peroksida dibagi menjadi 2 grup dasar yaitu senyawa anorganik dan organik. Peroksida anorganik mencakup hidrogen peroksida, persulfat, perborat, percarbonat, sodium peroksida dan sejumlah produk tambahan hidrogen peroksida. Peroksida organik meliputi asam peroksiasetat (PAA) dan asam peroksi lain, peroksida *cumene*, hidroperoksida, peroksida diasil, dan peroksiester. Senyawa H₂O₂ merupakan agen oksidasi yang kuat (Davidson dan Branen, 1993).

Menurut Brock (1983), H₂O₂ murni sangat stabil. Larutan ini dapat larut dalam air dan alkohol serta mudah didekomposisi menjadi air dan oksigen apabila disimpan pada suhu yang terlalu tinggi atau di bawah cahaya, sehingga untuk mempertahankan sifat-sifat ini, H₂O₂ sebaiknya disimpan pada kondisi yang dingin dan lembab.

Senyawa H₂O₂ dalam bentuk murni berupa cairan yang tidak berwarna. Bahan ini membeku pada suhu 0.9°C dan mendidih pada 151°C. Sifat kimianya pada bentuk murni atau dalam larutan yang mengandung air dicirikan oleh kecenderungannya untuk mengurai menjadi air dengan membebaskan oksigen yang merupakan reaksi eksoterm dengan reaksi : $2 \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 2 \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$, yang melepaskan energi sebesar 2

x 23.45 kal. Alasan bagi manfaat dan peningkatan popularitas H_2O_2 dalam bidang pangan, kosmetik dan obat-obatan adalah toksisitas yang rendah pada penggunaannya, juga hasil dekomposisi yang aman menjadi oksigen dan air (Davidson dan Branen, 1993). Asam oksalat dan H_2O_2 dikenal secara umum sebagai bahan kimia yang aman untuk digunakan dalam bahan pangan (Lin *et al.*, 2002).

Menurut Brock *et al.* (1984), sebagai antimikroba H_2O_2 tidak bertindak sebagai molekulnya tetapi dengan menghasilkan produk yang sangat reaktif seperti oksigen tunggal ataupun oksigen superoksida ($O_2\cdot$). Superoksida merupakan bentuk energi dari oksigen yang lebih tinggi dan bersifat toksik terhadap mikroorganisme hidup. Mekanisme penghambatan yang terjadi diakibatkan oleh reaksi H_2O_2 dengan komponen-komponen lain menghasilkan senyawa-senyawa penghambat. Superoksida dihasilkan secara kimia dan biokimia yang spontan melalui sistem enzim spesifik. Garbutt (1997) menjelaskan bahwa pembawa elektron di dalam sel akan mentransfer elektron kepada oksigen sehingga terbentuk $O_2\cdot$ dan H_2O_2 . Kedua produk ini merupakan agen pengoksidasi yang kuat yang dapat mengoksidasi komponen penting dalam sel seperti fosfolipid dalam membran sel yang menyebabkan sel rusak dan mati.

Senyawa H_2O_2 lebih efektif melawan bakteri anaerob karena tidak memproduksi enzim katalase yang mampu menghancurkan peroksida. Demikian halnya aktivitas H_2O_2 secara umum lebih nyata melawan bakteri Gram negatif dibandingkan bakteri Gram positif (Turner, 1983). Aktivitas antimikroba H_2O_2 dipengaruhi oleh berbagai kondisi baik fisik maupun kimia seperti konsentrasi, pH, suhu, dan ada/tidaknya kontaminan yang secara umum membantu penentuan keoptimalan daya germisidal H_2O_2 .

Berdasarkan hasil studi Baldry (1983), H_2O_2 mampu menghambat pertumbuhan bakteri pada konsentrasi 25 ppm dan mampu menghancurkan spora pada konsentrasi 30.000 ppm selama 3 jam untuk pH pada suhu kamar. Ia juga menunjukkan hasil studinya mengenai pengaruh pH terhadap aktifitas penghambatan dari H_2O_2 pada beberapa mikroba uji. Konsentrasi 5 ppm H_2O_2 telah mampu menghambat

pertumbuhan *P. aeruginosa* pada pH 5, namun pada pH 6.7 dibutuhkan 10 ppm dan 50 ppm pada pH 8 (alkali).

Penggunaan 5% H₂O₂ mampu menurunkan jumlah *Salmonella* pada buah *cantaloupe* potongan (Ukuku dan Sapers, 2001). Sapers dan Simmons (1998) mengatakan bahwa penggunaan larutan H₂O₂ telah dilakukan dalam proses pencucian jamur, buah dan sayuran. Keefektifan perlakuan pencucian dengan larutan H₂O₂ telah terbukti untuk jamur sebagai alternatif desinfeksi selain klorin.

Furia (1980) menyatakan bahwa pemakaian H₂O₂ sebagai bahan pemutih sudah tercantum dalam GRAS (*Generally Recognized As Safe*) yang berarti sudah dinyatakan aman untuk digunakan dalam bahan pangan sebagai agen pemutih, senyawa pengoksidasi atau pereduksi dan senyawa antimikroba, namun penggunaannya dibatasi karena residu harus hilang dari produk. Residu H₂O₂ dapat dihilangkan dengan cara antara lain pencucian dengan air, penggunaan enzim katalase, penggunaan natrium sulfit (Na₂SO₃) dan kombinasi antara perlakuan tersebut (Young *et al.*, 1982).

Davidson dan Branen (1993) menyebutkan H₂O₂ pada konsentrasi 30% sampai 50% digunakan untuk sterilisasi peralatan dan kontainer dalam pengemasan aseptik. Secara komersial H₂O₂ 3% stabil dan merupakan desinfektan efektif saat digunakan pada permukaan bebas inert dalam menginaktivasi katalase (Brock, 1983).

2. Asam asetat

Asam-asam organik dikenal akan kemampuannya sebagai senyawa bakterisidal dan bakteriostatik. Asam-asam organik seperti asam asetat, asam peroksi asetat, asam laktat, asam propionat dan asam format paling sering digunakan (Marriot, 1999). Asam asetat adalah cairan tidak berwarna yang berbentuk padat pada suhu 62°F dan larut di dalam air, alkohol dan gliserin.

Dalam studi perbandingan beberapa asam, asam asetat dipilih untuk keperluan sebagai antimikroba. Menurut Gould (1995), telah menguji 13 asam sebagai inhibitor terhadap *Salmonella*, dan merekomendasikan asam asetat dan asam propionat sebagai yang paling efektif menghambat pertumbuhan *Salmonella*. Pada saat *equimolar*, asam organik (asam lemah) mempunyai aktivitas antimikroba yang lebih besar dibandingkan asam-asam anorganik yang kuat (Naidu, 2000).

Asam asetat lebih letal dibandingkan asam laktat terhadap *Salmonella* sp. Asam asetat menghambat *E. coli* O157:H7 lebih baik dibandingkan asam laktat, asam malat, atau asam sitrat (Marshall *et al.*, 2000).

Aktivitas antimikroba asam asetat akan meningkat dengan menurunnya pH, dan berbeda-beda terhadap berbagai mikroorganisme. Secara umum disebutkan bahwa aktivitas antimikroba asam asetat tergantung pada waktu kontak, temperatur, jenis asam, konsentrasi asam, tingkat disosiasi, dan pH (Naidu, 2000). Mikroorganisme yang terdapat pada bahan pangan dengan pH asam dapat dibasmi pada temperatur yang lebih rendah dan dalam waktu yang lebih singkat dibandingkan dengan mikroorganisme yang sama di dalam lingkungan basa (Pelczar dan Chan, 1988). Efektifitas antimikroba asam asetat ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Efektifitas antimikroba asam asetat^{*)}

Organisme	pH penghambatan	pH lethal
<i>Salmonella aertrycke</i>	4.9	4.5
<i>Staphylococcus aureus</i>	5.0	4.9
<i>Phytomonas phaseoli</i>	5.2	5.2
<i>Bacillus cereus</i>	4.9	4.9
<i>Bacillus mesentericus</i>	4.9	4.9
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3.9	3.9
<i>Aspergillus niger</i>	4.1	3.9

^{*)}Chichester dan Tanner (1972)

Keuntungan menggunakan asam asetat dan asetat lainnya yaitu harga yang relatif murah, status GRAS, dan toksisitas relatif rendah. Masalah yang potensial dalam menggunakan asam asetat sebagai

ingredient adalah dapat menyebabkan terurainya bahan-bahan pengemas (Naidu, 2000).

Asam asetat dan garam-garamnya merupakan senyawa antimikroba yang aktif menghambat bakteri dan khamir pada pH rendah sampai dengan pH 4.5 (Fardiaz *et al.*, 1988). Secara umum, penggunaan konsentrasi asam (1-3%) merupakan cara yang efektif dalam menghambat bakteri-bakteri patogen seperti *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, dan efektif pula dalam menghambat *Salmonella* (Smulders, 1995). Dikarenakan khamir dan kapang dapat tumbuh pada pH rendah maka mereka lebih tahan terhadap asam asetat dibandingkan bakteri (Naidu, 2000).

Spesies *Bacillus*, *Salmonella*, dan *Staphylococcus* dihambat dengan asam asetat pada konsentrasi yang lebih rendah dibandingkan *Saccharomyces* dan *Aspergillus*. Asam asetat diduga lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan khamir dan bakteri dibandingkan dengan kapang (Davidson dan Branen, 1983). *Bacillus* dan bakteri Gram negatif lebih dihambat dibandingkan dengan bakteri asam laktat, khamir, kapang, *Clostridium*, dan bakteri Gram negatif (Davidson dan Branen, 1993).

Sel mikroba jika berada pada kondisi pH yang ekstrem, membran sel menjadi rusak sehingga ion H^+ dan OH^- dapat masuk ke dalam sel, enzim dan molekul asam nukleat terdenaturasi yang menyebabkan kematian sel. Asam organik lemah berbeda dengan asam anorganik kuat dalam hal mempengaruhi sel mikroba. Asam organik lemah terurai sebagai berikut : $R-COOH \leftrightarrow RCOO^- + H^+$ (Garbutt, 1997). Dengan demikian, asam asetat juga akan terurai menjadi : $CH_3COOH \leftrightarrow CH_3COO^- + H^+$.

Garbutt (1997) menjelaskan bahwa tingkat disosiasi (penguraian) tergantung pada pH lingkungan. Dalam larutan asam dimana banyak ion H^+ terdisosiasi, kesetimbangan akan bergerak ke arah yang tidak terdisosiasi. Bentuk yang tidak terdisosiasi mempunyai sifat larut lemak (lipofilik) sehingga dapat bergerak masuk ke dalam membran sel, sedangkan ion-ion yang terdisosiasi tidak dapat masuk. Di dalam sel (pH internal mendekati 7), bentuk yang tidak terdisosiasi mengurai pada

kondisi netral. Sel akan memompa ion H^+ keluar dari sel, pH dalam sel menurun, aktivitas enzim dan asam nukleat terganggu yang mengakibatkan sel mati.

Aplikasi asam sebagai sanitaiser dapat dengan cara penyemprotan, pencelupan, dan perendaman. Pencelupan dengan asam memungkinkan terjadinya perubahan kemampuan bakteri untuk menempel pada karkas. Hal ini memungkinkan penyemprotan asam juga berguna untuk melawan keberadaan mikroorganisme. Asam organik juga efektif melawan keberadaan mikroorganisme dengan cara perendaman karena dengan prosedur ini, asam akan lebih mudah mencapai semua lokasi.

Perlakuan penyemprotan yang terdiri dari 1% asam asetat, dikombinasikan dengan 3% H_2O_2 dan 1% natrium bikarbonat dapat mengurangi jumlah *E. coli*, *Listeria innocua* dan *Salmonella wenworth* 3 log lebih banyak dibandingkan dengan sampel yang tidak disemprot (Marshall *et al.*, 2000). Penyemprotan 2% asam asetat lebih baik jika dilakukan dengan 0.003% klorin, 5% hidrogen peroksida atau 12% trisodium fosfat dalam mengurangi jumlah total mikroba aerobik pada karkas *lamb* (Marshall *et al.*, 2000).

Patogen yang terdapat pada daging seperti *Yersinia enterocolitica*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Campylobacter jejuni*, dan *Staphylococcus aureus* lebih resisten terhadap asam asetat dibandingkan yang berspora seperti *Pseudomonas fragi* dan *Brochotrix thermosphacia* (Marshall *et al.*, 2000). Peningkatan temperatur larutan sampai 70°C dilakukan untuk mengurangi jumlah total mikroba aerobik, *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, dan *Salmonella* walaupun dengan konsentrasi asam asetat yang rendah (1%) (Marshall *et al.*, 2000). Menurut Davidson dan Branen (1993) data toksikologi tidak tersedia untuk kalsium asetat, natrium diasetat atau asam perasetat, sehingga diasumsikan bahwa turunan ini diasimilsi dengan cara yang sama untuk asam asetat.

