

1 PENDAHULUAN

Latar Belakang

Salah satu produk pangan yang menjadi sumber penyakit bawaan pangan karena cemaran *Salmonella* adalah daging ayam mentah. *Salmonella* Enteritidis yang umumnya mengontaminasi unggas (telur dan daging unggas) merupakan penyebab utama infeksi *Salmonella* di seluruh dunia. Diduga 20 juta kasus dan 140.000 kematian setiap tahun terjadi akibat *Salmonella* di seluruh dunia, dan diperkirakan 30% kasus salmonellosis akibat bawaan pangan berkaitan dengan daging unggas (Regalado-Pineda *et al.* 2020). Penelitian Yang *et al.* (2001) menunjukkan 30-50% daging unggas terkontaminasi oleh *Salmonella* sebanyak 1-30 CFU/karkas. Restika (2012) melaporkan bahwa 4 dari 24 sampel daging ayam mentah dari pasar tradisional di Tangerang Selatan positif terkontaminasi *Salmonella*. Penjualan daging ayam di pasar tradisional terutama di negara-negara tropis yang tidak menggunakan *refrigerator* atau dibiarkan terpapar pada suhu ruang dapat meningkatkan jumlah cemaran *Salmonella*. Hal ini terjadi karena daging ayam disimpan pada kondisi suhu menyimpang, yakni suhu penyimpanan yang menyimpang dari suhu yang seharusnya. Kondisi suhu menyimpang akan menyebabkan daging ayam terpapar pada *dangerous temperature zone*, yaitu rentan suhu yang dapat memicu pertumbuhan bakteri hingga mencapai jumlah yang dapat menyebabkan sakit (USDA 2011).

Berbagai penelitian telah mengevaluasi efek penyimpanan produk pangan pada kondisi suhu menyimpang terhadap pertumbuhan bakteri patogen. Penelitian Ingham *et al.* (2007) dan Oscar (2002; 2009) menunjukkan penyimpanan produk unggas (daging ayam dan kalkun) pada suhu menyimpang (di atas suhu 13°C) dapat meningkatkan cemaran *Salmonella*. Penelitian Brooks *et al.* (2008) juga menemukan penyimpanan daging sapi pada suhu menyimpang 0-2°C selama 5 hari dilanjutkan dengan penyimpanan suhu 10°C selama 5 hari dan kembali disimpan pada suhu 0-2°C selama 10 hari dapat meningkatkan pertumbuhan *Salmonella*. Penelitian lain oleh Ukuku dan Sapers (2007), Sant'Ana (2013), dan Huang *et al.* (2015) juga membuktikan penyimpanan produk sayur dan buah pada suhu menyimpang (di atas suhu 7°C dan suhu ruang) dapat menyebabkan pertumbuhan *Salmonella*.

Salah satu upaya untuk mengurangi cemaran *Salmonella* adalah dengan melakukan pencucian menggunakan senyawa penyanitasi seperti *ozone micro-bubble water* (OMBW) atau larutan sodium hipklorit (NaOCl). Saat ini NaOCl paling banyak digunakan sebagai senyawa penyanitasi pada industri pangan (International Programme on Chemical Safety 2000). Spektrum antibakteri yang luas dan kemampuan untuk larut dalam air menjadikan NaOCl sebagai salah satu pilihan utama pada proses sanitasi pangan, namun adanya kecenderungan untuk menghasilkan senyawa sampingan seperti gas klorin yang bersifat toksik membuat kekhawatiran untuk penggunaan NaOCl. Ozon banyak digunakan sebagai bahan penyanitasi karena memiliki sifat oksidatif yang tinggi sehingga dapat berfungsi sebagai senyawa antibakterial. Ozon juga diketahui aman untuk digunakan sebagai senyawa penyanitasi pada bahan pangan dan dikategorikan sebagai *Generally Recognized As Safe* (GRAS) karena tidak menghasilkan residu senyawa beracun ketika berinteraksi dengan komponen organik (Gonçalves 2009). *Ozone micro-bubble water* adalah air yang mengandung gelembung molekul ozon yang berukuran sangat kecil/mikro. Berbagai penelitian yang dilakukan

oleh Inatsu *et al.* (2011), Tirawat *et al.* (2014), Chuajedton *et al.* (2017) dan Phaephiphat dan Warapa (2018) telah membuktikan kemampuan ozon dan OMBW untuk mereduksi bakteri patogen seperti *Salmonella* pada berbagai produk pangan.

Alternatif lain untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella* selama penyimpanan pada kondisi suhu menyimpang adalah penggunaan agen biopreservatif. Bakteri asam laktat (BAL) telah banyak digunakan sebagai agen biopreservatif untuk berbagai produk pangan karena memiliki spektrum sifat antagonis yang luas terhadap berbagai patogen. Penelitian Tadesse *et al.* (2005), Purwohadisantoso *et al.* (2009), Szala *et al.* (2012), Ghanbari, *et al.* (2013) dan Rachmawati *et al.* (2016) telah membuktikan kemampuan BAL untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella*. Hasil penelitian Sakaridis *et al.* (2014) menunjukkan penurunan jumlah *Salmonella* spp dan *L. monocytogenes* pada sampel daging ayam mentah yang dinokulasi BAL. Selain itu, pengujian sensoris terhadap aroma dan penampakan daging ayam menunjukkan inokulasi dengan BAL dalam jumlah besar tidak menimbulkan bau maupun lendir.

Salah satu BAL yang mempunyai aktivitas antibakteri terhadap patogen adalah *Lactobacillus rhamnosus* R23. Penelitian Nuraida *et al.* (2008) menunjukan isolat BAL *L. rhamnosus* R23 mampu menghambat pertumbuhan patogen seperti *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, dan *Salmonella* Typhimurium. Nuraida *et al.* (2012) melaporkan bahwa *L. rhamnosus* R23 mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* enteropatogenik (EPEC) K1.1. Penelitian ini difokuskan untuk memilih senyawa dan konsentrasi penyanitasi yang diaplikasikan pada pencucian untuk mengurangi jumlah awal *Salmonella* dan mengevaluasi penambahan *L. rhamnosus* R23 untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella* pada daging ayam selama penyimpanan pada kondisi suhu menyimpang.

Perumusan Masalah

Daging ayam merupakan salah satu produk pangan yang paling banyak dikonsumsi masyarakat. Berdasarkan hasil Survei Sosial Ekonomi Nasional (Susenas) tahun 2019, konsumsi daging ayam ras adalah sebesar 12,79 kg/kapita/tahun. Kebutuhan daging ayam ras sampai bulan Mei 2020 diperkirakan sebesar 1.450.715 Ton (Kementan 2020). Daging ayam yang bebas dari kontaminasi bakteri patogen sangatlah diperlukan, namun produk ini mudah terkontaminasi oleh bakteri *Salmonella* jika disimpan pada suhu menyimpang. Pencucian menggunakan senyawa penyanitasi diperlukan untuk mengurangi kontaminasi awal *Salmonella* pada daging ayam. Penambahan BAL juga dapat menjadi alternatif untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella* selama penyimpanan pada suhu menyimpang sehingga dapat menjamin keamanan daging ayam yang dikonsumsi masyarakat.

Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi sumber informasi bagi peneliti dan masyarakat mengenai senyawa penyanitasi yang efektif untuk pencucian karkas ayam dan jumlah BAL yang paling potensial dalam menghambat pertumbuhan *Salmonella* spp selama penyimpanan.

Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk memilih senyawa dan konsentrasi penyanitasi yang diaplikasikan pada pencucian untuk mengurangi jumlah awal *Salmonella* dan mengevaluasi penambahan *L. rhmanosus* R23 untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella* pada daging ayam selama penyimpanan pada kondisi suhu menyimpang.

Hipotesis

Jenis dan konsentrasi senyawa penyanitasi yang digunakan pada pencucian daging ayam mempengaruhi jumlah awal *Salmonella*.

Penambahan BAL setelah pencucian dapat mempengaruhi pertumbuhan *Salmonella* pada daging ayam yang disimpan pada kondisi suhu menyimpang.

2 TINJAUAN PUSTAKA

Penyimpangan Suhu

Penyimpangan suhu atau *temperature abuse* adalah kondisi suatu produk pangan disimpan pada suhu yang tidak semestinya atau tidak sesuai dengan suhu yang direkomendasikan. Hal ini menyebabkan produk pangan terpapar pada *dangerous temperature zone*, yaitu rentan suhu untuk bakteri dapat bertumbuh dengan cepat hingga dapat mencapai jumlah yang dapat menyebabkan sakit. *Dangerous temperature zone* berkisar antara 4.5°C sampai 60°C (40-140°F) (USDA 2011). Semakin lama suatu produk pangan disimpan pada *dangerous temperature zone* maka akan meningkatkan kesempatan patogen untuk tumbuh.

Ingham *et al.* (2007) melakukan penelitian untuk melihat pertumbuhan *E. coli* O157:H7 dan *Salmonella* serovars pada daging babi mentah, unggas, dan kornet daging sapi. Perhitungan awal menunjukkan penurunan 0.2 log CFU/potong pada saat penyimpanan pada suhu 5°C selama 24 jam. Jumlah kontaminan mengalami peningkatan sebanyak 0.2 log CFU/potong setelah dipaparkan pada kondisi suhu menyimpang (9-11°C selama 8 jam atau ruang 20-24°C selama 2 jam). Meskipun terjadi peningkatan sebanyak 0.2 log CFU/potong pada daging yang disimpan di atas suhu 13°C (diatas penyimpangan suhu kronis) tidak menyebabkan pertumbuhan bakteri yang dapat mencapai tingkat bahaya (5-6 log sel) selama waktu penyimpanan tidak melebihi 8 jam pada 9-11°C atau 2 jam pada suhu ruang 20-24°C 2 jam. Penelitian lain oleh Ingham *et al.* (2007) menunjukkan terjadi penurunan lama waktu fase lag dan terjadi peningkatan laju pertumbuhan *Salmonella* seiring peningkatan suhu daging kalkun giling dari 10°C ke 43°C dengan interval 2.3°C. Brooks *et al.* (2008) mengamati peningkatan *Salmonella* sebanyak 2 log pada daging sapi giling yang disimpan pada suhu menyimpang (0-2°C selama 5 hari dilanjutkan dengan penyimpanan suhu 10°C selama 5 hari dan kembali disimpan pada suhu 0-2°C selama 10 hari). Berbagai kondisi oksigen kemasan tidak menunjukkan pengaruh yang signifikan karena semua sampel menunjukkan terjadi pertumbuhan *Salmonella*. Pada pengujian *microbial predictive* yang dilakukan oleh Oscar (2002) pada daging ayam matang menunjukkan terjadi penurunan durasi fase lag dari 46.79 jam (8°C) ke 0.93 jam (48°C) seiring dengan peningkatan suhu. Laju pertumbuhan *Salmonella* mengalami peningkatan dari 0.0059

log CFU/jam pada suhu 8°C menjadi 0.2514 log CFU/jam pada suhu 48°C yang menunjukkan terjadi peningkatan populasi *Salmonella* seiring peningkatan suhu penyimpanan. Pengujian lain yang dilakukan Oscar (2009) pada kulit ayam mentah menunjukkan penyimpanan pada kondisi suhu menyimpang pada suhu 25-45°C selama 8 jam dapat meningkatkan jumlah *Salmonella* Typhimurium DT104. Pertumbuhan optimal *Salmonella* diperoleh pada suhu 40°C dengan lama fase lag 2.5 jam dan laju pertumbuhan spesifik 1.1 log CFU/jam.

Penelitian Sant'Ana (2013) mengamati pertumbuhan *Salmonella enterica* pada *lettuce* siap makan menunjukkan adanya peningkatan jumlah *Salmonella enterica* seiring peningkatan suhu (7, 10, 15, 20°C) yang ditandai dengan menurunnya durasi fase lag dan peningkatan laju pertumbuhan. Penelitian Huang *et al.* (2015) menemukan pada belawah yang baru dipanen, *Salmonella* tumbuh setelah penyimpanan selama 1 minggu pada kondisi suhu menyimpang. Jumlah *Salmonella* meningkat sebanyak -0.26, -0.39, dan 2.23 log CFU/unit pada suhu 4° (kontrol), 8°, dan 12°C (*chronic temperature abuse*). Pada kondisi suhu ruang selama 30 menit, jumlah *Salmonella* meningkat sebanyak 2.18 log CFU/unit. Penelitian Ukuku dan Sapers (2007) menunjukkan penyimpanan potong buah segar pada suhu 10°C selama 12 hari dapat menyebabkan peningkatan jumlah *Salmonella* sebanyak 2-3 log CFU/g pada semangka, 1.9-3 log CFU/g pada *honeydew*, dan 2-3.6 log CFU/g pada blewah.

Salmonella spp

Salmonella adalah patogen penyebab sakit bawaan pangan yang telah dikenal secara global. *Salmonella* dapat ditemukan di alam secara luas sehingga kemungkinan untuk mengontaminasi makanan mentah sangatlah tinggi. *Salmonella* dapat bersiklus/berpindah dari *host* ke lingkungan dan kembali ke *host* lain melalui air, tanah, dan hewan. Unggas dapat menjadi *host* bagi transmisi *Salmonella* ke manusia dapat terjadi melalui oral atau *fecal* (Tirado *et al.* 2010). *Salmonella* dapat bertahan selama berminggu-minggu di air dan bertahun-tahun di tanah jika kondisi lingkungan (suhu, kelembapan dan pH) mendukung (Podolak 2010). Berbagai strain *Salmonella* telah diketahui mengontaminasi berbagai produk pangan asal hewani. *Salmonella* Enteritidis umumnya dikaitkan dengan produk unggas (telur dan daging unggas) yang menjadi penyebab utama infeksi *Salmonella* di seluruh dunia (Regaldo-Pineda *et al.* 2020). Keberadaan *Salmonella* di hewan unggas, terutama ayam dan kalkun, diyakini sebagai faktor utama dalam transmisi bakteri ini dari telur dan daging unggas ke manusia (Antunes *et al.* 2015). Diduga 20 juta kasus dan 140.000 kematian setiap tahun terjadi akibat *Salmonella* di seluruh dunia, dan diperkirakan 30% kasus Salmonellosis akibat bawaan pangan berkaitan dengan daging unggas (Regaldo-Pineda *et al.* 2020). Di Indonesia, Salmonellosis adalah salah satu penyakit endemik tertinggi dengan jumlah kasus berkisar pada 358-810/100 orang setiap tahun (Dewi *et al.* 2015). Kasus *outbreaks* *Salmonella* yang disebabkan produk unggas dapat dilihat pada Tabel 1. Produk unggas dapat terkontaminasi oleh *Salmonella* melalui berbagai skema. Penelitian oleh Yang *et al.* (2001). Mendapatkan 30-50% karkas unggas terkontaminasi *Salmonella* sebanyak 1-30 CFU/karkas. Penelitian Restika (2012) menemukan 4 dari 24 sampel karkas ayam mentah yang dijual di pasar tradisional di Tanggerang Selatan terkontaminasi *Salmonella*. Penelitian Ingham *et al.* (2007) merekomendasikan agar penyimpanan daging unggas tidak melebihi 8 jam pada suhu

antara 5 dan 10°C atau lebih dari 2 jam pada suhu antara 5 dan 22°C sebagai batas kritis aman. Hal ini ditujukan untuk mencegah pertumbuhan patogen *Salmonella* sp. Standar Nasional Indonesia: SNI 3924 (2009) menetapkan karkas ayam dapat disimpan dalam kondisi segar, dingin, maupun beku. Karkas segar disyaratkan diolah tidak lebih dari 4 jam setelah proses pemotongan. Karkas segar dingin harus memiliki suhu bagian dalam daging (*internal temperature*) antara 0°-4°C, sedangkan karkas beku memiliki suhu bagian dalam -18°C. *United States Food & Drug Administration* (2001) menyatakan penyimpanan suhu 5°C dianggap aman untuk mencegah pertumbuhan patogen non-psikotropis pada pangan yang berpotensi tercemar bahaya (*potentially hazardous foods*).

Tabel 1 Kasus *outbreaks Salmonella* yang berhubungan dengan produk unggas

Serotype	Sumber	Tahun	Daerah	Jumlah kasus
Enteritidis	Daging ayam	2015	A.S	3
Enteritidis	Daging ayam	2015	A.S	9
Hadar	Daging kalkun	2010-2011	A.S	12
Heidelberg	Daging ayam	2013-2014	A.S, Puerto Rico	634
Heidelberg	Daging ayam	2013	A.S	9
Heidelberg	Daging ayam	2012-2013	A.S	134
Heidelberg	Daging ayam	2011	A.S	190
Heidelberg	Daging kalkun	2011	A.S	136
Infantis	Daging ayam potong	2007-2009	Israel	-
Infantis	Daging ayam & ayam potong	2004-229	Eropa	-
Kentucky	Daging ayam & kalkun	2002-2013	Eropa, Afrika, Asia	-
Stanley	Daging kalkun	2011-2013	Eropa	710

Antunes *et al.* (2015)

Senyawa Penyanitasi

Bahan kimia umum digunakan dalam proses sanitasi dan disinfeksi produk dan peralatan pada industri pangan. Senyawa kimia yang digunakan harus mampu menjamin bahwa produk yang dihasilkan terbebas dari cemaran mikroorganisme yang dapat menyebabkan penyakit bawaan pangan (Phaephaphat dan Warapa 2018). Senyawa penyanitasi (*sanitizer*) dan senyawa disinfektan adalah senyawa kimia yang digunakan untuk menurunkan tingkat kontaminasi pada produk dan peralatan pangan. Perbedaan sanitasi dan disinfeksi dapat digambarkan sebagai berikut: sanitasi adalah proses menurunkan mikroorganisme yang berkaitan dengan kesehatan masyarakat ke level aman yang telah ditetapkan oleh regulasi. Disinfeksi adalah proses membunuh atau menginaktivasi bakteri dan kapang, tidak harus beserta spora, pada permukaan keras (United States Food and Drugs Administration 2006).

Efisiensi senyawa kimia yang digunakan untuk sanitasi bergantung pada kemampuan senyawa tersebut untuk menurunkan tingkat kontaminasi. Standar sanitasi untuk menurunkan kontaminasi pada permukaan bahan pangan yang umum diterima adalah 99.999% (5 log reduksi) dalam 30 detik (*Official Detergent Sanitizer Test*) (AOAC 2009). Standar sanitasi untuk permukaan produk non-pangan adalah 99.9% (3

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang
1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPBUniversity.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPBUniversity.

log reduksi) dalam 30 detik. Disisi lain, disinfektasi harus mampu membunuh dan menginaktivasi semua mikroorganisme target dalam waktu tertentu, umumnya 10 menit. Beberapa senyawa kimia dapat berfungsi sebagai *sanitizer* dan disinfektan. Senyawa penyanitasi yang digunakan perlu diuji untuk menentukan konsentrasi/jumlah yang efisien untuk diaplikasikan. Konsentrasi yang terlalu rendah akan menurunkan efisiensi proses, sedangkan penggunaan konsentrasi yang terlalu tinggi dapat meninggalkan residu yang melebihi persyaratan keamanan. Konsentrasi dan waktu paparan yang spesifik perlu diperhatikan dan dipenuhi untuk mencapai level sanitasi yang ditetapkan. Sanitasi pangan harus memenuhi beberapa persyaratan seperti: (1) harus efisien dalam penggunaan; (2) aman bagi individu yang menggunakan; (3) tidak mempengaruhi rasa, aroma, maupun penampakan produk pangan; (4) mudah dihilangkan dan tidak meninggalkan residu yang bersifat racun; dan (5) mudah untuk diaplikasikan.