III. METODOLOGI PENELITIAN

A. BAHAN DAN ALAT

1. Bahan

Bahan baku yang digunakan adalah tauge segar. Selain itu juga digunakan tiga kultur *Salmonella* yaitu *Salmonella enterica* serotype Typhimurium (*Salmonella* Typhimurium), *Salmonella enterica* serotype Enteritidis (*Salmonella* Enteritidis), dan *Salmonella enterica* serotype sp. (*Salmonella* sp.) yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Hewan-IPB. Bahan lainnya yaitu plastik tahan panas ukuran besar dan kecil.

Bahan kimia yang digunakan adalah asam asetat 98% dan hidrogen peroksida 50% (untuk membuat formula sanitaiser) yang diperoleh dari toko bahan kimia "Setia Guna", kalium permanganat, natrium oksalat, asam sulfat, larutan buffer fosfat, alkohol 70%, spiritus, pewarna violet kristal, larutan lugol, alkohol 95%, pewarna safranin, minyak imersi, dan akuades.

2. Media

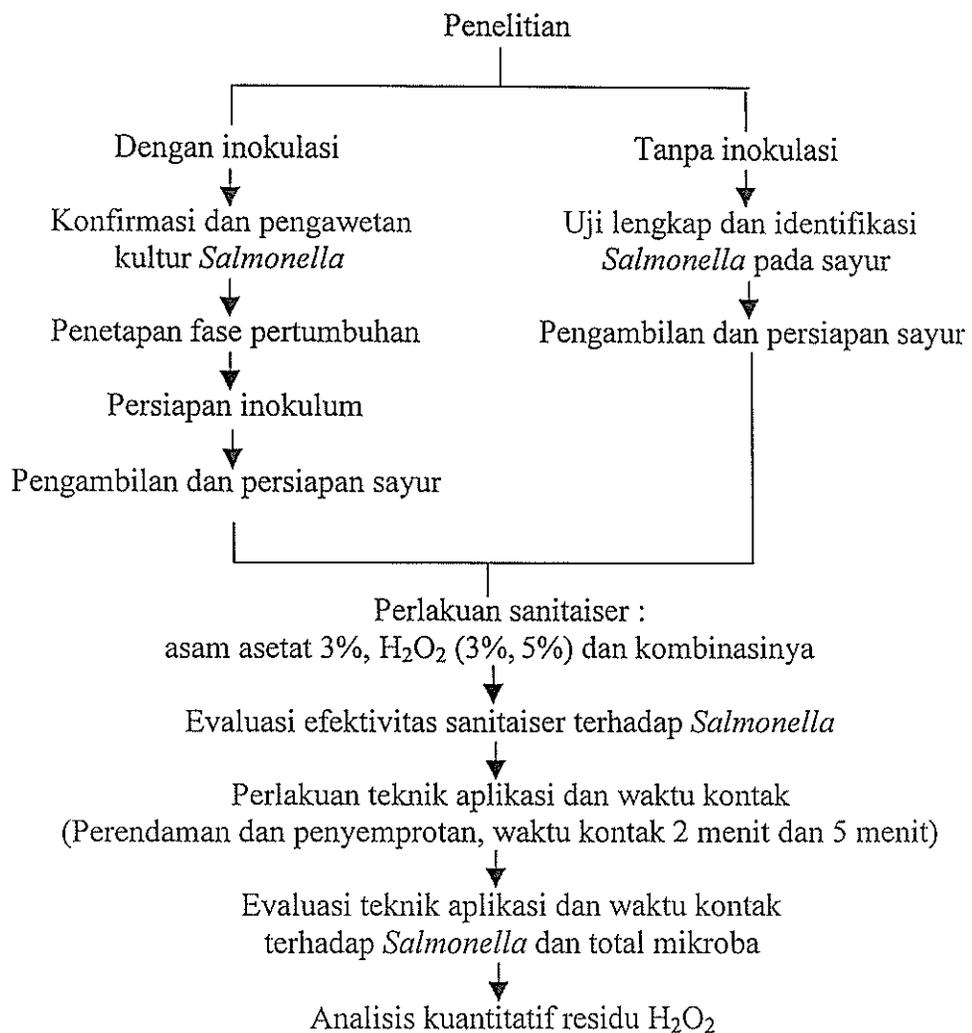
Media-media yang dipakai ialah *Nutrient Agar* (NA) untuk perbanyakan dan perbaharuan kultur, *Nutrient Broth* (NB) untuk penyegaran kultur, *Plate Count Agar* (PCA) untuk uji kuantitatif total mikroba, *Selenite Cystine Broth* (SCB), *Lactose Broth* (LB), *Hektoen Enteric Agar* (HEA), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (XLDA), *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA), *Lysine Iron Agar* (LIA), dan perangkat identifikasi API 20E yang berasal dari *BioMerieux Industry* untuk uji kualitatif *Salmonella* pada tauge tanpa inokulasi.

3. Alat

Peralatan yang digunakan adalah wadah baskom, mikropipet, stomaker, tabung reaksi, erlenmeyer, labu takar, cawan petri, gelas piala, gelas ukur, rak tabung reaksi, otoklaf, oven, sentrifuse berpendingin, *hotplate*, bunsen, inkubator 37°C, mikroskop, oven, ose, tips, pinset, dan botol semprot.

B. METODE PENELITIAN

Penelitian secara garis besar dilakukan seperti pada Gambar 2.



Gambar 2. Tahap-tahap penelitian

I. PERCOBAAN DENGAN INOKULASI (Beuchat et al., 1998)

1. Konfirmasi Kultur *Salmonella*

Kultur di dalam NA miring dilakukan pemeriksaan dengan membuat pewarnaan Gram dan mengamatnya di mikroskop. Jika ternyata belum murni, maka perlu dimurnikan terlebih dahulu. Menumbuhkan kultur di atas media NA dengan cara goresan kuadran, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 2-3 hari. Koloni yang terpisah diamati pada cawan petri. Untuk memeriksanya perlu diamati di bawah mikroskop, dengan metode pewarnaan Gram. Bakteri hasil isolasi ditumbuhkan pada media miring NA dan diinkubasi pada suhu 37°C. Jika ternyata belum diperoleh koloni terpisah atau didapatkan koloni yang mengkontaminasi maka isolasi perlu diulangi lagi, sampai mendapatkan koloni terpisah.

Tahap konfirmasi berikutnya diawali dengan tahap penyegaran kultur dari NA miring ke NB, yang dilanjutkan dengan tahap enrichment dengan media isolasi pada HEA serta konfirmasi pada media TSIA dan LIA (AOAC, 1992).

2. Pengawetan Kultur *Salmonella*

Kultur murni diawetkan dalam bentuk stok pada NA miring lalu disimpan pada suhu pendinginan, dan juga diawetkan dengan menggunakan manik-manik lalu disimpan pada suhu pembekuan. Kultur pada NA miring diperbaharui setiap dua minggu sekali dengan cara menggoreskan langsung kultur ke dalam NA miring yang baru.

3. Penetapan Fase Pertumbuhan *Salmonella*

Penetapan fase pertumbuhan dilakukan untuk mengetahui waktu inkubasi yang menghasilkan jumlah *Salmonella* maksimum. Tahap awalnya yaitu dengan cara menginokulasikan kultur berumur 24 jam pada media NB

dan diinkubasikan selama 24 jam pada 37°C. Tahap dilanjutkan dengan pengenceran sampai (10^5 CFU/ml, lalu diambil sebanyak 1 ml dan dimasukkan ke 20 ml NB sehingga jumlahnya menjadi sekitar 5×10^3 CFU/ml. Kultur diplating menggunakan media NA setelah waktu inkubasi tertentu yaitu pada awal inkubasi (jam ke-0) serta pada jam ke-2, 4, 6, 8, 10, 12, 16, 20, 24, 30, 36, 42, dan 48. Setelah itu dilakukan perhitungan jumlah bakteri dan dibuat kurva pertumbuhannya serta ditentukan waktu pertumbuhan pada saat fase awal stasioner/akhir logaritmik.

4. Persiapan Inokulum *Salmonella*

Setiap kultur *Salmonella* yang telah disegarkan ke dalam NB, diencerkan dan ditumbuhkan kembali pada media NB sehingga diperoleh jumlah sekitar 5×10^3 CFU/ml. Setelah itu kultur diinkubasi pada suhu 37°C selama waktu tertentu yang diperoleh saat penetapan fase pertumbuhan awal stasioner, sehingga jumlah koloninya sekitar 10^9 CFU/ml yang dilanjutkan dengan sentrifuse, dibuang cairannya kemudian ditambahkan 10 ml buffer. Hasil standarisasi jumlah *Salmonella* diperoleh sekitar 10^9 CFU/ml.

Hasil standarisasi setiap kultur diencerkan terlebih dahulu sampai jumlahnya kira-kira sekitar 10^7 CFU per ml. Dari setiap kultur diambil dengan jumlah yang sama kemudian dicampurkan dan diinokulasikan ke dalam 500 g taugé sehingga diperoleh jumlah *Salmonella* sekitar 10^5 CFU/g.

5. Pengambilan dan Persiapan Sayur

Taugé segar dibeli di suatu pasar tradisional di daerah Bogor yang dikenal dengan nama pasar Anyar. Taugé segar dibawa dengan menggunakan kemasan plastik berukuran besar. Setelah itu persiapan taugé segera dilakukan bersamaan dengan persiapan inokulum.

Sampel taugé dipilih secara acak dan ditimbang sekitar 500 g, kemudian dicuci dengan air kran dan dimasukkan ke dalam kantung plastik berwarna hitam. Hal itu dilakukan untuk beberapa sampel sehingga diperoleh beberapa kantung plastik. Kantung-kantung plastik berisi sampel tersebut dimasukkan ke dalam refrigerator sebelum diaplikasikan, sambil menunggu selesainya persiapan inokulum.

6. Inokulasi taugé

Taugé sebanyak 500 g yang telah dicuci dan ditiriskan, dimasukkan ke dalam kantung plastik tahan panas steril berukuran besar secara aseptis, dilanjutkan dengan menginokulasi 5 ml inokulum yang telah disiapkan dan 495 ml buffer fosfat kedalamnya sehingga diperoleh sekitar 10^5 CFU/g taugé (5×10^7 CFU/500 g). Setelah itu, plastik berisi taugé dan inokulum dikocok-kocok supaya tercampur merata kira-kira selama 3-5 menit.

7. Pembuatan Formula Sanitaiser

Formula sanitaiser asam asetat 3% dibuat dengan mengencerkan asam asetat 98% sampai konsentrasi 3%. Formula sanitaiser H_2O_2 3% dan 5% dibuat dengan mengencerkan H_2O_2 50% sampai konsentrasi 3% dan 5%.

Formula sanitaiser dibuat sebanyak 2000 ml untuk teknik aplikasi perendaman dan 1000 ml untuk teknik aplikasi penyemprotan. Formula kombinasi sanitaiser asam asetat dan H_2O_2 disiapkan dengan membuat volume setiap konsentrasi sanitaiser setengah dari volume kombinasi sanitaiser yang diinginkan.

Perhitungan :

$$V_1 \times M_1 = V_2 \times M_2$$

Keterangan :

V_1 = Volume larutan yang dibutuhkan

M1 = Konsentrasi awal larutan

V2 = Volume larutan yang diinginkan

M2 = Konsentrasi larutan yang diinginkan

8. Perlakuan Sanitaiser

Tauge diaplikasikan dengan perendaman pada larutan sanitaiser H₂O₂ (3%, 5%), asam asetat (3%), serta kombinasi antara H₂O₂ dan asam asetat dengan waktu kontak 2 menit lalu dibilas air sebanyak 2 kali. Kombinasi formula sanitaiser dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Perlakuan kombinasi formula sanitaiser

	H ₂ O ₂	3%	5%
Asam asetat			
3%		(3% , 3%)	(3% , 5%)

Dengan menggunakan formula sanitaiser terbaik maka aplikasi formula sanitaiser dilanjutkan dengan cara perendaman dan penyemprotan dengan waktu kontak selama 2 menit dan 5 menit, lalu diikuti dengan pembilasan dengan air sebanyak dua kali. Teknik aplikasi penyemprotan dengan waktu kontak 2 menit dilakukan dengan menyemprot tauge sebanyak 100 g sampai mengenai seluruh permukaan tauge kemudian mendiampkannya selama 2 menit.

Untuk mengevaluasi efektivitas sanitaiser, teknik aplikasi, dan waktu kontak dilakukan analisis kuantitatif *Salmonella* menggunakan media selektif *Hectoen Enteric Agar* (HEA) dan analisis kuantitatif total mikroba menggunakan *Total Plate Count* (TPC).

II. PERCOBAAN TANPA INOKULASI

Prosedur pengambilan dan persiapan sayur, pembuatan formula sanitaiser, dan memberi perlakuan sanitaiser dikerjakan seperti pada

metode dengan inokulasi. Sanitaiser yang digunakan pada metode ini yaitu sanitaiser terbaik yang diperoleh dari metode pertama.

Untuk mengevaluasi efektivitas formula sanitaiser maupun teknik aplikasi sanitaiser, dilakukan pengujian *Salmonella* secara kualitatif (uji lengkap) (AOAC, 1992), identifikasi sampel, dan analisis kuantitatif total mikroba menggunakan *Total Plate Count* (AOAC, 1992).