Sodium Hipoklorit (NaOCl)

Sodium hipoklorit umum digunakan sebagai senyawa penyanitasi pada industri pangan. Sifat antibakteri yang luas, bersifat oksidatif kuat, kelarutan yang tinggi dalam air, biaya produksi yang murah, dan mudah diproduksi menjadikan NaOCl sebagai salah satu pilihan utama pada proses sanitasi pangan (International Programme on Chemical Safety 2000). Dalam sanitasi pangan, klorin umumnya diaplikasikan dalam air untuk pencucian, perendaman, atau penyemprotan permukaan produk untuk secara signifikan membunuh bakteri, kapang, spora, dan virus ke level yang aman (Gardner dan Garret 2020). Klorin yang larut dalam air akan membentuk asam hipoklorit dan hipoklorit. Kedua senyawa ini mempunyai efek bakterisidal. Asam hipoklorit (HOCl) adalah asam lemah yang tidak stabil yang hanya terbentuk dalam larutan dan umum digunakan sebagai bahan pemutih, agen oksidatif, deodoran, dan senyawa penyanitasi. HOCl merupakan senyawa penyanitasi yang paling kuat dibandingkan bentuk klorin yang lain. Efek antimikroba HOCl disebabkan oleh kemampuan senyawa ini untuk menembus dinding sel mikroba karena memiliki sifat seperti air, dilihat dari ukuran molekul dan muatan elektron yang netral. Senyawa hipoklorit pada umumnya berupa garam sodium atau kalsium yang berikatan dengan asam hipoklorit membentuk sodium hipoklorit (NaOCl) atau kalsium hipoklorit (Ca(OCl)₂). Kedua senyawa ini merupakan senyawa penyanitasi yang efisien, lebih stabil dan mudah larut dalam air. Sodium hipoklorit (NaOCl) dibentuk dengan memproses senyawa alkali dengan gas klorin (International Programme on Chemical Safety 2000). Ketika sodium hipoklorit (NaOCl) dicampurkan ke dalam air, reaksi kesetimbangan terjadi antara senyawa hipoklorit dan asam hipoklorit. Reaksi yang terjadi berlangsung melalui skema:

Pertama, NaOCl larut dan lisis secara kimiawi di dalam air.



Selanjutnya, ion hipoklorit (OCl⁻) bereaksi dengan ion hidrogen dalam air membentuk asam hipoklorit



Pada reaksi tersebut terlihat sebagian besar senyawa klorin berada dalam bentuk asam hipoklorit. Ketika pH turun (dibawah pH 5), terjadi reaksi yang lain yang membentuk kesetimbangan antara asam hipoklorit dan klorin bebas. Molekul klorin bebas akan membentuk gas klorin (Cl₂) melalui reaksi:



Reaksi ini akan menghasilkan gas klorin yang perlu diwaspadai karena merupakan toksik kuat. Dengan kata lain, penambahan asam dalam larutan klorin perlu diperhatikan dengan mengontrol pH larutan.

Reaksi kimia antara senyawa hipoklorit dan air menunjukkan bahwa sanitasi menggunakan klorin paling efektif diaplikasikan pada rentang pH asam. pH yang direkomendasikan aman dan efektif untuk larutan sanitasi menggunakan klorin yaitu 6.5-7.5. Larutan dengan pH di bawah 6.0 mempunyai sifat lebih korosif dan larutan dengan pH di bawah 5.0 akan berpotensi membentuk gas klorin yang berbahaya. Larutan dengan pH di atas 8.0 kurang efektif untuk sanitasi.

Aktivitas bakterisidal NaOCl didasarkan pada pembentukan senyawa asam hipoklorit. Aktivitas antibakteri NaOCl juga disebabkan oleh reaksi intermediet oksigen seperti superoksida dismutase, katalase, dan peroksidase. Pembentukan *reactive oxygen substance* (ROS) juga diduga menjadi sumber aktivitas antibakteri NaOCl (Phaepphat dan Warapa 2018).

FDA (2011) menetapkan batas aman penggunaan sodium hipoklorit untuk sanitasi peralatan yang kontak dengan pangan yaitu tidak melebihi 200 ppm klorin bebas. Sodium hipoklorit yang digunakan kontak langsung dengan produk pangan, termasuk buah dan sayuran, ditetapkan tidak boleh melebihi 2000 ppm hipoklorit dalam air pencucian. Secara umum, penggunaan sanitasi dengan kandungan klorin bebas 200 ppm dan waktu paparan selama 1 menit atau lebih dianggap cukup untuk membunuh sel mikroba dalam proses sanitasi bahan pangan.

Ozone Microbubble Water (OMBW)

Ozone (O₃) adalah bentuk alotropik dari oksigen. Ozon terbentuk dari ledakan ledakan voltase tinggi di udara atau pada oksigen murni. Radiasi yang terjadi pada molekul oksigen akan menyebabkan senyawa oksigen pecah dan melepaskan molekul oksigen bebas. Molekul oksigen bebas akan berikatan dengan senyawa oksigen yang ada dan membentuk ozon. Sifat reaktif yang tinggi menyebabkan ozon mudah membentuk ikatan dengan komponen organik yang ada sehingga dapat dimanfaatkan sebagai agen penyanitasi dan disinfeksi (Gonçalves 2009).

Ozon telah banyak digunakan untuk prosedur sanitasi dan disinfeksi pada berbagai industri termasuk industri pangan. Penggunaan ozon sebagai senyawa penyanitasi telah diterapkan pada proses pengolahan air minum, produk laut, dan pengolahan limbah cair. Ozon merupakan salah satu senyawa antimikroba alami yang dapat mereduksi 99.9% mikroorganisme yang umumnya ditemukan di pangan karena memiliki kapasitas oksidasi yang kuat. Ozon telah dikategorikan sebagai GRAS (*Generally Reconized as Safe*) pada tahun 1997 di Amerika Serikat, dan pada 2001 FDA menyetujui penggunaan ozon untuk aplikasi pada produk pangan, termasuk ikan, daging dan produk unggas (Gonçalves 2009).

Ozon memiliki spektrum antimikrobia yang luas karena sifatnya yang sangat reaktif yang disebabkan oleh radikal bebas yang dihasilkan dari proses oksidasi. Ozon, baik dalam bentuk gas maupun cair, akan terurai menjadi radikal hidroksil, hidroperoksida, dan peroksida. Cara kerja ozon untuk mengaktifasi sel adalah proses yang rumit. Ozon dapat menyerang komponen membran sel (protein, enzim, lemak tak jenuh), sitoplasma (enzim, asam nukleat), dinding spora, dan kapsid pelindung virus.

Secara umum ada 2 mekanisme inaktivasi mikroorganisme oleh ozon. Pertama, ozon dapat mengoksidasi gugus sulfhidril dan asam amino dari enzim, peptida, dan protein untuk membentuk peptida yang lebih kecil selama paparan ozon berlangsung. Kedua, ozon dapat mengoksidasi asam lemak tak jenuh rantai panjang menjadi asam peroksida. Kedua mekanisme ini akan menyebabkan kerusakan pada dinding sel dan mengganggu sistem transpor intraseluler yang berakibat pada kebocoran sel. Penelitian lain menyatakan setelah merusak dinding sel, ozon dapat merusak komposisi dalam sel seperti membran sitoplasma, dan pada akhirnya menyerang struktur DNA sel bakteri. Kerusakan pada membran sel, terganggunya sistem transpor protein, dan kerusakan DNA akan menyebabkan kematian sel (Kim *et al.* 1999; Gonçalves 2009).

Aktivitas antimikroba ozon efektif terjadi pada pH 6-8.5. pada pH diatas 8, waktu paruh ozon akan menurun secara drastis. Waktu paruh ozon di udara berkisar antara 10-22 jam, bergantung pada suhu lingkungan. Kelarutan ozon dalam air sangat rendah dan gas ozon mudah terurai dari larutan (Tabel 2.) sehingga batas aman untuk penggunaan ozon dalam air tidak diregulasi. *Federal Occupational Safety and Health Administration* (OSHA) menetapkan batas paparan gas ozon sebesar 0.1 ppm selama 8 jam dan 0.3 ppm selama 15 menit. Paparan gas ozon diatas 4 ppm dapat bersifat letal. Manusia dapat mendeteksi bau ozon pada konsentrasi 0.01-0.04 ppm (Pryor *et al.* 2000).

Tabel 2 Waktu paruh dan kelarutan ozon vs. suhu

Gas		Larut dalam air (pH 7)		Kelarutan dalam air	
Suhu (°C)	Waktu paruh	Suhu (°C)	Waktu paruh	Suhu (°C)	Kelarutan (LO ₃ /LH ₂ O)
-50	3 bulan	15	30 menit	0	0.640
-35	18 hari	20	20 menit	15	0.456
-25	8 hari	25	15 menit	27	0.270
20	3 hari	30	12 menit	40	0.112
120	1.5 jam	35	8 menit	60	0
250	1.5 detik	-			

(Guzel-Seydim *et al.* 2004; Gonçalves 2009)

Penggunaan air yang mengandung ozon menunjukkan aktivitas bakterisidal sebanyak 5 log CFU/mL terhadap bakteri patogen bawaan pangan Gram-positif dan -negatif pada kultur cair (Inatsu *et al.* 2011). Tirawat *et al.* (2014) melaporkan bahwa air ozon pada konsentrasi 0.5 mg/L dengan waktu paparan selama 10 menit dapat mereduksi *S. Typhimurium* sebanyak 3.93 log CFU/mL dalam pengujian *in vitro*. Meskipun ozon memiliki aktivitas antimikrobial yang kuat, namun kelarutannya yang rendah dalam air menyebabkan penurunan efektivitas ozon untuk digunakan sebagai larutan penyanitasi pada produk pangan. Oleh karena itu, suatu teknologi alternatif diperlukan untuk meningkatkan kelarutan ozon dalam air dengan cara membentuk *ozone microbubble water* (OMBW). *Ozone micro-bubble water* (OMBW) adalah suatu teknik untuk menciptakan gelembung gas ozon berukuran mikroskopik dalam air. Ukuran gelembung yang dihasilkan dapat bervariasi dari 50-200 µm. Gelembung yang dihasilkan akan memperangkap ozon lebih lama dalam air sehingga lebih efisien digunakan dalam proses sanitasi. *Micro-bubbles* akan perlahan-lahan mengapung di

permukaan air atau cairan. Selama mengapung, ozon akan perlahan-lahan larut dan tinggal dalam air dibandingkan dengan kondisi normal. Hasilnya, keberadaan *micro-bubbles* akan meningkatkan luas permukaan kontak, lebih stabil dalam air, dan meningkatkan efektivitas proses sanitasi (Phaehiphat dan Warapa 2018). OMBW diketahui dapat mereduksi bakteri *E. coli* O157:H7 (5.0-7.4 log) lebih baik daripada air yang mengandung ozon pada proses dekontaminasi permukaan sayur berdaun (Chuajedton *et al.* 2017). Inatsu *et al.* (2011) melaporkan bahwa OMBW dapat mereduksi sel bebas *E. coli* O157:H7 sebanyak 7.4 log CFU/mL, namun pada sel yang menempel pada permukaan sayuran, penurunan yang terjadi hanya sebesar <2.0 log CFU/g. Pengujian *In vitro* pada 13 strain bakteri, seperti *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella* Enteritidis JCM1652, *Cronobacter sakazakii* JCM1233T, *Listeria monocytogenes* ATCC13932, *Staphylococcus aureus* JCM2413, dan *Lactobacillus plantarum* JCM1149 untuk mengevaluasi efek bakterisidal OMBW menunjukkan penurunan sebesar 5.0-7.4 log CFU/mL setelah dipaparkan pada 5.44 mg/L O₃ selama 3 menit pada suhu 25°C (Inatsu *et al.* 2011).