C. PROSEDUR EVALUASI EFEKTIVITAS SANITAISER

1. Analisis Total Mikroba (AOAC, 1992)

Sampel tauge tanpa perlakuan, setelah pembilasan dengan air, dan setelah perlakuan sanitaiser ditimbang sebanyak 25 g kemudian ditambahkan 225 ml larutan pengencer steril (10^{-1}) dan dihancurkan menggunakan *stomacher* selama 2 menit. Setelah itu, sampel diencerkan sampai tingkat pengenceran yang dikehendaki.

Satu ml sampel dipipet dari pengenceran yang dikehendaki ke dalam cawan petri. Sebanyak $\pm 12-15$ ml media PCA ($45 \pm 1^\circ\text{C}$) dituang ke dalam cawan petri, dan segera setelah penuangan cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati untuk menyebarkan sel-sel mikroba secara merata, yaitu dengan gerakan melingkar atau gerakan seperti angka delapan. Setelah media agar membeku, cawan diinkubasikan dengan posisi terbalik pada suhu 35°C selama 48 ± 2 jam dan jumlah koloni yang tumbuh pada cawan dihitung.

2. Analisis Kuantitatif *Salmonella*

Analisis kuantitatif *Salmonella* dilakukan dengan pemupukan dan pengenceran seperti pada analisis total mikroba (AOAC, 1992) tetapi menggunakan media *Hectoen Enteric Agar* (HEA) untuk pertumbuhannya. Sampel tauge tanpa perlakuan, setelah pembilasan dengan air, dan setelah perlakuan sanitaiser ditimbang sebanyak 25 g kemudian ditambahkan 225

ml larutan pengencer steril (10^{-1}) dan dihancurkan menggunakan stomaker selama 2 menit. Setelah itu, sampel diencerkan sampai tingkat pengenceran yang dikehendaki.

Satu ml sampel dipipet dari pengenceran yang dikehendaki ke dalam cawan petri. Sebanyak $\pm 12-15$ ml media HEA ($45\pm 1^\circ\text{C}$) dituang ke dalam cawan petri, dan segera setelah penuangan cawan petri digerakkan di atas meja secara hati-hati untuk menyebarkan sel-sel mikroba secara merata, yaitu dengan gerakan melingkar atau gerakan seperti angka delapan. Setelah media agar membeku, cawan diinkubasikan dengan posisi terbalik pada suhu 35°C selama 48 ± 2 jam dan jumlah koloni tipikal yang tumbuh pada cawan dihitung. Koloni tipikal *Salmonella* pada media HEA dapat dilihat pada Tabel 3.

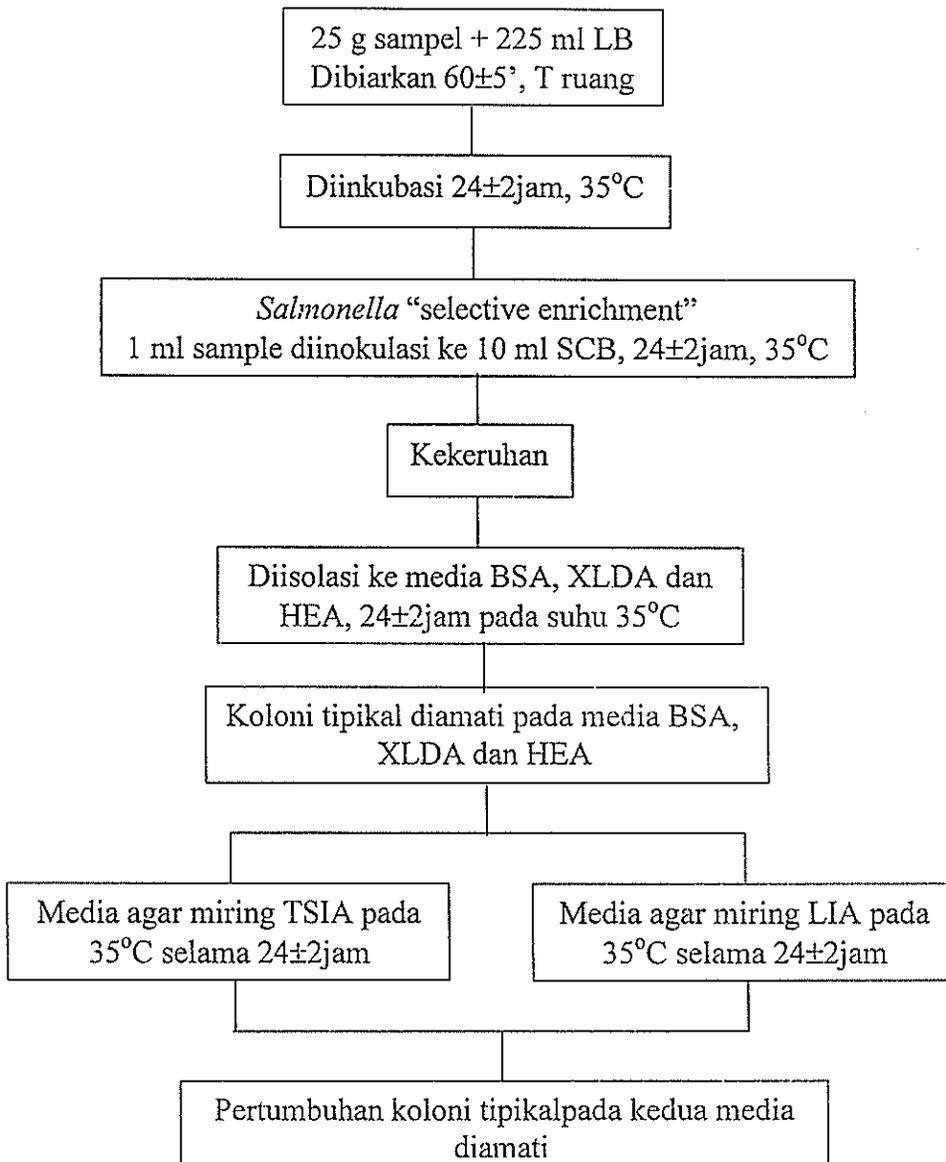
3. Analisis Kualitatif *Salmonella* (Uji Lengkap) (AOAC, 1992)

Uji Kualitatif *Salmonella* dilakukan terhadap sampel tauge yang tidak diinokulasi. Sebanyak 25 g sampel ditimbang dan dimasukkan ke dalam stomaker kemudian ditambahkan 225 ml *Lactose Broth* steril dan dihancurkan selama 2 menit. Sampel yang telah dihancurkan dengan stomaker dipindahkan ke dalam erlenmeyer dan dibiarkan 60 ± 5 menit pada suhu ruang dalam keadaan tertutup kemudian diinkubasi selama 24 ± 2 jam pada suhu 35°C .

Sampel diambil dengan pipet sebanyak 1 ml contoh dan dituang ke dalam 10 ml medium *enrichment Selenite Cystine Broth* (SCB) dan dikocok. Tabung kemudian diinkubasi selama 24 ± 2 jam pada suhu 35°C . Adanya pertumbuhan bakteri ditandai dengan kekeruhan warna media. Tabung SCB yang positif dikocok kemudian diambil 1 ose dan digoreskan dengan cara gores kuadran pada media *Bismuth Sulfite Agar* (BSA), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (XLDA), dan *Hektoen Enteric Agar* (HEA). Disiapkan *BSA plate* pada hari sebelum penggoresan dengan disimpan pada tempat gelap dan pada suhu kamar sampai saat digores.



Inkubasi dilakukan selama 24 ± 2 jam pada suhu 35°C . Secara garis besar uji kualitatif *Salmonella* seperti yang ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Diagram uji kualitatif *Salmonella* (AOAC, 1992)

Diamati terbentuknya koloni tipikal pada media *Hektoen Enteric Agar* (HE), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (XLDA), dan *Bismuth Sulfite Agar* (BSA). Ciri-ciri koloni tipikal *Salmonella* ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Koloni tipikal *Salmonella* pada beberapa media^{*)}

Media	Koloni tipikal <i>Salmonella</i>
<i>Hektoen Enteric Agar</i> (HEA)	Warna biru kehijauan, dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya, beberapa akan tampak sebagai koloni yang besar, berwarna hitam mengkilap ditengahnya atau tampak sebagai koloni yang hampir semuanya berwarna hitam.
<i>Xylose Lysine Desoxycholate Agar</i> (XLDA)	Warna merah muda dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya, beberapa mungkin tampak sebagai koloni yang besar, berwarna hitam mengkilap ditengahnya atau tampak sebagai koloni yang hampir semuanya berwarna hitam.
<i>Bismuth Sulfite Agar</i> (BSA)	Warna coklat, abu-abu atau koloni hitam, kadang tampak berwarna metalik berkilauan. Sekeliling koloni biasanya akan berwarna coklat pada awalnya dan akan menjadi hitam dengan bertambahnya waktu inkubasi, memproduksi <i>so</i> -yang disebut <i>halo effect</i> .

^{*)}AOAC (1992)

Jika koloni tipikal *Salmonella* tidak ada, dicari koloni *Samonella* yang tidak tipikal sebagai berikut:

1. Pada HEA dan XLDA, beberapa kultur *Salmonella* yang tidak tipikal memproduksi koloni kuning dengan atau tanpa warna hitam ditengahnya. Jika koloni yang khas tidak muncul setelah inkubasi 24 ± 2 jam, diambil maksimal 3 koloni yang tidak khas tersebut.
2. Pada BSA, beberapa strain yang tidak tipikal memproduksi koloni hijau dengan sedikit atau tanpa dikelilingi warna gelap pada media. Jika koloni yang tipikal tidak terdapat pada BSA yang diinkubasi 24 ± 2 jam, maka jangan diambil koloninya, tetapi inkubasi lagi selama 24 ± 2 h. Jika koloni yang tipikal juga belum muncul, maka diambil koloni yang tidak tipikal setelah diinkubasi 48 ± 2 jam tersebut

Uji lebih lanjut dilakukan menggunakan medium TSI dan LIA yang telah diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 ± 2 jam. Koloni yang dipilih kemudian diokulasi dengan jarum inokulasi steril dan diokulasikan

pada TSIA miring dengan melapiskan secara miring dan menusukkannya. Tanpa pembakaran lagi, diinokulasikan koloni pada LIA miring dengan cara ditusuk dua kali dan digoreskan. Karena reaksi *lysine decarboxylation* harus benar-benar anaerob, maka tusukan pada media LIA harus mempunyai kedalaman 4 cm.

Inkubasi agar miring TSIA dan LIA dilakukan pada suhu 35°C selama 24 ± 2 jam. Tabung ditutup secara longgar untuk memelihara kondisi aerobik pada waktu inkubasi agar miring dan mencegah produksi H₂S berlebih. *Salmonella* pada kultur, secara tipikal akan memproduksi basa (merah) pada goresan miring dan asam (kuning) pada ujung, dengan atau tanpa produksi H₂S (kehitaman pada agar) di media TSIA.

Pada LIA, *Salmonella* secara tipikal akan memberikan reaksi basa (ungu) di ujung tabung. Warna kuning terang pada ujung menunjukkan bahwa reaksi menghasilkan asam (negatif). Jangan menghilangkan kultur hanya karena kultur menghasilkan *discoloration* pada ujung tabung. Beberapa kultur *Salmonella* memproduksi H₂S pada LIA. Beberapa yang bukan kultur *Salmonella* menghasilkan reaksi warna merah bata pada LIA miring. Tabel reaksi biokimia pada *Salmonella* dapat dilihat pada Tabel 4. Selain itu, digunakan juga sumber lain yang dapat dilihat di Lampiran 1 dan 2.

Tabel 4. Reaksi biokimia pada *Salmonella*^{*)}

Jenis tes atau substrat	Hasil		Reaksi spesies <i>Salmonella</i> ^{a)}
	Positif	Negatif	
1. Glukosa (TSI)	Dasar kuning	Dasar merah	+
2. <i>Lysine decarboxylase</i> (LIA)	Dasar ungu	Dasar kuning	+
3. H ₂ S (TSI dan LIA)	Kehitaman	Tidak ada kehitaman	+

Keterangan : ^{a)} +, 90% atau lebih, positif pada 1 atau 2 hari

^{*)}AOAC (1992)

4. Identifikasi *Salmonella* pada Sampel

Sampel taube tanpa inokulasi yang telah dianalisis kualitatif ada tidaknya *Salmonella* dengan metode AOAC (1992) dilanjutkan dengan tahap identifikasi API 20E. Sampel tersebut mencakup sampel awal (kontrol) maupun yang telah diberi perlakuan sanitaisir yang memberi hasil positif pada TSIA atau LIA.

D. METODE ANALISIS KUANTITATIF RESIDU H₂O₂

(www.terriscscience.org/lessonsexchange/genchem)

Analisis kuantitatif H₂O₂ terdiri dari dua tahap yaitu standarisasi larutan kalium permanganat (KMnO₄) 0.1 N dan analisis H₂O₂. Prinsip analisis tersebut yaitu titrasi sampel dengan larutan KMnO₄ 0.1 N yang telah distandarisasi sampai terbentuk warna pink minimal ± 1 menit. Cara analisis kuantitatif H₂O₂ secara lengkap disajikan di Lampiran 3.

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. PEMERIKSAAN KEMURNIAN DAN KONFIRMASI KULTUR *SALMONELLA*

Model dengan inokulasi dilakukan dengan menggunakan tiga kultur *Salmonella* yaitu *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, dan *Salmonella* sp. Kultur *Salmonella* Typhimurium berasal dari manusia, sedangkan *Salmonella* Enteritidis dan *Salmonella* sp. berasal dari hewan.

Hasil pemeriksaan kemurnian pada Tabel 5 menunjukkan bahwa ketiga kultur yang digunakan telah murni. Hal tersebut diketahui dari pewarnaan Gram dan pengamatan menggunakan mikroskop yang dilakukan terhadap ketiga kultur. Hasil pewarnaan Gram ketiga kultur *Salmonella* yaitu berbentuk batang pendek, berwarna merah yang berarti gram negatif, berukuran kecil, dan seragam. *Salmonella* merupakan salah satu genus dari Enterobacteriaceae, berbentuk batang, gram negatif, anaerobik fakultatif, dan aerogenik (Supardi dan Sukanto, 1999).

Tabel 5. Hasil pemeriksaan kemurnian kultur *Salmonella*

Nama <i>Salmonella</i>	Pewarnaan Gram	
	Warna	Bentuk
<i>Salmonella</i> Typhimurium	merah	Batang
<i>Salmonella</i> Enteritidis	merah	Batang
<i>Salmonella</i> sp.	merah	Batang

Hasil uji konfirmasi ketiga kultur *Salmonella* dapat dilihat pada Tabel 6. Hasil tersebut menunjukkan bahwa hasil uji konfirmasi ketiga kultur sesuai dengan reaksi biokimia untuk *Salmonella* pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA) dan *Lysine Iron Agar* (LIA), yang disajikan pada Lampiran 1 dan 2 (www.jlindquist.net/generalmicro/dfmultinf.html).

Tabel 6. Hasil uji konfirmasi kultur *Salmonella*

Nama <i>Salmonella</i>	Hasil	
	TSIA	LIA
<i>Salmonella</i> Typhimurium	Dasar merah, kehitaman	Dasar ungu, kehitaman
<i>Salmonella</i> Enteritidis	Dasar merah, kehitaman	Dasar ungu, kehitaman
<i>Salmonella</i> sp.	Dasar merah, kehitaman	Dasar ungu, kehitaman

B. KURVA PERTUMBUHAN

Kurva pertumbuhan jasad renik menggambarkan empat fase pertumbuhan yaitu fase adaptasi, fase pertumbuhan awal, fase logaritmik, fase pertumbuhan lambat, fase pertumbuhan tetap (stasioner), fase menuju kematian, dan fase kematian. Pada fase adaptasi belum terjadi pembelahan sel karena beberapa enzim mungkin belum disintesis. Pada fase pertumbuhan awal sel mulai membelah dengan kecepatan yang masih rendah karena baru selesai tahap penyesuaian diri. Pada fase pertumbuhan logaritmik sel membelah dengan cepat dan konstan dimana pertambahan jumlahnya mengikuti kurva logaritmik kematian (Fardiaz, 1992).

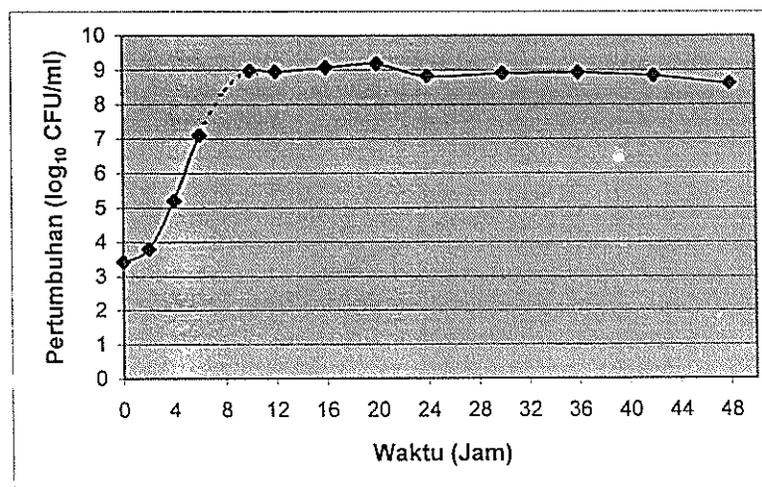
Pada fase pertumbuhan lambat, sel tumbuh tidak stabil tetapi jumlah populasi masih naik karena jumlah sel yang tumbuh masih lebih banyak daripada jumlah sel yang mati. Pada fase menuju kematian dan fase kematian, sebagian populasi jasad renik mulai mengalami kematian karena beberapa sebab yaitu nutrien di dalam medium dan energi cadangan di dalam sel sudah habis (Fardiaz, 1992).

Ketika faktor lingkungan seperti ketersediaan nutrien, temperatur, dan persaingan dari populasi mikroba lain menjadi penghambat, maka pertumbuhan berjalan lambat dan mencapai suatu titik ekuilibrium. Pertumbuhan menjadi relatif konstan sehingga menghasilkan fase stasioner (Marriot, 1999). Selama fase ini, jumlah organisme berfrekuensi cukup besar

dimana produk-produk metabolit dan persaingan ruang dan makanan mengurangi perbanyakan sampai titik yang hampir berhenti, berhenti, atau sedikit menurun pada peristiwa perbanyakan mikroba.

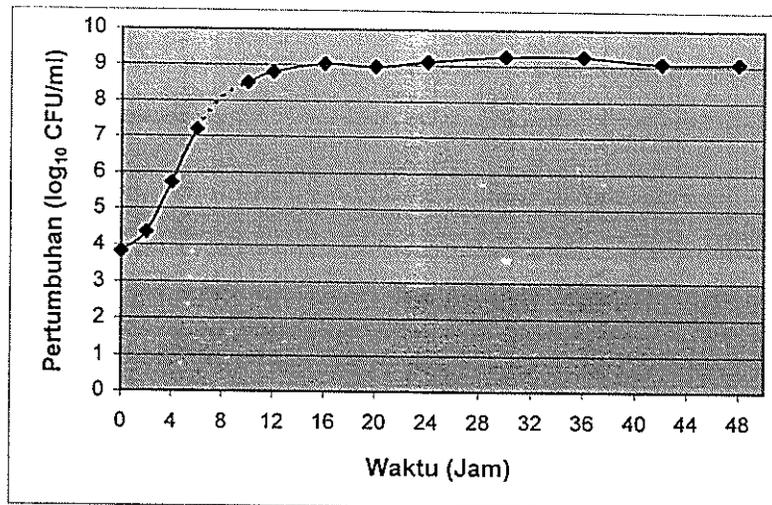
Pembuatan kurva pertumbuhan yang dilakukan bertujuan untuk mengetahui waktu pertumbuhan kultur pada saat mencapai fase awal stasioner/akhir logaritmik dimana pada fase tersebut pertumbuhan mikroba optimum dengan jumlah yang tetap. Data lengkap hasil perhitungan penetapan fase pertumbuhan disajikan di Lampiran 4.

Kurva pertumbuhan *Salmonella Typhimurium*, *Salmonella Enteritidis* dan *Salmonella sp.* dapat dilihat pada Gambar 4, 5 dan 6. Kurva pertumbuhan *Salmonella Typhimurium* dan *Salmonella Enteritidis* menunjukkan bahwa kedua kultur tersebut berada pada awal fase stasioner setelah kultur diinkubasi selama 16 jam sedangkan *Salmonella sp.* setelah diinkubasi selama 20 jam. Oleh karena itu, waktu inkubasi tersebut digunakan selanjutnya pada saat prosedur standarisasi kultur.

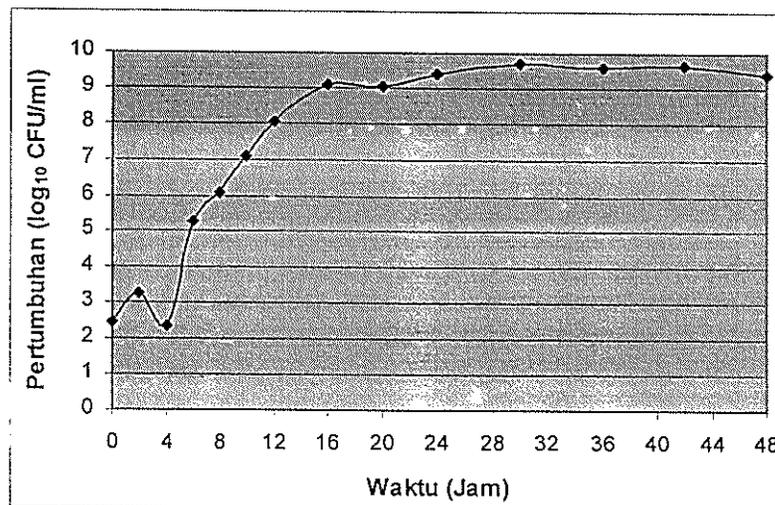


Gambar 4. Kurva pertumbuhan *Salmonella Typhimurium*

Pada fase stasioner, jumlah populasi sel tetap karena jumlah sel yang tumbuh sama dengan jumlah sel yang mati. Pada fase ini sel-sel menjadi lebih tahan terhadap keadaan ekstrem seperti panas, dingin, radiasi, dan bahan kimia (Fardiaz, 1992). Ukuran sel pada fase ini menjadi lebih kecil karena sel tetap membelah meskipun zat nutrisi sudah mulai habis.



Gambar 5. Kurva pertumbuhan *Salmonella* Enteritidis



Gambar 6. Kurva pertumbuhan *Salmonella* sp.

C. EFEKTIFITAS BEBERAPA FORMULA SANITAISER DALAM MENGINAKTIVASI *SALMONELLA*

Pada penelitian ini, digunakan dua metode secara garis besar untuk menguji efektivitas sanitaiser dalam menginaktivasi *Salmonella* atau menurunkan jumlahnya yaitu metode dengan inokulasi dan tanpa inokulasi. Metode dengan inokulasi dilakukan sesuai model Beuchat et al. (1998). Penggunaan model Beuchat et al. (1998) dilakukan dengan menginokulasi campuran tiga kultur *Salmonella* (inokulum) ke dalam tauge, yang dilanjutkan

dengan memberi perlakuan sanitaisir dan dievaluasi secara kuantitatif jumlah *Salmonella* yang bertahan setelah perlakuan.

Pada penelitian dengan metode inokulasi, jumlah inokulum (koktail) *Salmonella* yang disiapkan yaitu sekitar $7.94 \log_{10}$ CFU/ml. Namun, setelah diuji jumlah *Salmonella* pada sampel ternyata hanya menempel sekitar $4.92 \log_{10}$ CFU/g saat pengujian efektifitas formula sanitaisir dan $3.85 \log_{10}$ CFU/g saat pengujian efektifitas teknik aplikasi dan waktu kontak sanitaisir. Hasil tersebut menunjukkan terjadi pengurangan jumlah *Salmonella* pada sampel taugé dari jumlah awal yang diinokulasikan.

Hal ini sejalan dengan hasil penelitian Rahmadi (2002) untuk buah apel yang juga menunjukkan pengurangan kultur dari suspensi awal. Kultur BAL yang diserap oleh buah apel berkurang sebesar 2 satuan log dari suspensi awal sedangkan hasil penelitian terhadap penyerapan patogen, *S. aureus* berkurang sebesar 1 satuan log, sedangkan *E. coli* dan *L. monocytogenes*, keduanya berkurang sebesar 3 satuan log dari suspensi awal.

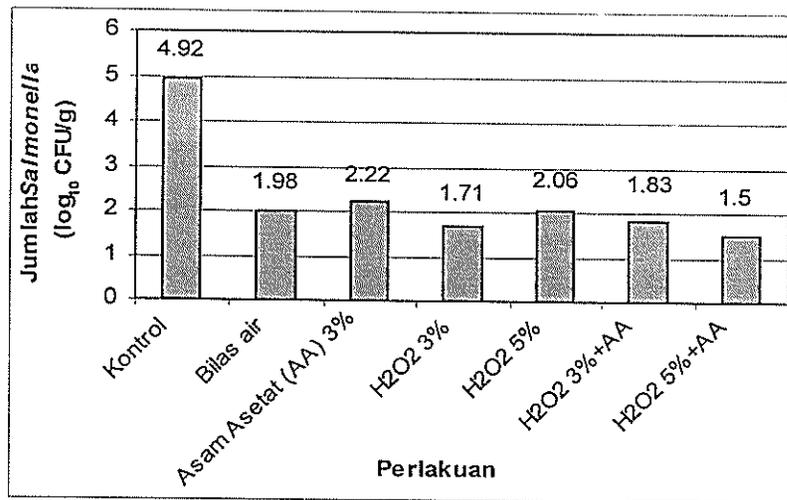
Jumlah *Salmonella* yang sebenarnya diharapkan dapat menempel pada sampel yaitu sekitar $5 \log_{10}$ CFU/g (10^5 CFU/g). Ini dikarenakan menurut Cary *et al.* (2000), dosis infeksi *Salmonella* yang merupakan jumlah untuk dapat menyebabkan penyakit cukup tinggi (10^4 - 10^6 organisme).