Bakteri Asam Laktat Sebagai Biopreservatif

Biopreservatif adalah penggunaan mikroorganisme untuk memperpanjang umur simpan dan/atau menjamin keamanan suatu produk pangan dengan menghambat pertumbuhan patogen. Biopreservatif dapat menggunakan kultur alami maupun kultur terkontrol dan produk antibakterial yang dihasilkannya. Mikroorganisme yang digunakan harus memiliki sifat antagonis terhadap pertumbuhan patogen dan tidak atau sedikit sekali merubah sensoris dari pangan.

Bakteri asam laktat (BAL) dianggap sebagai kandidat paling sesuai untuk diaplikasikan sebagai agen biopreservatif karena banyak digunakan dalam pangan terutama pangan fermentasi. BAL mempunyai riwayat penggunaan yang lama dan aman serta merupakan bagian dari mikroflora alami dalam sistem pencernaan manusia maupun hewan (Sakaridis *et al.* 2014). BAL diketahui memiliki spektrum penghambatan yang luas terhadap pertumbuhan patogen, baik bakteri Gram positif maupun negatif. Penghambatan pertumbuhan patogen disebabkan oleh kompetisi pemanfaatan nutrisi dan hasil metabolisme seperti asam-asam organik (asam laktat dan asam asetat), hidrogen peroksida, diasetil, reuterin, bakteriosin, dan hasil metabolisme lainnya yang mempunyai berat molekular rendah. Aktivitas antagonis BAL juga didasarkan pada kemampuan untuk menurunkan pH. Kondisi ini menyebabkan penurunan waktu ketahanan patogen pada proses pengolahan pangan. Penelitian Ghanbari *et al.* (2013) menemukan strain *L. casei* dan *L. plantarum* yang diisolasi dari ikan laut memiliki daya hambat terhadap berbagai bakteri G-positif dan negatif. Hasil tes menunjukkan kedua BAL dapat menghambat pertumbuhan bakteri patogen dan pembusuk seperti *Listeria innocua*, *L. monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas salmonicida*, *Bacillus cereus*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Brochotrix thermosphacta*, Gram-negatif *E. coli*, *Salmonella* dan *Pseudomonas*, *Clostridium perfringens* dan *Vibrio parahaemolyticus*. Hasil penelitian ini juga menunjukkan bakteri G-positif lebih sensitif terhadap bakteriosin yang dihasilkan daripada G-negatif.

Penelitian Szala *et al.* (2012) menunjukkan penggunaan 5 strain *L. plantarum* dan 1 strain *L. brevis* dalam kultur campuran dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella seftenberg* w775 secara total pada inkubasi setelah 24, 32, dan 40 jam. Diduga efek

penghambatan ini disebabkan oleh produksi asam laktat. Jumlah BAL tetap konstan hingga 48 jam inkubasi yaitu 10^7 - 10^8 CFU/mL. Hal ini menunjukkan pertumbuhan BAL tidak dipengaruhi oleh keberadaan *Salmonella*. Penelitian Sakaridis *et al.* (2014) menguji efek antagonis 6 strain BAL untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella* sp. pada kulit dan daging ayam mentah menunjukkan terjadi penurunan *Salmonella* sp. pada semua sampel yang dinokulasi BAL dengan *L. salivarius* menunjukkan aktivitas antagonis tertinggi dengan penurunan *Salmonella* sp. sebesar 0.51 log CFU/cm² setelah 6 hari penyimpanan pada suhu 7°C. Sebaliknya, jumlah BAL tidak berubah hingga lebih dari 6 hari penyimpanan. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan disebabkan oleh hasil metabolisme dengan atau tanpa adanya pertumbuhan sel. Pengujian sensoris terhadap aroma dan penampakan daging ayam menunjukkan inokulasi dengan BAL dalam jumlah besar (10^6 CFU/cm²) tidak menimbulkan bau maupun lendir.

Rachmawati *et al.* (2016) melakukan pengujian antibakteri BAL terhadap *E. coli* dan *S. aureus* dengan metode sumur. Hasil pengamatan menunjukkan 8 strain kultur bakteri dan supernatannya dapat menghambat pertumbuhan patogen. Daya hambat kultur BAL ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada media agar. Semakin besar diameter zona bening menunjukkan daya hambat yang semakin tinggi. Penghambatan ini disebabkan oleh produksi asam, bakteriosin, hidrogen peroksida, diasetil dan etanol. Penghambatan oleh supernatant netral tidak menunjukkan zona bening, artinya kondisi yang terjadi adalah *subinhibitory*, yaitu ada aktivitas penghambatan patogen tetapi daya hambatnya lemah. Penghambatan *subinhibitory* supernatant netral bakteri asam laktat lebih banyak dilakukan oleh senyawa antimikrobia selain bakteriosin yaitu hidrogen peroksida, etanol, dan diasetil. Penghambatan oleh kultur BAL lebih efektif dibandingkan dengan supernatant netral karena kandungan metabolit pada supernatant lebih sedikit. Selain itu, daya penghambatan oleh kultur BAL juga disebabkan oleh kompetensi nutrisi.

Tadesse *et al.* (2005) menguji aktivitas antibakteri kultur BAL yang diisolasi dari minuman fermentasi tradisional Etopia terhadap *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, *Salmonella* spp. and *Escherichia coli* O157:H7. Hasil isolasi 4 strain utama yaitu *Lactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* and *Leuconstoc*. Isolat *Lactobacillus* menunjukkan efek antibakteri yang tertinggi terhadap patogen. Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening dengan diameter 3-4 mm. *E. coli* menunjukkan sifat yang lebih resisten terhadap aktivitas antibakteri BAL dengan zona bening <3 mm. Penelitian Purwohadisantoso *et al.* (2009) pada pengujian antimikroba menggunakan empat bakteri patogen yaitu *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* dan *Salmonella* Typhimurium. Pemilihan bakteri uji ini mewakili bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus* dan *Listeria monocytogenes*) dan Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella* Typhimurium). Isolat BAL yang digunakan diperoleh dari sayur kubis. Hasil pengamatan menunjukkan ke-8 isolat BAL menunjukkan aktivitas antimikroba dengan terbentuknya zona bening. Kemampuan penghambatan tertinggi terhadap *Salmonella* Typhimurium ditandai dengan diameter penghambatan 11,60 mm, *Escherichia coli* dengan diameter penghambatan 11,53 mm, *Staphylococcus aureus* dengan diameter penghambatan 10,53 mm, dan *Listeria monocytogenes* dengan diameter penghambatan 11,67 mm. Penghambatan isolat BAL terhadap *Salmonella* Typhimurium secara umum lebih tinggi dari ketiga bakteri patogen lainnya yang ditandai dengan rata-rata diameter zona bening yang lebih tinggi dari ketiga bakteri patogen lainnya. Tingginya diameter penghambatan menunjukkan bahwa

Salmonella Typhimurium sensitif terhadap senyawa antimikroba yang dihasilkan isolat BAL. Penghambatan dapat terjadi karena senyawa antimikroba yang dihasilkan dapat menembus membran terluar dari bakteri Gram negatif. Membran terluar dari bakteri gram negatif bertindak sebagai pelindung dengan adanya lipopolisakarida yang menyebabkan resistensi sel dari berbagai macam zat, namun membran terluar dari bakteri Gram negatif ini masih mungkin dapat ditembus oleh senyawa lain yang disebut *permeabilizer* yang dapat menghancurkan lapisan lipopolisakarida dan meningkatkan permeabilitas membran terluar bakteri gram negatif. Salah satu zat yang dapat menembus periplasma membran terluar dari bakteri gram negatif adalah asam laktat. Penelitian Nuraida *et al.* (2012) melaporkan bahwa *L. rhamnosus* R23 mampu menghambat pertumbuhan *E. coli* enteropatogenik (EPEC) K1.1 penyebab diare. Penelitian Nuraida *et al.* (2008) juga menunjukan isolat BAL *L. rhamnosus* R23 mampu menghambat pertumbuhan patogen seperti *E. coli*, *B. cereus*, *S. aureus*, dan *Salmonella* Typhimurium

3 METODE

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Agro-Industri, Kasetsart University, Thailand dan Laboratorium Mikrobiologi dan Bioteknologi SEAFast (*Southeast Asian Food and Agricultural Science and Technology Center*), Institut Pertanian Bogor, bulan Januari 2018 hingga Januari 2019.

Alat dan Bahan

Bahan utama penelitian meliputi daging ayam segar yang diperoleh dari *retail* lokal di Bangkok (Thailand) dan Bogor (Indonesia). Kultur bakteri yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kultur *Salmonella* Enteritidis, dan *S. Heidelberg* dari Laboratorium Ilmu Pangan dan Teknologi Kasetsart University. *Lactobacillus rhamnosus* R23, *Salmonella* Enteritidis, *S. London*, *S. Newport*, *S. Hadar*, *S. Heidelberg*, dan *S. Kentucky* dari SEAFast CENTER IPB.