Bahan sanitaisir yang digunakan adalah H_2O_2 dan asam asetat. Faktor-faktor yang mempengaruhi efektivitas penggunaan sanitaisir adalah waktu kontak, suhu, konsentrasi sanitaisir, pH, kesadahan air, jumlah dan jenis mikroba (Beuchat *et al.*, 2001). Formula yang diberikan ialah asam asetat 3%, H_2O_2 3%, H_2O_2 5%, H_2O_2 3% dan asam asetat 3%, serta H_2O_2 5% dan asam asetat 3%.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah *Salmonella* pada taugé tanpa perlakuan sanitaisir adalah $4.92 \log_{10}$ CFU/g, dan setelah pembilasan dengan air menjadi $1.98 \log_{10}$ CFU/g. Jumlah *Salmonella* setelah perlakuan sanitaisir untuk asam asetat 3%, H_2O_2 3%, H_2O_2 5%, H_2O_2 3% dan asam asetat 3%, serta H_2O_2 5% dan asam asetat 3% berturut-turut turun menjadi 2.22, 1.71, 2.06, 1.83, dan $1.50 \log_{10}$ CFU/g. Pengaruh perlakuan sanitaisir



terhadap jumlah *Salmonella* dapat dilihat pada Gambar 7. Data lengkapnya disajikan di Lampiran 5.



Gambar 7. Pengaruh perlakuan sanitaiser terhadap jumlah *Salmonella*

Besarnya penurunan jumlah *Salmonella* dengan beberapa formula sanitaiser dapat dilihat pada Tabel 7. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pembilasan dengan air dan perlakuan sanitaiser menurunkan jumlah *Salmonella* di dalam sampel. Namun, formula sanitaiser yang paling efektif dalam menurunkan jumlah *Salmonella* yaitu kombinasi formula H₂O₂ 5% dan asam asetat 3% karena penurunan jumlah *Salmonella* dibandingkan dengan formula sanitaiser lain paling besar yaitu lebih dari 3 log (3.42 log₁₀ CFU/g).

Hal tersebut sesuai dengan hasil penelitian Lin *et al.* (2002) yang mengemukakan bahwa penurunan populasi bakteri lebih besar ditemukan pada selada yang ditangani dengan kombinasi asam laktat dan H₂O₂ dibandingkan pada selada yang ditangani dengan H₂O₂ saja. Mereka menjelaskan bahwa lebih dari 4 log CFU *E. coli* O157:H7 dan *Salmonella* Enteritidis serta sekitar 3 log CFU *L. Monocytogenes* per daun selada diinaktivasi dengan kombinasi asam laktat dan H₂O₂ bersuhu 40°C (15 menit) untuk asam laktat 1.5% + H₂O₂ 1.5% dan 22°C (5 menit) untuk asam laktat 1.5% + H₂O₂ 2%. Ini berarti aktivitas H₂O₂ akan lebih meningkat jika dikombinasikan dengan sanitaiser lain seperti asam laktat dan asam asetat.

Pada penelitian ini juga dilakukan pengukuran pH terhadap formula sanitaisier yang digunakan. Hasil pengukuran pH untuk formula asam asetat 3%, H₂O₂ 3%, H₂O₂ 5%, H₂O₂ 3% dan asam asetat 3%, serta H₂O₂ 5% dan asam asetat 3% berturut-turut yaitu 2.94, 4.03, 3.25, 2.80, dan 2.76, yang dapat dilihat pada Tabel 7.

Tabel 7. Hasil pengukuran pH dan penurunan jumlah *Salmonella* dengan beberapa formula sanitaisier

Perlakuan	Nilai pH sanitaisier	Penurunan <i>Salmonella</i> (log ₁₀ CFU/g)
Bilas air	-	2.94
Asam asetat 3%	2.94	2.70
H ₂ O ₂ 3%	4.03	3.21
H ₂ O ₂ 5%	3.25	2.86
H ₂ O ₂ 3% + Asam asetat 3%	2.80	3.09
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3%	2.76	3.42

Nilai pH asam asetat 0.1 M yaitu 2.9 (The Merck Index, 1989). Nilai pH di bawah 3 merupakan yang paling ideal untuk penggunaan sanitaisier asam (Marriot, 1999). Hal itu sesuai dengan hasil pengukuran pH yang menunjukkan formula sanitaisier kombinasi H₂O₂ 5% dan asam asetat 3% yang mempunyai pH paling rendah ternyata paling efektif dalam menurunkan jumlah *Salmonella*.

Efektifitas kombinasi H₂O₂ dan asam laktat dalam membunuh organisme meningkat dengan adanya peningkatan temperatur (Venkitanarayanan *et al.*, 2002). Namun, pengaruh formula sanitaisier pada penelitian ini hanya diaplikasikan pada temperatur ruang sehingga tidak dapat dilihat pengaruhnya jika diaplikasikan pada suhu yang lebih tinggi.

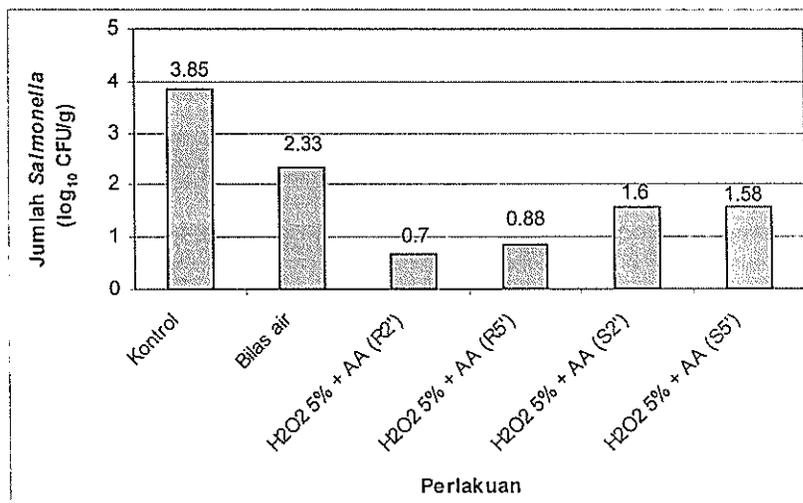
D. EFEKTIVITAS TEKNIK APLIKASI DAN WAKTU KONTAK SANITAISIER TERBAIK

Aplikasi sanitaisier dilakukan dalam penelitian ini merupakan aplikasi yang pada umumnya digunakan. Aplikasi asam sebagai sanitaisier dapat dengan cara penyemprotan, pencelupan, dan perendaman. Aplikasi dilakukan untuk melihat aplikasi terbaik dengan waktu kontak yang efektif pada setiap

formula tersebut yaitu teknik perendaman dan penyemprotan dengan waktu kontak masing-masing adalah 2 dan 5 menit.

1. Jumlah *Salmonella*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah *Salmonella* pada tauge tanpa perlakuan sanitaisier adalah 3.85 log₁₀ CFU/g, dan setelah pembilasan dengan air jumlah *Salmonella* turun menjadi 2.33 log₁₀ CFU/g. Jumlah *Salmonella* setelah perlakuan sanitaisier terbaik (kombinasi H₂O₂ 5% dan asam asetat 3%) dengan teknik perendaman turun menjadi 0.70 log₁₀ CFU/g untuk waktu kontak 2 menit dan 0.88 log₁₀ CFU/g untuk waktu kontak 5 menit, sedangkan dengan teknik penyemprotan turun menjadi 1.60 log₁₀ CFU/g untuk waktu kontak 2 menit dan 1.58 log₁₀ CFU/g untuk waktu kontak 5 menit. Pengaruh perlakuan rendam dan semprot terhadap *Salmonella* dapat dilihat pada Gambar 8. Data lengkap disajikan di Lampiran 6.



Keterangan : AA = Asam asetat
R2' = Teknik perendaman 2 menit
R5' = Teknik perendaman 5 menit
S2' = Teknik penyemprotan 2 menit
S5' = Teknik penyemprotan 5 menit

Gambar 8. Pengaruh teknik aplikasi dan waktu kontak terhadap jumlah *Salmonella*

Teknik aplikasi dan waktu kontak yang paling efektif dalam menurunkan jumlah *Salmonella* adalah teknik perendaman dan waktu kontak 2 menit dengan nilai log penurunannya yaitu 3.15 log₁₀ CFU/g. Besarnya penurunan jumlah *Salmonella* dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak dapat dilihat pada Tabel 8.

Tabel 8. Hasil penurunan jumlah *Salmonella* dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak

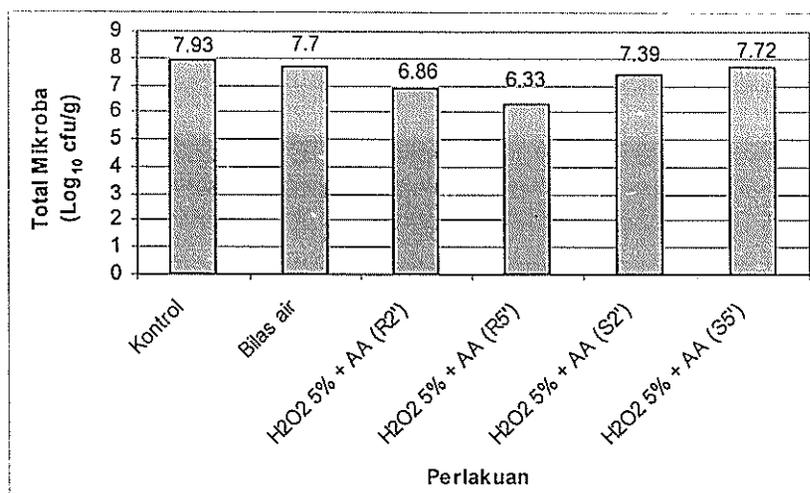
Perlakuan	Penurunan <i>Salmonella</i> (log ₁₀ CFU/g)
Kontrol	-
Bilas air	1.52
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3% (perendaman 2 menit)	3.15
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3% (perendaman 5 menit)	2.97
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3% (perendaman 2 menit)	2.25
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3% (perendaman 5 menit)	2.27

Tabel 8 juga menunjukkan bahwa teknik aplikasi perendaman baik dengan waktu kontak 2 menit maupun 5 menit dapat menurunkan jumlah *Salmonella* lebih besar dibandingkan teknik aplikasi penyemprotan. Hal ini karena sanitaiser dapat mengenai permukaan tauge lebih banyak saat perendaman dibandingkan saat penyemprotan.

2. Total Mikroba

Hasil penelitian menunjukkan total mikroba tanpa perlakuan sanitaiser adalah 7.93 log₁₀ CFU/g, dan setelah pembilasan dengan air turun menjadi 7.70 log₁₀ CFU/g. Total mikroba setelah perlakuan sanitaiser terbaik dengan teknik aplikasi perendaman turun menjadi 6.86 log₁₀ CFU/g untuk waktu kontak 2 menit dan 6.33 log₁₀ CFU/g untuk waktu kontak 5 menit, sedangkan dengan teknik aplikasi penyemprotan turun menjadi 7.39 log₁₀ CFU/g untuk waktu kontak 2 menit dan 7.72 log₁₀ CFU/g untuk waktu kontak 5 menit. Pengaruh teknik aplikasi dan waktu

kontak terhadap total mikroba dapat dilihat pada Gambar 9. Data lengkap disajikan di Lampiran 7.



Keterangan : AA = Asam asetat
 R2' = Teknik perendaman 2 menit
 R5' = Teknik perendaman 5 menit
 S2' = Teknik penyemprotan 2 menit
 S5' = Teknik penyemprotan 5 menit

Gambar 9. Pengaruh teknik aplikasi dan waktu kontak terhadap total mikroba

Efektivitas teknik aplikasi dan waktu kontak formula sanitaisier H₂O₂ 5% dan asam asetat 3% terhadap total mikroba menunjukkan hasil yang sama untuk teknik aplikasi yaitu teknik perendaman, tetapi hasil yang berbeda untuk waktu kontak. Teknik aplikasi dan waktu kontak yang dinilai efektif dalam menurunkan total mikroba yang ada yaitu teknik perendaman dengan waktu kontak 5 menit.

Perlakuan sanitaisier, teknik aplikasi, dan waktu kontak terbaik ternyata hanya mampu menurunkan total mikroba sebesar 1.60 log₁₀ CFU/g. Hasil tersebut menunjukkan penurunan total mikroba tidak sebesar penurunan jumlah *Salmonella*. Hal ini berarti mikroba-mikroba lain yang terdapat di dalam tauge jauh lebih tahan terhadap sanitaisier ini dibandingkan dengan *Salmonella*. Besarnya penurunan total mikroba dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak dapat dilihat pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil penurunan total mikroba dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak

Perlakuan	Penurunan total mikroba (\log_{10} CFU/g)
Kontrol	-
Bilas air	0.23
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3% (perendaman 2 menit)	1.07
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3% (perendaman 5 menit)	1.60
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3% (perendaman 2 menit)	0.54
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3% (perendaman 5 menit)	0.21

E. EFEKTIFITAS SANITAISER TERHADAP *SALMONELLA* PADA TAUGE SEGAR TANPA INOKULASI

Model tanpa inokulasi merupakan model pemberian sanitaiser pada tauge segar tanpa pemberian inokulum. Untuk itu *Salmonella* yang terkandung secara alami harus diuji lengkap keberadaannya. Setelah itu dilanjutkan dengan diberi perlakuan sanitaiser seperti model pertama dan dievaluasi kualitatif adanya *Salmonella* setelah perlakuan. Pada uji lengkap *Salmonella*, digunakan tiga media spesifik untuk *Salmonella* yaitu *Hektoen Enteric Agar* (HEA), *Xylose Lysine Desoxycholate Agar* (XLDA), dan *Bismuth Sulfite Agar* (BSA). Formula dengan konsentrasi, teknik aplikasi, dan waktu kontak yang terbaik dalam menginaktifkan *Salmonella* merupakan formula yang dinilai efektif untuk diterapkan.

Penggunaan ketiga media tersebut (BSA, XLDA, HEA) tetap diperlukan untuk isolasi *Salmonella* karena masing-masing media bisa saling menutupi kekurangan media lain. Alasan lain adalah karena lembaga internasional seperti AOAC dan FDA memakai ketiga media tersebut bersamaan untuk isolasi *Salmonella*. Pemakaian satu media saja tidak akan menjamin bahwa analisis yang dilakukan akurat. Hal ini disebabkan dari ketiga media tersebut masing-masing mempunyai sistem identifikasi yang berbeda-beda dan mempunyai kekurangan dan kelebihan (Susilawati, 2002).

Selain tiga media selektif tersebut, digunakan juga media pengkayaan (*enrichment*) yaitu *Selenite Cystine Broth* (SCB). Media *enrichment*

mikrobiologi mengandung inhibitor seperti *bile*, *tetrathionate*, *selenite*, *nitrofurantoin*, *brilliant green*, dan *malachite green dyes* umum digunakan untuk mendeteksi *Salmonella* (Varman dan Evans, 1991; de Boer, 1998 di dalam Cary et al., 2000)

Pada penelitian ini dilakukan uji kualitatif *Salmonella*, yang dilanjutkan dengan tahap yang lebih lanjut yaitu tahap identifikasi *Salmonella* menggunakan test API 20E. Namun, hasilnya menunjukkan bahwa pada sampel taube segar yang diuji tidak ditemukan *Salmonella*.

Dalam pengujian *Salmonella* pada taube segar diperoleh koloni tipikal pada media HEA dan hasil positif pada media TSIA dan LIA, namun isolat-isolat tersebut ternyata dengan API 20E teridentifikasi sebagai *Enterobacter cloacae* dengan hasil "good identification". Dengan demikian tidak dapat dilakukan analisis *Salmonella* pada taube segar tanpa inokulasi setelah perlakuan sanitaiser. Hasil identifikasi *Salmonella* dengan API 20E dapat dilihat pada Gambar 10.



Gambar 10. Hasil identifikasi *Salmonella* dengan API 20E

Hasil penelitian menunjukkan bahwa jumlah total mikroba pada sampel taube yang diuji yaitu sekitar $8.28 \log_{10}$ CFU/g, yang berarti tidak sesuai dengan standar TPC untuk sayuran yang dimakan mentah yang telah ditetapkan. Standar TPC sayuran yang akan dimakan mentah adalah $n=5$, $c=3$, $m=10^5$ dan $M=10^6$, artinya maksimal 3 sampel dari 5 sampel yang dianalisis boleh mengandung total mikroba 10^5 - 10^6 CFU/g (ICMSF, 1996).

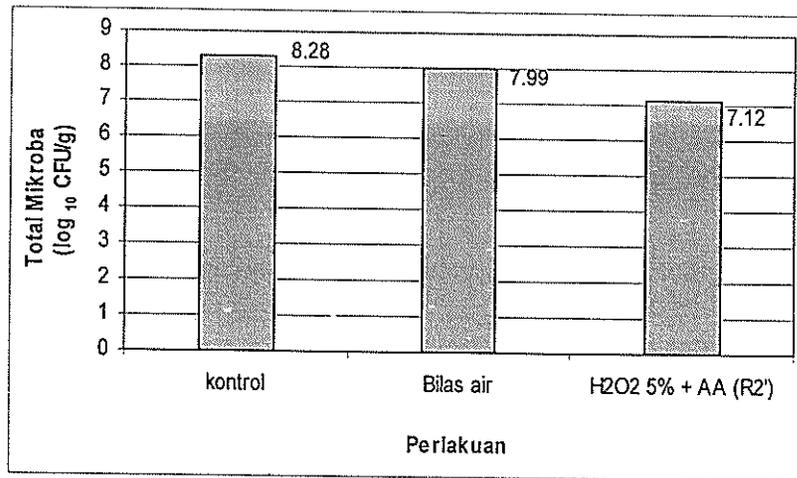
Hasil penelitian yang diperoleh sesuai dengan hasil penelitian Susilawati (2002) yang menunjukkan jumlah total mikroba tertinggi baik pada tingkat petani maupun pada tingkat pedagang ditemukan pada sampel taugé yaitu berkisar antara $7.64 \log_{10}$ CFU/g pada tingkat petani dan $8.32 \log_{10}$ CFU/g pada tingkat pedagang. Sayuran yang dipasarkan ke pasar tradisional seperti pasar Induk Kemang, pasar Anyar, pasar Caringin, pasar Ciampea dan pasar Leuwiliang berasal dari Kampung Dukuh, Leuweung Kolot, Kampung Salak dan Cipanas yang telah disurvei oleh Susilawati (2002). Hal ini berarti sampel taugé yang diuji pada penelitian ini berasal dari sumber yang telah diuji oleh Susilawati (2002).

Tingginya jumlah total mikroba pada taugé dapat disebabkan oleh berbagai faktor, baik pada saat penanganan pra panen, panen maupun pasca panen (Susilawati, 2002). Penanganan taugé seperti saat penyiraman dan pencucian, pengangkutan, serta penjualan merupakan faktor yang menyebabkan terjadinya kontaminasi pada taugé. Bentuk fisik dari taugé yang berlekuk menyebabkan kotoran dapat bersembunyi di antara lekukan tersebut, meskipun dicuci terlebih dahulu sebelum dipasarkan.

Hasil penelitian di luar negeri menunjukkan bahwa TPC sayuran segar seperti taugé, brokoli, wortel, kembang kol, seledri, dan lobak terdapat sekitar 10^5 - 10^8 CFU/g (Jay, 2000), sedangkan hasil penelitian Susilawati (2002) pada sayuran segar menunjukkan total mikroba yang lebih tinggi. Perbedaan tersebut diakibatkan karena penanganan sayuran yang kurang baik di Indonesia. Survei Susilawati (2002) menunjukkan penggunaan air kali saat penyiraman sayuran dan mencuci tangan di tingkat petani, wadah yang tidak tertutup rapat saat pengangkutan sayuran, serta kondisi tangan dan penjualan sayur yang kurang diperhatikan kebersihannya berpotensi menyebabkan kontaminasi mikroba.

Total mikroba pada taugé tanpa inokulasi yang sebelumnya sekitar $8.28 \log_{10}$ CFU/g turun menjadi $7.99 \log_{10}$ CFU/g setelah pembilasan dengan air dan $7.12 \log_{10}$ CFU/g setelah perlakuan sanitaisir dengan teknik perendaman dan waktu kontak terbaik. Total mikroba pada taugé tanpa

inokulasi dapat dilihat pada Gambar 11. Data lengkapnya disajikan di Lampiran 8.



Gambar 11. Total mikroba pada tauge tanpa inokulasi

Hasil tersebut menunjukkan bahwa setelah diaplikasikan formula sanitaiser dengan teknik aplikasi dan waktu kontak yang paling efektif terhadap total mikroba, ternyata masih belum dapat memenuhi standar TPC sayuran yang akan dimakan mentah karena jumlahnya melebihi standar yang ditetapkan (10^4 - 10^6 cfu/g). Tabel 10 menunjukkan bahwa setelah diaplikasikan sanitaiser yang efektif hanya dapat menurunkan total mikroba sekitar 1.16 log₁₀ cfu/g.

Tabel 10. Hasil penurunan total mikroba pada tauge tanpa inokulasi

Perlakuan	Penurunan Total Mikroba (log ₁₀ CFU/g)
Kontrol	-
Bilas air	0.29
H ₂ O ₂ 5% + asam asetat 3%	1.16

F. ANALISIS KUANTITATIF RESIDU H₂O₂

Tahap pertama analisis kuantitatif residu H₂O₂ adalah tahap standarisasi KMnO₄. Standarisasi KMnO₄ perlu dilakukan untuk mengetahui

dengan pasti konsentrasi KMnO_4 yang sesungguhnya pada saat dilakukan analisis H_2O_2 . Larutan KMnO_4 tidak dapat disiapkan secara akurat dengan konsentrasi yang tetap (www.terriscience.org/lessonsexchange/genchem). Oleh karena itu standarisasi ini harus dilakukan setiap saat akan dilakukan analisis H_2O_2 karena konsentrasi yang dihasilkan pada saat tertentu mungkin tidak sama pada saat yang lain.

Standarisasi KMnO_4 dilakukan dengan mentitrasi larutan natrium oksalat dengan KMnO_4 . Persamaan reaksinya yaitu sebagai berikut :

$$2\text{MnO}_4^- + 5\text{C}_2\text{O}_4^{2-} + 16\text{H}^+ \rightarrow 2\text{Mn}^{2+} + 10\text{CO}_2 + 8\text{H}_2\text{O}$$
(www.terriscience.org/lessonsexchange/genchem).

Konsentrasi KMnO_4 penting untuk diketahui karena akan mempengaruhi hasil perhitungan analisis H_2O_2 . Hasil standarisasi menunjukkan konsentrasi KMnO_4 yang diperoleh adalah 0.1011 N. Data lengkap dan cara perhitungan disajikan di Lampiran 9 dan 10.

Tahap keduanya adalah tahap kuantitatif residu H_2O_2 pada sampel setelah perlakuan sanitaiser terbaik (kombinasi H_2O_2 5% + asam asetat 3%). Sampel dititrasi dengan larutan KMnO_4 yang telah distandarisasi. Reaksi yang terjadi pada tahap kedua sebagai berikut : $2\text{MnO}_4^- + 6\text{H}^+ + 5\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow 5\text{O}_2 + 8\text{H}_2\text{O} + 2\text{Mn}^{2+}$ merupakan reaksi yang terjadi pada saat titrasi H_2O_2 dengan KMnO_4 (www.terriscience.org/lessonsexchange/genchem).

FDA menetapkan peraturan untuk penggunaan hidrogen peroksida untuk sterilisasi bahan pengemas dimana batas maksimum residu ialah 0.5 ppm (David, *et al.*, 1996). Hasil penelitian menunjukkan sampel setelah perlakuan sanitaiser mengandung residu H_2O_2 sebesar 0.0531% (531 ppm), yang dapat dilihat pada Tabel 11. Data lengkap dan cara perhitungan disajikan di Lampiran 11 dan 12. Berdasarkan peraturan FDA tersebut, hasil residu H_2O_2 yang diperoleh menunjukkan jumlah yang sangat besar yaitu berada di atas batas maksimum yang diizinkan.

Tabel 11. Hasil analisis kuantitatif residu H_2O_2

Sampel	% H_2O_2 (b/b)
1	0.0522
2	0.0539
Rata-rata	0.0531

Namun, jumlah tersebut tidaklah besar jika dibandingkan dengan penggunaan H_2O_2 pada susu untuk pembuatan keju yang diizinkan FDA dengan jumlah 500 ppm. Jumlah 500 ppm H_2O_2 pada susu diperkirakan hilang dengan katalase tanpa adanya residu (David *et al.*, 1996).

V. KESIMPULAN DAN SARAN

A. KESIMPULAN

Penelitian terdiri dari dua tahap yaitu tahap dengan inokulasi dan tahap tanpa inokulasi. Pada tahap inokulasi digunakan tiga kultur *Salmonella* yaitu *Salmonella* Typhimurium, *Salmonella* Enteritidis, dan *Salmonella* sp. Pertumbuhan ketiga jenis kultur tersebut saat berada pada fase awal stasioner atau akhir logaritmik diketahui untuk memperoleh *Salmonella* dengan jumlah yang maksimum dan tahan terhadap kondisi yang ekstrem.

Fase pertumbuhan awal stasioner *Salmonella* Typhimurium dan *Salmonella* Enteritidis diperoleh setelah waktu inkubasi pada suhu 37°C selama 16 jam sedangkan *Salmonella* sp. setelah waktu inkubasi 20 jam. Uji konfirmasi ketiga kultur *Salmonella* menunjukkan hasil positif *Salmonella* pada media TSIA/LIA.