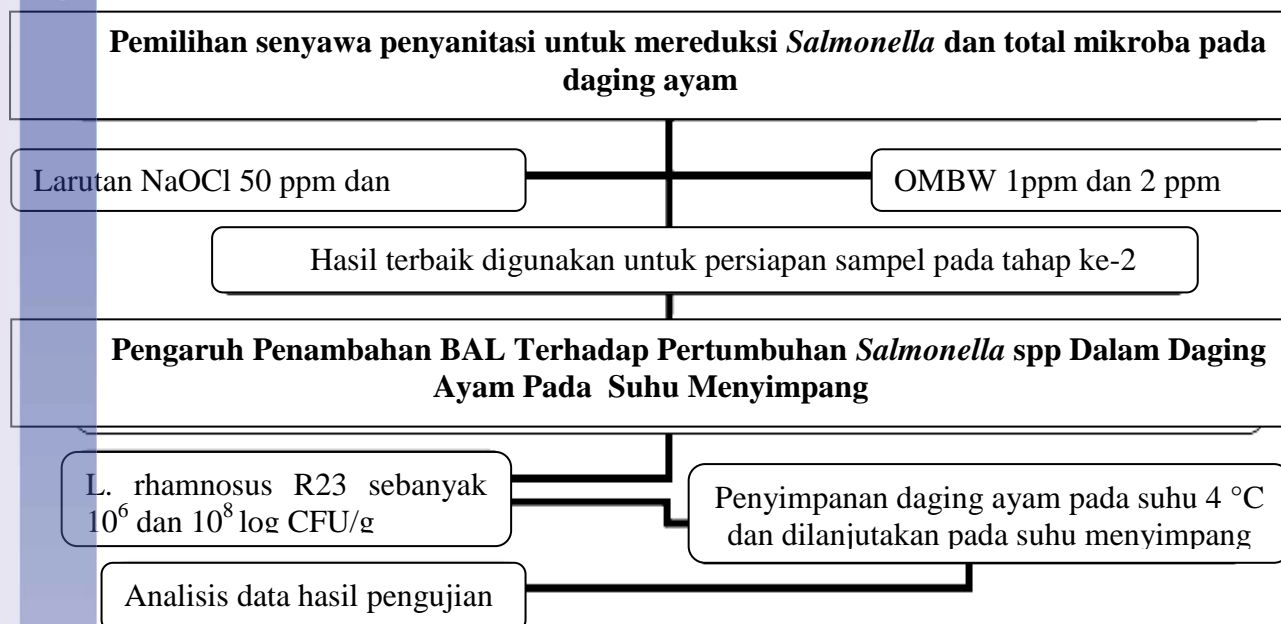
Bahan penyanitasi meliputi *ozone micro-bubble water* (OMBW) yang dihasilkan di Laboratorium Ilmu Pangan dan Teknologi Kasetsart University dan larutan stok sodium hipoklorit (cairan pemutih Haitei (Kao Industrial, Thailand) mengandung sodium hipoklorit 6% (v/v); Bayclin (PT Johnson Home Hygiene Products, Indonesia) mengandung sodium hipoklorit 5.25% (v/v)).

Media untuk analisa mikrobiologi meliputi Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar, Tryptic Soy Agar (TSA), Tryptic Soy Broth (TSB), Plate Count Agar (PCA), De Man, Rogosa, and Sharpe Broth (MRSB), and De Man, Rogosa, and Sharpe Agar (MRSA) (Merck, Darmstadt, Germany), Phosphate Buffer (KH₂PO₄), 0.1% Peptone water (Merck, Darmstadt, Germany), DPD tablet No.1 dan No.4 (ProMinent® HD-MMP 01. Germany), etanol (70%), dan air destilasi.

Alat yang digunakan diantara lain peralatan gelas, peralatan laboratorium dan analisa mikrobiologi, neraca analitik, *shaker waterbath*, Stomacher (Seward, UK), pH meter (Eutech pH 700, Eutech Instruments Pte Ltd., Singapore), Microbubble generator (Model: Microstar FS101-1, Fuki Manufacturing Co., Ltd., Japan), Ozone generator (Model: ED-0GR6, Ecodesign, Inc., LTD., Japan), dan N,N-Diethyl-p-phynylenduanamin (DPD) measuring photometer (DULCOTES DT1, ProMinent, Germany).

Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dalam 2 tahap. Pertama adalah pemilihan senyawa penyanitasi untuk mengurangi *Salmonella* spp. pada daging ayam mentah, dan kedua adalah aplikasi BAL untuk mengendalikan *Salmonella* dalam daging ayam mentah selama penyimpanan pada suhu menyimpang. Secara garis besar, rancangan penelitian disajikan pada Gambar 1.



Gambar 1 Diagram alir penelitian

Pengaruh Senyawa Penyanitasi untuk Mereduksi *Salmonella* spp dan Total Mikroba pada Karkas Ayam

Persiapan kultur *Salmonella*

Sebanyak 1 ose kultur *Salmonella* Enteritidis, *S. London*, *S. Newport*, dan *S. Heidelberg* dari stok kultur pada media Tryptic Soy Agar (TSA) diinokulasikan ke dalam masing-masing 9 mL media Tryptic Soy Broth (TSB) steril secara terpisah dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Sebanyak 1 ose dari setiap kultur digoreskan pada Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar menggunakan teknik gores kuadran dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Sebanyak 1 koloni terpisah dari setiap kultur diinokulasikan ke dalam masing-masing 9 mL media Tryptic Soy Broth (TSB) steril secara terpisah dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C. Selanjutnya, dari setiap strain diambil masing-masing 2,5 mL dan diinkubasikan kedalam 90 mL media Tryptic

Soy Broth (TSB) untuk membuat campuran strain (*cocktail mix*) lalu diinkubasi pada suhu 35°C selama 18 jam.

Persiapan *fillet* daging ayam

Daging ayam segar bagian dada yang diperoleh dari *retail* dikemas dalam plastik steril dan disimpan dalam *cooling box* untuk dikirim ke laboratorium. Selanjutnya daging ayam dipisahkan bagian daging dari kulitnya secara aseptis. Daging ayam kemudian dipotong-potong dan ditimbang sebanyak 300 gram.

Inokulasi *Salmonella*

Sebanyak 300 gram *fillets* daging ayam mentah bagian dada diinokulasi dengan 5 mL dari suspensi yang berisi kultur 10^8 log CFU/mL campuran strain (*cocktail mix*) *Salmonella* spp sehingga pada daging ayam diperkirakan berisi 10^5 - 10^6 log CFU/g. Kultur diinokulasi pada bagian tengah permukaan daging dan diratakan menggunakan *hockey stick* steril. Selanjutnya daging didiamkan dalam *laminary flow* selama 10 menit secara aseptis pada suhu ruang.

Persiapan larutan pencucian

Ozone microbubble water disiapkan menggunakan Microbubble generator (Model: Microstar FS101-1, Fuki Manufacturing Co., Ltd., Japan) dan Ozone generator (Model: ED-0GR6, Ecodesign, Inc., LTD., Japan) di dalam 40 L air destilasi pada tangki akrilik steril (ukuran lebar 30 cm x panjang 40 cm x tinggi 35 cm). Tangki akrilik sebelumnya didisinfektasi menggunakan etanol 70%. Konsentrasi ozon diukur menggunakan N,N-diethyl-p-phynylendiamin (DPDs) measuring photometer dan DPD tablet No.4 (ProMinent® HD-MMP 01. Germany). Pengukuran dilakukan sesaat sebelum proses pencucian.

Larutan sodium hipoklorit (NaOCl) disiapkan sesaat sebelum penggunaan dengan melarutkan cairan pemutih mengandung sodium hipoklorit 6% (v/v) (Haiteer, Kao Industrial, Thailand) ke dalam air destilasi hingga mencapai konsentrasi yang diinginkan. Kadar klorin bebas dihitung menggunakan N,N-diethyl-p-phynylendiamin (DPDs) measuring photometer dan DPD tablet No.1 (ProMinent® HD-MMP 01. Germany). Pengukuran dilakukan sesaat sebelum proses pencucian.

Proses pencucian

Sampel daging ayam dicuci secara terpisah menggunakan Air steril, OMBW 1 ppm, OMBW 2 ppm, NaOCl 50 ppm, dan NaOCl 100 ppm masing-masing sebanyak 3 liter (1:10; w/v) dan didiamkan pada *shaker water bath* 80 rpm selama 5 menit. Sampel kemudian ditiriskan secara aseptis selama 5 menit (modifikasi dari Phaephaphat dan Warapa 2018).

Penyimpanan daging ayam pada suhu 4°C dan suhu menyimpang

Daging ayam disimpan pada suhu $4 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 24 jam, dilanjutkan pada suhu $10 \pm 1^\circ\text{C}$ selama 4, 6, dan 8 jam, dan dilanjutkan pada suhu 30 ± 1 selama 2 jam.

Analisis Mikroba

Sebanyak 25 gram sampel *fillet* daging ayam dimasukkan ke dalam 225 mL air pepton 0.1% (Merck, Darmstadt, Germany) dan dihomogeni menggunakan *Stomacher* (Seward, UK) selama 120 detik. Seri pengenceran desimal disiapkan menggunakan suspensi yang telah homogen sebanyak masing-masing 10 mL dan dihitung pada media



spesifik. Jumlah *Salmonella* dihitung pada media Xylose Lysine Deoxycholate (XLD) Agar menggunakan teknik *spread plate* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Analisis total mikroba dilakukan dengan metode permukaan pada media Plate Count Agar (PCA) setelah inkubasi pada suhu 37°C selama 48±2 jam..

Pengaruh Penambahan BAL Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* spp dalam Daging Ayam pada suhu menyimpang

Persiapan kultur BAL

Sebanyak 1 mL kultur stok *Lactobacillus rhamnosus* R23 diinokulasikan ke dalam 9 mL media De Man, Rogosa, and Sharpe Broth (MRSB) steril dan diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dan selanjutnya inokulasikan kembali ke dalam media De Man, Rogosa, and Sharpe Broth (MRSB) dan diinkubasi selama 32 jam pada suhu 37°C.

Persiapan kultur *Salmonella* dan persiapan sampel daging ayam

Persiapan kultur *Salmonella* dilakukan seperti di atas. Strain yang digunakan yaitu *Salmonella* Enteritidis, *S. London*, *S. Newport*, dan *S. Heidelberg*. Persiapan sampel dan inokulasi *fillet* daging ayam dengan *cocktail mix Salmonella* dilakukan seperti di atas. Larutan sodium hipoklorit (NaOCl) disiapkan sesaat sebelum penggunaan dengan melarutkan cairan pemutih mengandung sodium hipoklorit 5.25% (v/v) (Bayclin; PT Johnson Home Hygiene Products, Indonesia). Sampel daging ayam yang sudah diinokulasi kemudian dicuci menggunakan larutan NaOCl 100 ppm sebanyak 3 liter (1:10; w/v) dan didiamkan pada *shaker water bath* 80 rpm selama 5 menit. Sampel kemudian ditiriskan secara aseptis selama 5 menit.

Inokulasi BAL

Sebanyak 3 mL inokulum *L. rhamnosus* R23 yang berisi masing-masing 10⁸ log CFU/mL dan 10¹⁰ log CFU/mL diinokulasi dibagian bagian tengah permukaan daging dan diratakan menggunakan *hockey stick* sehingga pada daging ayam diperoleh konsentrasi BAL sekitar 10⁶ dan 10⁸ log CFU/g. Selanjutnya sampel didiamkan selama 10 menit di dalam *laminary flow* pada suhu ruang. Sampel daging ayam disimpan pada suhu 4±1°C selama 24 jam, dilanjutkan suhu 10±1°C selama 2, 4, dan 6 jam, dan dilanjutkan pada suhu 30±1°C selama 2 jam (modifikasi dari Sakaridis *et al.* 2014)

Analisis Mikrobiologi

Perhitungan total *Salmonella* dan TPC dilakukan seperti di atas. Analisis total BAL dilakukan dengan mengambil sebanyak 25 gram sampel *fillet* daging ayam dan dimasukkan ke dalam 225 mL buffer KH₂PO₄ dan dihomogeni menggunakan *Stomacher* (Seward, UK) selama 120 detik. Seri pengenceran desimal disiapkan menggunakan suspensi yang telah homogen sebanyak masing-masing 10 mL dan dihitung pada menggunakan media MRS agar dengan teknik metode tuang dan diinkubasi suhu 37°C selama 48 jam.

Metode Analisis

Suhu internal

Pengujian suhu internal sampel daging ayam dilakukan menggunakan termometer *glass* dengan cara menusukkan termometer pada titik tengah daging selama -2 menit dan dibaca pada saat suhu mencapai nilai stabil (modifikasi dari USDA 2011).

Derajat keasaman (pH)

Sebanyak 25 gram sampel *fillet* daging ayam dan dimasukkan ke dalam 225 mL air destilasi dan dihomogeni menggunakan *Stomacher* (Seward, UK) selama 120 detik. Pengukuran nilai pH dilakukan menggunakan pH meter (Eutech pH 700, Eutech Instruments Pte Ltd., Singapore). pH meter dihidupkan selama 15 sampai 30 menit. Sebelum dilakukan pengukuran pH sampel, pH meter distandarkan menggunakan larutan bufer pH 4, 7 dan 10. Nilai pH dari 50 mL supernatan sampel diukur dan dibaca pada saat nilai stabil (AOAC 1994).

Analisis Total Asam Tertitrasi

Total asam tertitrasi (TAT) diukur menggunakan metode titrasi menggunakan 0.1 N NaOH dan indikator fenolftalein. Sebelumnya dilakukan standarisasi NaOH yang akan digunakan. Standarisasi NaOH dilakukan dengan menimbang 0.1 g asam oksalat (MW = 216) dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer 250 mL. Asam oksalat kemudian ditambah 50 mL aquades dan 2-3 tetes indikator fenolftalein. Larutan dititrasi dengan larutan NaOH sampai terbentuk warna merah muda yang berlangsung selama 15 detik.

Pengukuran TAT dilakukan dengan mengambil sebanyak 50 mL supernatan sampel dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer kemudian ditambahkan tiga tetes indikator fenolftalein. Sampel dititrasi dengan NaOH 0.1 N untuk membentuk warna merah muda. TAT dihitung sebagai persentase ke dalam rumus berikut (AOAC 1995):

$$\%TAT = \frac{v \times N \times BM \times FP \times 100\%}{Vol\ sampel \times 1000}$$

Keterangan:

V	: volume NaOH untuk titrasi (mL)
V sampel	: volume sampel yang digunakan untuk titrat (mL)
N	: normalitas NaOH
BM	: berat molekul asam laktat (90)
FP	: Faktor pengenceran



Penghitungan koloni

Jumlah koloni kultur *Salmonella*, BAL dan TPC dapat dihitung setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Jumlah koloni yang tumbuh dihitung berdasarkan ketentuan sebagai berikut (BAM 2001):

- Cawan normal (25-250) koloni. Dihitung semua koloni (CFU) termasuk koloni yang berukuran sangat kecil. Dicatat pengenceran yang digunakan dan semua koloni yang terhitung.
- Cawan yang berisi lebih dari 250 koloni (CFU) hasilnya dicatat sebagai TBUD (terlalu banyak untuk dihitung). Namun, untuk cawan yang tidak terdapat koloni (CFU) yang tumbuh maka ditulis kurang dari 1 kali pengenceran terendah.
- Rumus perhitungan yang digunakan adalah:

$$N = \Sigma C / [(1 \times n_1) + (0.1 \times n_2) + \dots] \times d$$

Keterangan:

- N : jumlah koloni per mL/per gram produk
 ΣC : jumlah seluruh koloni yang dihitung
 n_1 : jumlah cawan pada pengenceran pertama yang terhitung
 n_2 : jumlah cawan pada pengenceran kedua yang terhitung
d : pengenceran pertama yang dihitung

Rancangan Percobaan

Penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL), dilakukan dengan empat kali ulangan pada tahap pertama dan tiga kali ulangan pada tahap kedua. Setiap ulangan dilakukan secara duplo. Analisis statistik dilakukan dengan *Analysis of Variance* (ANOVA) dan uji lanjut dengan *Duncan Multiple Range Test* (DMRT) Test menggunakan *softwear* SPSS 22.0 pada taraf nyata 5%.

4 HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengaruh Senyawa Penyanitasi Terhadap Jumlah *Salmonella* spp Pada Daging Ayam Mentah

Pencucian daging ayam mentah dengan menggunakan larutan OMBW, NaOCl, dan air steril pada berbagai konsentrasi dapat menurunkan cemaran *Salmonella* spp. Penurunan populasi terbanyak diperoleh pada pencucian menggunakan NaOCl 100 ppm yaitu 1.3 log CFU/g diikuti oleh larutan NaOCl 50 ppm, OMBW 1 ppm, larutan OMBW 2 ppm dan terendah adalah air steril (Tabel 3).

Tabel 3 Perubahan jumlah *Salmonella* setelah pencucian daging ayam mentah

Senyawa penyanitasi	Jumlah <i>Salmonella</i> awal (log CFU/g)	Jumlah <i>Salmonella</i> setelah pencucian (log CFU/g)	Penurunan <i>Salmonella</i> (log CFU/g)
Air steril (kontrol)	5.3	4.9	0.4 ^a
OMBW 1 ppm	5.1	4.2	0.9 ^b
OMBW 2 ppm	5.1	4.4	0.7 ^{ab}
NaOCl 50 ppm	5.6	4.6	0.9 ^b
NaOCl 100 ppm	5.6	4.2	1.3 ^c

^aAngka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji selang berganda Duncan)

Perlakuan pencucian dengan larutan NaOCl adalah perlakuan yang paling efektif untuk menurunkan jumlah cemaran awal *Salmonella* dibandingkan dengan kontrol. Jika dibandingkan dengan OMBW (1 dan 2 ppm), NaOCl 50 ppm tidak menunjukkan perbedaan efek penurunan yang signifikan ($p > 0.05$). Disisi lain, pencucian dengan NaOCl 100 ppm menunjukkan perbedaan yang signifikan ($p < 0.05$) dibandingkan dengan pencucian menggunakan OMBW atau air steril (Lampiran 11). Hasil dari penelitian ini menunjukkan NaOCl dapat menyebabkan kerusakan yang lebih besar pada sel dan mencegahnya untuk pulih kembali dibandingkan dengan OMBW. Asam hipoklorit yang dihasilkan dari pemecahan NaOCl dalam air memiliki aktivitas oksidasi yang tinggi dan muatan elektron yang netral sehingga dapat dengan mudah menembus membran sel bakteri. NaOCl bekerja dengan mempenetrasi membran sel dan mengganggu komponen dalam sel seperti enzim, RNA, protein, dll, sedangkan ozon bekerja dengan mengintervensi membran sel tanpa melakukan penetrasi ke dalam sel (Gonçalves 2009). Secara umum ada 2 mekanisme inaktivasi mikroorganisme oleh ozon. Pertama, ozon dapat mengoksidasi gugus sulfhidril dan asam amino dari enzim, peptida, dan protein untuk membentuk peptida yang lebih kecil selama paparan ozon berlangsung. Kedua, ozon dapat mengoksidasi asam lemak tak jenuh rantai panjang menjadi asam peroksida. Kedua mekanisme ini akan menyebabkan kerusakan pada membran sel dan mengganggu sistem transpor intrasel yang berakibat pada kebocoran sel (Kim *et al.* 1999; Gonçalves 2009). Penelitian Phaephiphat dan Warapa (2018) menunjukkan pencucian *sweet basil* dengan larutan NaOCl 50 dan 100 ppm lebih efektif untuk mereduksi *S. Typhimurium* dibandingkan dengan menggunakan OMBW 1 ppm pada suhu 30°C. Pencucian menggunakan ozon dengan konsentrasi yang tinggi