Pada tahap inokulasi dan tanpa inokulasi dilakukan perlakuan sanitaisier terhadap tauge segar. Sanitaisier yang digunakan terdiri dari lima formula yaitu asam asetat 3%, H₂O₂ 3%, H₂O₂ 5%, kombinasi H₂O₂ 3% dan asam asetat 3%, serta kombinasi H₂O₂ 5% dan asam asetat 3%. Formula yang paling efektif (terbaik) untuk diterapkan dalam menurunkan jumlah *Salmonella* adalah kombinasi H₂O₂ 5% dan asam asetat 3% dengan besar penurunan sekitar 3.42 log₁₀ CFU/g. Pada evaluasi teknik aplikasi dan waktu kontak sanitaisier terbaik menunjukkan teknik perendaman dan waktu kontak 2 menit paling efektif menurunkan jumlah *Salmonella* dengan penurunan sebesar 3.15 log₁₀ CFU/g dan dapat menurunkan total mikroba sebesar 1.07 log₁₀ CFU/g.

Hasil pengujian pada tauge yang tidak diinokulasi ternyata tidak ditemukan *Salmonella*, sehingga tidak dilakukan analisis efektifitas sanitaisier terbaik dalam menginaktifkan *Salmonella*. Total mikroba pada tauge tanpa inokulasi setelah diaplikasikan sanitaisier terbaik hanya menurunkan sekitar 1.16 log₁₀ CFU/g..

Pada analisis kuantitatif H₂O₂ menunjukkan sampel tauge setelah perlakuan sanitaiser mengandung residu sekitar 0.0531% (531 ppm). Jika dibandingkan dengan aturan FDA mengenai batas maksimum residu untuk penggunaan H₂O₂ dalam sterilisasi bahan pengemas, residu H₂O₂ pada sampel tauge setelah perlakuan sanitaiser berada di atas batas maksimum yang diizinkan.

B. SARAN

Berdasarkan penelitian mengenai efektivitas sanitaiser H₂O₂ dan asam asetat yang telah dilakukan, maka penulis mengusulkan beberapa saran yaitu :

1. Penelitian perlu dikembangkan dengan penggunaan sanitaiser dari bahan lain dalam upaya menginaktivasi *Salmonella*.
2. Pengembangan teknik aplikasi lainnya selain teknik perendaman dan penyemprotan.
3. Pemberian inokulum *Salmonella* pada tahap inokulasi perlu dilakukan dengan jumlah yang lebih rendah (<10⁷ cfu/g) untuk mengetahui besar penurunan yang dihasilkan dan membandingkannya dengan hasil yang diperoleh pada penelitian ini.
4. Penggunaan kombinasi asam asetat dan H₂O₂ perlu dilakukan pada suhu yang lebih tinggi untuk meningkatkan efektifitasnya dalam menurunkan jumlah *Salmonella*.
5. Penerapan formula sanitaiser perlu diperbaiki untuk mengurangi residu H₂O₂ sampai batas maksimum yang diizinkan.

DAFTAR PUSTAKA

- AOAC International. 1992. FDA Bacteriological Analytical Manual. 7th edition.
- Ayres, J.C., J.O. Mundt, dan W.E. Sandine. 1980. Microbiology of Food. W.H. Freeman and Co., San Fransisco, CA.
- Baldry, M.G.C. 1983. The bactericidal, fungicidal, and sporicidal properties of hydrogen peroxide and peracetic acid. *J. Appl. Bacteriol.* 54:417-423.
- Beuchat, L.R., dan J.H. Ryu. 1997. Produce Handling and Processing Practices. University of Georgia, GA.
- Beuchat, L.R. 1998. Surface Decontamination of Fruit and Vegetables Eaten Raw : a review. Food Safety Unit, WHO.
- Beuchat, L.R., B.V. Nail, B.B. Adler, dan M.R.S. Clavero. 1998. Efficacy of spray application of chlorinated water in killing pathogenic bacteria on raw apples, tomatoes, and lettuce. *J. Food Prot.* 61:1305-1311.
- Beuchat, L.R., J.M. Farber, E.H. Garret, L.J. Harris, M.E. Parish, T.V. Suslow, dan F.F. Busta. 2001. Standarization of a method to determine the efficacy of sanitaizers in activating human pathogenic microorganism on raw fruits and vegetables. *J. Food Prot.* 64:1079-1084.
- Block, S.S. 1983. Disinfection, Sterilisation and Preservation. 3rd edition., Lea and Fabiger, Philadelphia.
- Brock, T.D., D.W. Smith, dan M.T. Madigan. 1984. Biology of Microorganisms. 4th edition. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, New Jersey.
- Cary, J.W., J.E. Linz, dan D. Bhatnagar. 2000. Microbial Foodborne Diseases. Techtomic Publishing Co., In., Lancaster, Basel.
- Chichester, D. F. dan F. W. Tanner, Jr. 1972. Antimicrobial Food Additives. *Di dalam* T. E. Furia. (ed). Handbook of Food Additives. CRC Press, Cleveland.
- David, J.R.D., R.H. Graves, dan V.R. Carison. 1996. Aseptic Processing and Packaging of Food. CRC Press, Boca Raton, New York.
- Davidson, P.M. dan A.L. Branen. 1993. Antimicrobials in Foods. 2nd edition. Marcel Dekker Inc., New York, Basel.
- Del Portillo, F.G. 2000. Molecular and Cellular Biology of *Salmonella* Pathogenesis. Di dalam J.W Cary, J.E. Linz, dan D. Bhatnagar (ed.).

- Microbial Foodborne Diseases. Technomic Publishing Co., In., Lancaster, Basel.
- Dewanti-Hariyadi R. 2002. Surveilans *Salmonella* pada Sayuran. Laporan Penelitian Direktorat Surveilans dan Penyuluhan Keamanan Pangan, Badan POM.
- Direktorat Gizi, Depkes RI. 1979. Daftar Komposisi Bahan Makanan. Bharata Karya Aksara, Jakarta.
- Fardiaz, S. 1992. Mikrobiologi Pangan 1. PT Gramedia Pustaka Utama, Jakarta.
- Fardiaz, S., Suliantari, dan R. Dewanti. 1988. Petunjuk Laboratorium Mikrobiologi Pangan. PAU Pangan dan Gizi. Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Furia, T.E. 1980. Regulatory Status of Direct Food Additives. CRC Press Inc. Boca Rotan, Florida.
- Garbutt, J. 1997. Essentials of Food Microbiology. Arnold, London, Sydney, Auckland.
- Gould, G. W. 1995. New Method of Food Preservation. Chapman and Hall. Glasgow.
- Hayes, P.R. 1995. Food Microbiology and Hygiene. 2nd edition. Chapman and Hall, London.
- ICMSF. 1996. Microorganisms in Foods 2. Sampling for Microbiological Analysis Principles and Specific Applications. 2nd edition. Univ. of Toronto Press, Toronto, Ontario, Canada.
- Imrie, B.C. 1991. Mungbean Sprout Production. Di dalam Mungbean : The Australian Experience. Proceedings of the First Australian Mungbean Workshop.
- Isyanti, M. 2001. Mutu Mikrobiologi Sayuran Lalap dari Pasar Tradisional di Daerah Bogor dan Pengaruh Perlakuan Pasca Panen Minimal Untuk Menjamin Keamanannya. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Jay, J.M. 2000. Modern Food Microbiology, 6th Edition. Aspen Publisher, Inc. Gaithersburg, Maryland.
- Kay, D.E. 1979. Food Legumes. Tropical Products Institute, London.
- Lang, M.M., B.H. Ingham, dan S.C. Ingham. 2000. Efficacy of novel organic acid and hypochlorite treatments for eliminating *Escherichia coli*

- O157:H7 from alfalfa seeds prior to sprouting. *Int. J. Food Microbiol.* 58:73-82.
- Lin, C.M., S.S. Moon, M.P. Doyle dan K.H. Mcwatters. 2002. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* serotype Enteritidis, dan *Listeria monocytogenes* on lettuce by hydrogen peroxide and lactic acid and by hydrogen peroxide with mild heat. *J. Food Prot.* 65:1215-1220.
- Lund, B.M., *et al.* 2000. *The Microbiological Safety and Quality of Food. Vol II.* Aspen Publisher, Inc. Gatherburg, Maryland.
- Marriot, N.G. 1999. *Principles of Food Sanitation.* 4th edition. Aspen Publishers Inc., Baithersburg, Maryland.
- Marshall, D.L., L.N. Cotton, dan F.A. Bai'a. 2000. Acetic Acid. Di dalam A.S. Naidu (ed). *Natural Food Antimicrobial System.* CRC Press, New York.
- Muchtadi, D. dan B. Anjarsari. 1996. *Penanganan Pasca Panen dalam Meningkatkan Nilai Tambah Komoditas Sayuran.* Balai Penelitian Tanaman Sayuran bekerjasama dengan Perhimpunan Fitopatologi Indonesia Komda Bandung dan CIBA Plant Protection.
- Naidu, A.S. 2000. *Natural Food Antimicrobial System.* CRC Press, New York.
- Novary, E.W. 1999. *Penanganan dan Pengolahan Sayuran Segar.* Penebar Swadaya, Jakarta.
- Pelczar Jr., M.J. dan E.C.S. Chan. 1988. *Elements of Microbiology.* Terjemahan R.S Hadioet., T. Imas, S.S. Tjitrosomo dan S.L. Angka. *Dasar-dasar Mikrobiologi 2.* Penerbit UI Press, Jakarta.
- Rahmadi, A. 2002. *Aplikasi Bakteri Asam Laktat untuk Meningkatkan Keamanan dan Umur Simpan Buah Apel Manalagi (Malussylvestris Mill) Olah Minimal.* Fateta. TPG. IPB, Bogor.
- Roberts, T.A. 1996. *Microorganisms in Foods.* Blackie Academic and Professional Chapman and Hall, New York.
- Sapers, G.M. dan G.F. Simmons. 1998. Hydrogen peroxide disinfection of minimally processed fruit and vegetables. *Food Technology.* Vol 52 (2) : 48-52.
- Smulders, F. J. M. *Preservation by Microbial Decontamination.* Di dalam G. W. Gould. (ed). 1995. *New Method of Food Preservation.* Chapman and Hall. Glasgow.
- Supardi, I. dan M. Sukanto. 1999. *Mikrobiologi dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan.* Penerbit Alumni, Bandung.

- Susilawati, A. 2002. Keamanan Mikrobiologi dan Survei Lapangan Sayuran di Tingkat Petani dan Pasar Tradisional di Daerah Bogor. Skripsi. Jurusan Teknologi Pangan dan Gizi. Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Suslow, T.V., J. Wu, W.F. Fett, dan L.J. Harris. 2002. Detection and elimination of *Salmonella* Mbandaka from naturally contaminated alfalfa seed by treatment with heat or calcium hypochlorite. *J. Food Prot.* 65(3):452-458.
- The Merck Index. 1989. Di dalam Naidu, A.S. 2000. Natural Food Antimicrobial System. CRC Press, New York
- Turner, F.J. 1983. Hydrogen Peroxide and Other Oxidant Disinfectants. Di dalam Disinfection, Sterilisation dan Preservation. 3rd ed., edited by S.S. Block, Lea and Febiger, Philadelphia
- Ukuku, D.O. dan G.M. Sapers. 2001. Effect of sanitizer treatments on *Salmonella stanley* attached to surface on *cantaloupe* and cell transfer to fresh-cut tissues during cutting practices. *J. Food Prot.* 64: 1286-1291.
- Venkitanarayanan, K.S., C.M. Lin, H. Bailey, dan M.P. Doyle. 2002. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella enterica* Serotype Enteritidis, dan *Listeria monocytogenes* on apples, orange, and tomatoes by lactic acid with hydrogen peroxide. *J. Food Prot.* 65:100-105.
- Young, K.W., S.L. Newmann, A.S.Mc. Gill, dan R. Hardy. 1982. The Use of Dilute Solutions of H₂O₂ of White Fish Fless. Di dalam J.J. Connel (ed.). *Advances in Fish Science and Technology*. Fishing News Books Ltd. Farnham, Surrey. England, hal 242-254.

www.jlindquist.net/generalmicro/dfmultinf.html/17 Oktober 2003.

www.terriscscience.org/lessonsexchange/genchem TDS/104 Hydrogen Peroxide pdf/ 25 Juni 2003.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Reaksi biokimia berbagai jenis bakteri pada media *Triple Sugar Iron Agar* (TSIA)

	C	1	2	3	4	4A	5
corresponding tube no. above		1	2	3	4*		5
deamination of amino acids (aerobic alkaline rx.)		+	+	+	+		+
glucose fermentation (minor acid rx.)		-	+	+	+		+
lactose and/or sucrose fermentation (major acid rx.)		-	-	-	+		+
H ₂ S production (black color)		-	-	+	-		***
typical examples	<i>Pseudomonas</i> (a non-enteric)	<i>Morganella</i> <i>Providencia</i> <i>Shigella</i>	<i>Citrobacter</i> <i>Salmonella</i> <i>Edwardsiella</i>	<i>E. coli</i> <i>Enterobacter</i> <i>Klebsiella</i>	<i>Proteus</i> H ₂ S+ <i>E. coli</i> lactose+ <i>Salmonella</i>		
<p>* Tube 4: Much gas is often seen for this tube, evidenced by cracks in the medium. Also, methyl red-negative organisms which ferment lactose and/or sucrose may show a "reversion" toward an alkaline reaction as neutral products are formed from some of the acid. Note the slight orange to red color at the tip of the slant in tube 4A. How might such a tube look at two or more days of incubation? (Regarding the methyl red test, recall the activities of enterics in MR-VP Broth which are illustrated here.)</p> <p>** Tube 5: Enough acid can be produced to cause the black iron sulfide precipitate to break down and not be seen. In this case, the tube will look like tube 4.</p>							

Lampiran 2. Reaksi biokimia berbagai jenis bakteri pada media *Lysine Iron Agar* (LIA)

	c	1	2	3	4
corresponding tube no. above		1	2	3	4*
deamination of amino acids (aerobic alkaline rx.)		+	+	+	+
deamination of lysine (dark red slant)		-	+	-	-
decarboxylation of lysine (anaerobic alkaline rx.)		-	-	+	+
glucose fermentation (acid rx.)		+	+	+	+
typical examples		<i>Citrobacter</i>	<i>Proteus</i> <i>Providencia</i> <i>Morganella</i>	<i>E. coli</i> <i>Enterobacter</i>	<i>Salmonella</i> <i>Edwardsiella</i>
* H ₂ S-positive reaction usually seen for <i>Salmonella</i> and <i>Edwardsiella</i> is shown for Tube 4. LIA is not as reliable an indicator of H ₂ S as are KIA and TSI.					