kurang efektif dikarenakan ketidakstabilan ozon dalam air, terutama pada suhu ruang ($\pm 30^{\circ}\text{C}$). Ozon akan lebih stabil larut dalam air jika kondisi lingkungannya bersuhu rendah/dingin (10°C). Penelitian Luiz *et al.* (2017) melaporkan pencucian ikan menggunakan air ozon pada berbagai kombinasi konsentrasi ozon dan suhu ($21^{\circ}\text{C} \times 0.35 \text{ ppm}$; $20^{\circ}\text{C} \times 0.45 \text{ ppm}$; $21^{\circ}\text{C} \times 0.60 \text{ ppm}$; $20^{\circ}\text{C} \times 0.80 \text{ ppm}$; $19^{\circ}\text{C} \times 1.7 \text{ ppm}$; $6 \times 5.1 \text{ ppm}$; $4^{\circ}\text{C} \times 7.2 \text{ ppm}$; dan $2^{\circ}\text{C} \times 9.1 \text{ ppm}$) selama 3 menit tidak dapat menghilangkan cemaran *Salmonella Typhimurium* (ATCC 14028). Adanya komponen organik juga dapat menurunkan efektivitas dari ozon karena adanya interaksi antara komponen organik tersebut dengan ozon sehingga menghambat kontak antara ozon dan sel bakteri. Kim *et al.* (1999) menyatakan efektivitas ozon akan menurun sering dengan keberadaan senyawa organik di sekitar sel bakteri. Senyawa organik akan menghambat kontak antara ozon dan dinding sel bakteri target sehingga efek oksidatif ozon pada sel bakteri menurun. Gonçalves (2009) menyatakan reaksi oksidasi klorin terjadi secara spesifik menyerang sistem enzim tertentu, sedangkan aktivitas oksidasi ozon berlangsung secara umum. Hal ini menjelaskan penurunan efektivitas ozon ketika berada di lingkungan yang terdapat banyak senyawa organik dibandingkan NaOCl.

Pengaruh Senyawa Penyanitasi Terhadap TPC Pada Daging Ayam Mentah

Jumlah awal TPC pada daging ayam setelah kontaminasi buatan adalah berkisar antara 5-6 log CFU/g. Setelah proses pencucian, terjadi penurunan TPC pada daging ayam pada semua perlakuan. Pencucian menggunakan larutan NaOCl 100 ppm menunjukkan penurunan jumlah TPC tertinggi yaitu 1.5 log CFU/g (Tabel 4).

Tabel 4. Perubahan TPC setelah pencucian daging ayam mentah

Senyawa penyanitasi	TPC awal (log CFU/g)	TPC setelah pencucian (log CFU/g)	Penurunan TPC (log CFU/g)
Air steril (kontrol)	5.5	5.3	0.2 ^a
OMBW 1 ppm	5.2	4.5	0.6 ^b
OMBW 2 ppm	5.2	4.8	0.3 ^{ab}
NaOCl 50 ppm	5.8	5.1	0.8 ^b
NaOCl 100 ppm	5.8	4.4	1.5 ^c

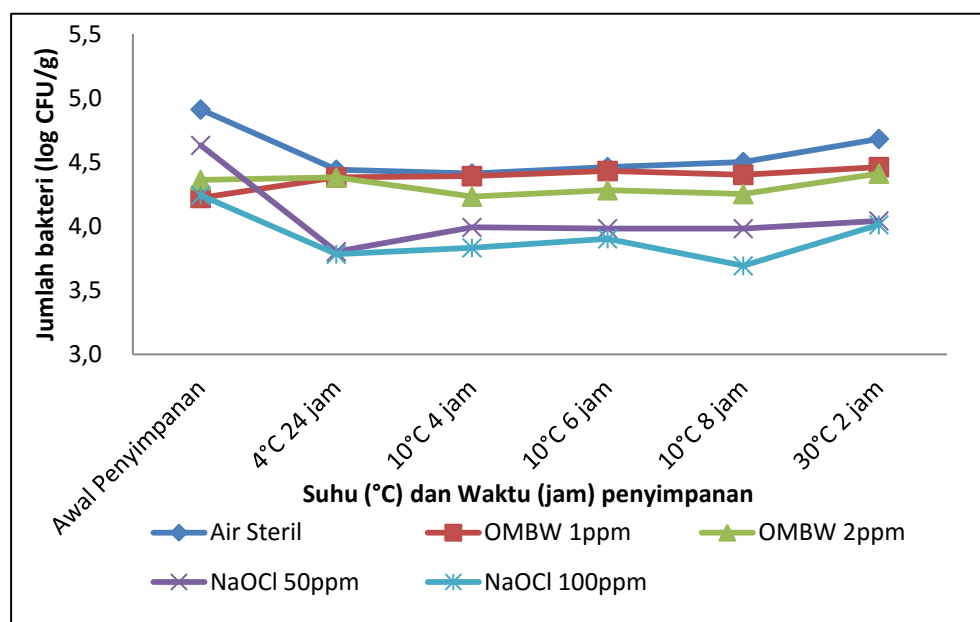
^aAngka-angka pada kolom yang sama yang diikuti oleh huruf yang sama tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji selang berganda Duncan).

Hasil penelitian ini menunjukkan terjadi penurunan TPC yang signifikan pada perlakuan pencucian dengan larutan NaOCl dibandingkan dengan pencucian dengan air steril ($p < 0.05$) (Lampiran 12). Jika dibandingkan dengan OMBW 1 ppm dan 2 ppm, perlakuan pencucian menggunakan larutan NaOCl 50 ppm tidak menunjukkan beda nyata ($p > 0.05$). Sebaliknya, pencucian dengan larutan NaOCl 100 ppm menunjukkan perbedaan penurunan TPC yang signifikan ($p < 0.05$). Rocky *et al.* (2017) menyatakan efek antibakteri sodium hipoklorit akan meningkat seiring dengan peningkatan suhu. Efek penurunan TPC terbanyak diperoleh saat pencucian pada suhu 30°C . Pendapat yang sama juga dijelaskan oleh Phaephiphat dan Warapa (2018) yang menyatakan pencucian pada suhu ruang (30°C) menggunakan NaOCl memberikan efek antimikroba terbaik untuk menurunkan bakteri kontaminasi, sedangkan pencucian dengan air ozon

akan lebih efektif jika dilakukan pada suhu dingin (10°C). Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian Rocky *et al.* (2017) yang melaporkan penurunan TPC sebanyak 0.83 log CFU/g pada daging burung puyuh yang dicuci dengan 50 ppm larutan klorin, sedangkan pencucian dengan air keran tidak berpengaruh signifikan pada penurunan total mikroba. Penelitian Allende *et al.* (2008) juga menemukan pencucian wortel parut menggunakan 200 ppm NaOCl secara signifikan menurunkan TPC, sedangkan pencucian dengan air keran tidak menurunkan total mikroba. Penelitian Pan dan Nakano (2014) menunjukkan terjadi penurunan TPC sebanyak 2.0 log CFU/g pada pencucian sayuran menggunakan larutan NaOCl 100 ppm selama 10 menit. Selain itu, Sukul dan Sheth (2012) juga melaporkan penurunan TPC sebanyak 1 log pada pencucian daun ketumbar menggunakan 200 ppm NaOCl, sedangkan pencucian dengan air keran tidak menurunkan TPC.

Pengaruh Senyawa Penyaniitasi Terhadap *Salmonella* spp dan TPC Pada Daging Ayam Selama Penyimpanan Pada Suhu Menyimpang

Penyimpanan pada suhu dingin $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam menurunkan cemaran *Salmonella* spp pada sampel daging ayam yang disanitasi menggunakan NaOCl dan air steril (kontrol) sebanyak 0.5 - 0.8 log CFU/g (Gambar 2). Hasil ini sejalan dengan penelitian Ingham *et al.* (2007) yang menunjukkan penurunan *Salmonella* sebanyak 0.2 log CFU/potong pada daging yang disimpan pada suhu 5°C selama 24 jam.



Gambar 2 Pertumbuhan *Salmonella* selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang pada daging ayam mentah yang diberi perlakuan (◇) air steril, (■) OMBW 1 ppm, (▲) OMBW 2 ppm, (×) NaOCl 50 ppm dan (*) NaOCl 100 ppm

Pada daging ayam yang dicuci dengan OMBW terjadi sedikit peningkatan namun tidak signifikan (0.2 log CFU/g) setelah penyimpanan pada suhu dingin $4\pm 1^{\circ}\text{C}$ selama 24 jam. Pada suhu $10\pm 1^{\circ}\text{C}$ (*moderate temperature abuse*) terjadi sedikit peningkatan

jumlah cemaran *Salmonella* spp setelah 8 jam penyimpanan pada daging ayam yang dicuci menggunakan OMBW 1 ppm sebanyak 0.2 log CFU/g. Sedangkan pada daging ayam yang diberi perlakuan pencucian menggunakan NaOCl 50 dan 100 ppm terjadi penurunan sebanyak 0.7 log. Jumlah *Salmonella* pada daging ayam yang dicuci dengan air steril juga menunjukkan penurunan sebanyak 0.4 log CFU/g setelah penyimpanan selama 8 jam pada suhu 10°C, namun banyaknya penurunan tidak berbeda signifikan ($p > 0.05$) dengan penurunan pada daging ayam yang dicuci dengan NaOCl dan OMBW (Lampiran 13). Hasil ini menunjukkan senyawa penyanitasi tidak memberi pengaruh yang signifikan terhadap pertumbuhan *Salmonella* spp selama penyimpanan pada suhu 10°C. Pada sampel daging ayam yang dicuci dengan OMBW 1 ppm dan disimpan pada suhu 30°C (*extreme temperature abuse*) selama 2 jam menunjukkan peningkatan sebanyak 0.2 log CFU/g dibandingkan dengan jumlah *Salmonella* spp pada awal penyimpanan. Pada sampel daging ayam yang dicuci dengan OMBW 2 ppm, jumlah *Salmonella* spp tidak berubah pada akhir penyimpanan selama 2 jam pada 30°C dibandingkan dengan jumlah awal. Pada daging ayam yang dicuci dengan NaOCl 50 dan 100 ppm, jumlah *Salmonella* spp mengalami penurunan sebanyak masing-masing 0.2 dan 0.6 log CFU/g setelah penyimpanan selama 2 jam pada suhu 30°C (Tabel 5), namun tidak berbeda nyata dengan penurunan pada daging ayam yang dicuci dengan air steril dan OMBW.