Lampiran 3. Cara analisis kuantitatif H₂O₂

a. Standarisasi Larutan KMnO₄ 0.1 N

Pembuatan Larutan 0.1 N KMnO₄

Kalium permanganat (KMnO₄) ditimbang sebanyak 3.2 g, kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades. Dididihkan selama 10-15 menit untuk mengusir semua oksigen yang terlarut, kemudian disimpan selama 1 malam. Kemudian disaring dengan asbes, diencerkan sampai 1 liter dengan akuades, dan disimpan dalam botol berwarna gelap. Setiap kali akan dipakai perlu distandarisasi.

Standarisasi KmnO₄

Ditimbang 0.3 g Na₂C₂O₄ murni yang telah dikeringkan pada suhu 105°C, dimasukkan ke dalam 250 ml H₂SO₄ (1:19) yang telah dididihkan selama 10 menit. Setelah larut semua kemudian dititrasi dengan larutan KMnO₄ yang akan distandarisasi sampai warna yang timbul nampak akan hilang (\pm dibutuhkan 34 ml larutan KMnO₄). Dipanaskan lagi sampai hampir mendidih, lalu dititrasi diteruskan perlahan-lahan sampai timbul warna merah jambu yang dapat bertahan selama 30 detik. Untuk lebih teliti dilakukan titrasi blanko (250 ml asam sulfat 1:19 tanpa penambahan Na₂C₂O₄) dengan cara yang sama.

Catatan : - Biasanya kebutuhan larutan KMnO₄ untuk titrasi blanko tidak kurang 0.05 ml.

- Kebutuhan larutan KMnO₄ adalah jumlah KMnO₄ pada titrasi pertama dikurangi dengan titrasi blanko.

Perhitungan :

$$N \text{ KmnO}_4 = \frac{\text{g Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}{0.067007 \times \text{ml KMnO}_4 \text{ yang dibutuhkan}}$$

b. Analisis H₂O₂

Ditimbang erlenmeyer 250 ml yang bersih dan kering. Dimasukkan 10 ml sampel, kemudian ditimbang kembali. Dicatat berat larutan sampel.

Ditambahkan 50 ml air destilata. Kemudian dilanjutkan dengan penambahan 15 ml H_2SO_4 3 M secara perlahan dan digoyangkan erlenmeyer setelah setiap penambahan. Buret diisi dengan KMnO_4 , dicatat volume awalnya. Sampel dititrasi, digoyangkan terus-menerus sampai membentuk warna pink minimal ± 1 menit. Warna akan lebih terlihat jika di bawah erlenmeyer ditaruh kertas putih. Dicatat volume akhir KMnO_4 pada buret. Titrasi diulangi untuk sampel yang ke-2.

Peringatan : - H_2SO_4 3 M merupakan *sufficiently concentrated* maka campuran akan panas.

- Penambahan H_2SO_4 ke dalam larutan dilakukan dengan perlahan sambil digoyangkan.

Perhitungan :

- Berat $\text{H}_2\text{O}_2 = \text{mol } \text{H}_2\text{O}_2 \times \text{berat molekul (BM) } \text{H}_2\text{O}_2$

- Persentase H_2O_2 (b/b) = $\frac{\text{berat } \text{H}_2\text{O}_2 \text{ (g)}}{\text{berat larutan sampel (g)}} \times 100\%$

Lampiran 4. Hasil perhitungan penetapan fase pertumbuhan *Salmonella*

Waktu (jam)	<i>Salmonella Typhimurium</i>		<i>Salmonella Enteritidis</i>		<i>Salmonella sp.</i>	
	SPC (CFU/ml)	Pertumbuhan (log ₁₀ CFU/ml)	SPC (CFU/ml)	Pertumbuhan (log ₁₀ CFU/ml)	SPC (CFU/ml)	Pertumbuhan (log ₁₀ CFU/ml)
0	2.7 x 10 ³	3.43	6.8 x 10 ³	3.83	2.8 x 10 ²	2.45
2	6.1 x 10 ³	3.79	2.3 x 10 ⁴	4.36	1.8 x 10 ³	3.25
4	1.6 x 10 ⁵	5.20	5.3 x 10 ⁵	5.72	2.4 x 10 ⁴	2.37
6	1.3 x 10 ⁷	7.11	1.6 x 10 ⁷	7.20	2.0 x 10 ⁵	5.30
8	-	-	-	-	1.3 x 10 ⁶	6.10
10	9.5 x 10 ⁸	8.98	3.3 x 10 ⁸	8.52	1.2 x 10 ⁷	7.08
12	9.0 x 10 ⁸	8.95	6.4 x 10 ⁸	8.81	1.1 x 10 ⁸	8.04
16	1.2 x 10 ⁹	9.08	1.1 x 10 ⁹	9.04	1.3 x 10 ⁹	9.11
20	1.5 x 10 ⁹	9.18	9.4 x 10 ⁸	8.97	1.1 x 10 ⁹	9.04
24	6.7 x 10 ⁸	8.83	1.3 x 10 ⁹	9.11	2.6 x 10 ⁹	9.41
30	8.2 x 10 ⁸	8.91	1.8 x 10 ⁹	9.26	4.9 x 10 ⁹	9.69
36	8.5 x 10 ⁸	8.93	1.8 x 10 ⁹	9.26	4.2 x 10 ⁹	9.62
42	6.9 x 10 ⁸	8.84	1.2 x 10 ⁹	9.08	4.3 x 10 ⁹	9.63
48	4.2 x 10 ⁸	8.62	1.2 x 10 ⁹	9.08	2.4 x 10 ⁹	9.38

Lampiran 5. Hasil perhitungan jumlah *Salmonella* dan penurunannya dengan perlakuan beberapa formula sanitaiser

Perlakuan	Jumlah <i>Salmonella</i> (CFU/g)	Jumlah <i>Salmonella</i> (log ₁₀ CFU/g)	Penurunan <i>Salmonella</i> (log ₁₀ CFU/g)
Kontrol	8.3 x 10 ⁴	4.92	-
Bilas air	9.5 x 10 ¹	1.98	2.94
Asam asetat (AA) 3%	1.7 x 10 ²	2.22	2.70
H ₂ O ₂ 3%	5.1 x 10 ¹	1.71	3.21
H ₂ O ₂ 5%	1.1 x 10 ²	2.06	2.86
H ₂ O ₂ 3% + AA 3%	6.8 x 10 ¹	1.83	3.09
H ₂ O ₂ 5% + AA 3%	3.2 x 10 ¹	1.50	3.42

Lampiran 6. Hasil perhitungan jumlah *Salmonella* dan penurunannya dengan perlakuan teknik aplikasi dan waktu kontak

Perlakuan	Jumlah <i>Salmonella</i> (CFU/g)	Jumlah <i>Salmonella</i> (\log_{10} CFU/g)	Penurunan <i>Salmonella</i> (\log_{10} CFU/g)
Kontrol	7.1×10^3	3.85	-
Bilas air	2.1×10^2	2.33	1.52
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3% (Perendaman, 2 menit)	0.5×10^1	0.70	3.15
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3% (Perendaman, 5 menit)	0.8×10^1	0.88	2.97
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3% (Penyemprotan, 2 menit)	4.0×10^1	1.60	2.25
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3% (Penyemprotan, 5 menit)	3.8×10^1	1.58	2.27

Lampiran 7. Hasil perhitungan total mikroba dan penurunannya dengan perlakuan beberapa formula sanitaisier

Perlakuan	Total Mikroba (CFU/g)	Total Mikroba (\log_{10} CFU/g)	Penurunan Total Mikroba (\log_{10} CFU/g)
Kontrol	8.5×10^7	7.93	-
Bilas air	5.0×10^7	7.70	0.23
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3% (Perendaman, 2 menit)	7.2×10^6	6.86	1.07
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3% (Perendaman, 5 menit)	2.1×10^6	6.33	1.60
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3% (Penyemprotan, 2 menit)	2.5×10^7	7.39	0.54
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3% (Penyemprotan, 5 menit)	5.3×10^7	7.72	0.21

Lampiran 8. Hasil perhitungan total mikroba pada tauge tanpa inokulasi

Perlakuan	Total Mikroba (CFU/g)	Total Mikroba (\log_{10} CFU/g)	Penurunan Total Mikroba (\log_{10} CFU/g)
Kontrol	1.9×10^8	8.28	-
Bilas air	9.7×10^7	7.99	0.29
H ₂ O ₂ 5% + Asam asetat 3%	1.4×10^7	7.12	1.16

Lampiran 9. Hasil standarisasi KMnO_4

Sampel	Berat $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$ (g)	Volume KMnO_4 (ml)	N- KMnO_4
1	0.3045	44.65	0.1020
2	0.3029	45.25	0.1001
Rata-rata			0.1011

Catatan : Volume untuk blanko = 0.1 ml

Lampiran 10. Cara perhitungan standarisasi KMnO_4

$$\begin{aligned} N \text{ KmnO}_4 (\text{ulangan 1}) &= \frac{\text{g Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}{0.067007 \times \text{ml KMnO}_4 \text{ yang dibutuhkan}} \\ &= \frac{0.3045}{0.067007 \times 44.65} \\ &= 0.1020 \end{aligned}$$

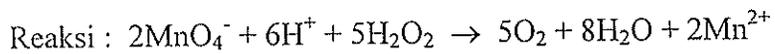
Maka :

$$\begin{aligned} N \text{ KMnO}_4 \text{ rata-rata} &= \frac{N \text{ KMnO}_4 \text{ ulangan 1} + N \text{ KMnO}_4 \text{ ulangan 2}}{2} \\ &= \frac{0.1020 + 0.1001}{2} \\ &= 0.1011 \end{aligned}$$

Lampiran 11. Hasil analisis kuantitatif residu H₂O₂

Sampel	Volume KMnO ₄ (ml)	mmol KMnO ₄	mol KMnO ₄	mol H ₂ O ₂	Berat H ₂ O ₂ (g)	Berat larutan H ₂ O ₂ (g)	% massa (b/b)
1	3	0.0607	6.07×10^{-5}	1.5165×10^{-4}	5.1561×10^{-3}	9.8711	0.0522
2	3.1	0.0627	6.27×10^{-5}	1.5671×10^{-4}	5.3280×10^{-3}	9.8836	0.0539
Rata-rata							0.0531

Lampiran 12. Cara perhitungan dan analisis kuantitatif residu H₂O₂



$$\text{mmol MnO}_4^- = \text{molaritas KMnO}_4 \times \text{volume KMnO}_4$$

$$= \frac{0.1011}{5} \times 3 \text{ ml}$$

$$= 0.0607 \text{ mmol}$$

$$= 6.07 \times 10^{-5} \text{ mol}$$

$$\text{mol H}_2\text{O}_2 = \frac{5}{2} \times 6.066 \times 10^{-5}$$

$$= 1.5165 \times 10^{-4}$$

$$\text{Berat H}_2\text{O}_2 = 1.5165 \times 10^{-4} \text{ mol} \times 34 \text{ g/mol}$$

$$= 5.1561 \times 10^{-3} \text{ g}$$

$$\% \text{ H}_2\text{O}_2 \text{ (b/b) ulangan 1} = \frac{\text{berat H}_2\text{O}_2}{\text{berat larutan H}_2\text{O}_2} \times 100\%$$

$$= \frac{5.1561 \times 10^{-3} \text{ g}}{9.8711 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 0.0522\%$$

$$\% \text{ H}_2\text{O}_2 \text{ (b/b) rata-rata} = \frac{\% \text{ H}_2\text{O}_2 \text{ (b/b) ulangan 1} + \% \text{ H}_2\text{O}_2 \text{ (b/b) ulangan 2}}{2}$$

$$= \frac{0.0522\% + 0.0539\%}{2}$$

$$= 0.0531\%$$

$$= \frac{0.0531 \text{ g}}{100 \text{ ml}} \times \frac{1000 \text{ mg}}{1 \text{ g}} \times \frac{1000 \text{ ml}}{1 \text{ l}}$$

$$= 531 \text{ mg/l}$$

$$= 531 \text{ ppm}$$