Tabel 5 Pengaruh senyawa penyanitasi terhadap perubahan jumlah *Salmonella* selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang

Suhu dan waktu penyimpanan	Perubahan jumlah <i>Salmonella</i> (log CFU/g) setelah pencucian dengan:				
	Air Steril	OMBW 1 ppm	OMBW 2 ppm	NaOCl 50 ppm	NaOCl 100 ppm
4°C 24 jam	-0,5 ^{aA}	0,2 ^{aA}	0,0 ^{aA}	-0,8 ^{aA}	-0,5 ^{aA}
10°C 4 jam	-0,5 ^{aA}	0,2 ^{aA}	-0,1 ^{aA}	-0,6 ^{aA}	-0,4 ^{aA}
10°C 6 jam	-0,5 ^{aA}	0,2 ^{aA}	0,1 ^{aA}	-0,7 ^{aA}	-0,3 ^{aA}
10°C 8 jam	-0,4 ^{aA}	0,2 ^{aA}	0,0 ^{aA}	-0,7 ^{aA}	-0,5 ^{aA}
30°C 2 jam	-0,2 ^{aA}	0,2 ^{aA}	0,2 ^{aA}	-0,6 ^{aA}	-0,2 ^{aA}

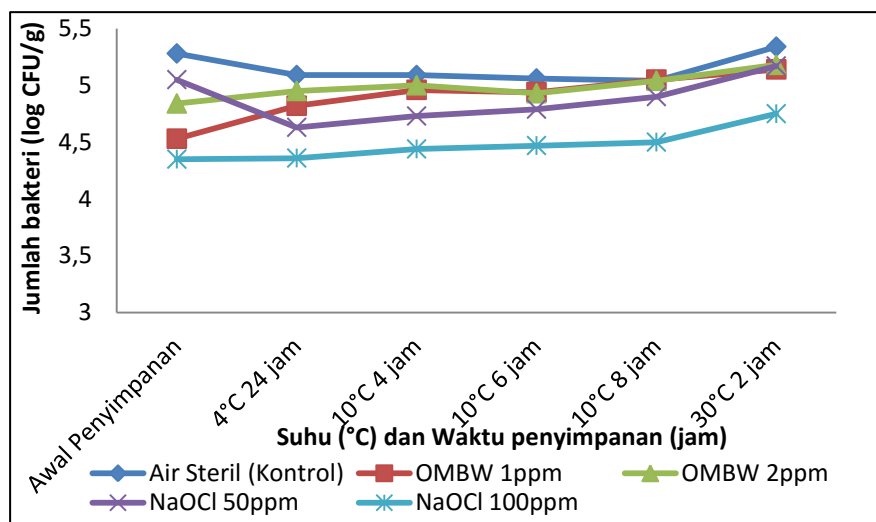
^aAngka-angka dan baris yang diikuti oleh huruf yang sama (huruf kecil pada kolom dan huruf kapital pada baris) tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji selang berganda Duncan)

^bTanda (-) menunjukkan penurunan jumlah koloni dibandingkan dengan jumlah koloni awal sebelum penyimpanan.

Allende *et al.* (2008) menjelaskan bahwa senyawa penyanitasi akan mereduksi jumlah kontaminasi awal, tetapi selama periode penyimpanan pada suhu refrigerasi bakteri yang bertahan dapat hidup dan tumbuh karena tidak ada lagi senyawa penyanitasi yang tersisa. Pada penelitian ini tidak terdeteksi residu senyawa penyanitasi, baik ozon maupun NaOCl setelah penyimpanan selama 24 jam pada suhu 4°C. Hal ini memungkinkan *Salmonella* untuk tumbuh terutama ketika dipaparkan pada kondisi suhu yang mendukung untuk pertumbuhan sel. Terjadinya pertumbuhan *Salmonella* pada suhu 30°C pada daging ayam yang sebelumnya disanitasi menggunakan OMBW

disebabkan oleh tidak adanya ozon yang tersisa setelah penyimpanan pada suhu dingin. Pada daging ayam yang disanitasi dengan NaOCl, terjadi penurunan *Salmonella* setelah penyimpanan pada suhu 30°C selama 2 jam yang menunjukkan sodium hipoklorit mampu merusak sel bakteri *Salmonella* dan mencegahnya tumbuh kembali meskipun dipaparkan pada suhu yang mendukung, namun penurunan yang terjadi tidak signifikan ($p > 0.05$) dibandingkan dengan penurunan pada daging ayam yang dicuci dengan air steril (Tabel 5) (Lampiran 13). Data perubahan jumlah *Salmonella* selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang pada daging ayam yang telah diberi perlakuan pencucian menggunakan air steril, OMBW dan NaOCl dapat dilihat pada Lampiran 1-5.

Penyimpanan pada suhu 4°C selama 24 jam menunjukkan penurunan populasi TPC sebanyak 0.2-0.4 log CFU/g pada sampel daging ayam yang dicuci dengan NaOCl atau air steril (Gambar 3), sedangkan pada daging ayam dengan penyanitasi OMBW 1 dan 2 ppm menunjukkan peningkatan TPC sebanyak 0.1-0.3 log CFU/g, namun perubahan TPC pada daging ayam dengan berbagai perlakuan sanitasi setelah penyimpanan pada suhu 4°C selama 24 jam tidak berbeda secara signifikan ($p > 0.05$) sehingga jumlah TPC cenderung stabil (Lampiran 6-10).



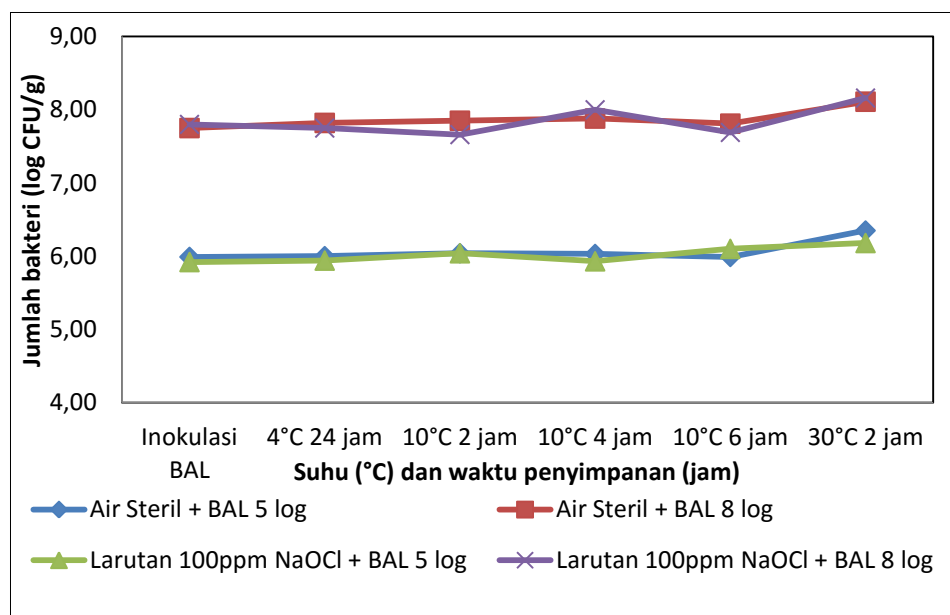
Gambar 3 Perubahan TPC selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang pada daging ayam mentah yang diberi perlakuan air steril (\diamond), OMBW 1 ppm (\blacksquare), OMBW 2 ppm (\blacktriangle), NaOCl 50 ppm (\times) dan NaOCl 100 ppm ($*$)

Penyimpanan daging ayam yang dicuci dengan NaOCl dan air steril menunjukkan penurunan TPC setelah penyimpanan selama 8 jam pada suhu 10°C sebanyak 0.1-0.2 log CFU/g. Sedangkan pada daging ayam yang dicuci dengan OMBW terjadi peningkatan TPC sebanyak 0.2-0.5 log CFU/g. Allende *et al.* (2008) menyatakan penggunaan senyawa penyanitasi yang berbeda akan mempengaruhi pertumbuhan total mikroba yang berbeda pada awal masa penyimpanan, namun pada akhir penyimpanan pertumbuhan bakteri kontaminan cenderung sama. Pada penelitian menggunakan wortel parut terlihat jumlah TPC yang lebih pada sampel yang tidak cuci dibandingkan dengan yang dicuci menggunakan NaOCl. Namun, pada akhir penyimpanan jumlah TPC pada sampel yang dicuci cenderung sama dengan sampel yang tidak dicuci.

Pada akhir penyimpanan selama 2 jam pada suhu 30°C terlihat kenaikan jumlah TPC pada semua sampel dibandingkan dengan jumlah awal penyimpanan. Jumlah peningkatan TPC pada daging yang diberi perlakuan sanitasi menunjukkan kenaikan yang hampir sama dengan kontrol. Hal ini menunjukkan senyawa penyanitasi efektif untuk mengurangi kontaminasi awal, tetapi tidak berpengaruh nyata selama proses penyimpanan. Peningkatan TPC pada daging ayam yang disimpan pada suhu 30°C selama 2 jam dikarenakan oleh kondisi suhu lingkungan yang mendukung untuk tumbuhnya bakteri cemaran, namun peningkatannya dibawah <1 log CFU/g (Gambar 3).

Pengaruh BAL Terhadap *Salmonella* spp dan TPC Selama Penyimpanan Daging Ayam Mentah Pada Suhu Menyimpang

L. rhamnosus R23 yang diinokulasikan pada daging ayam yang mengandung *Salmonella* spp (5 log CFU/g) menunjukkan ketahanan selama penyimpanan pada suhu 10°C selama 24 jam yang dilanjutkan pada suhu 10°C selama 6 jam yang ditandai dengan jumlah populasi BAL yang relatif stabil (Gambar 4). Analisis satistika menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan ($p>0.05$) pada populasi BAL selama penyimpanan pada suhu dingin (Lampiran 14).

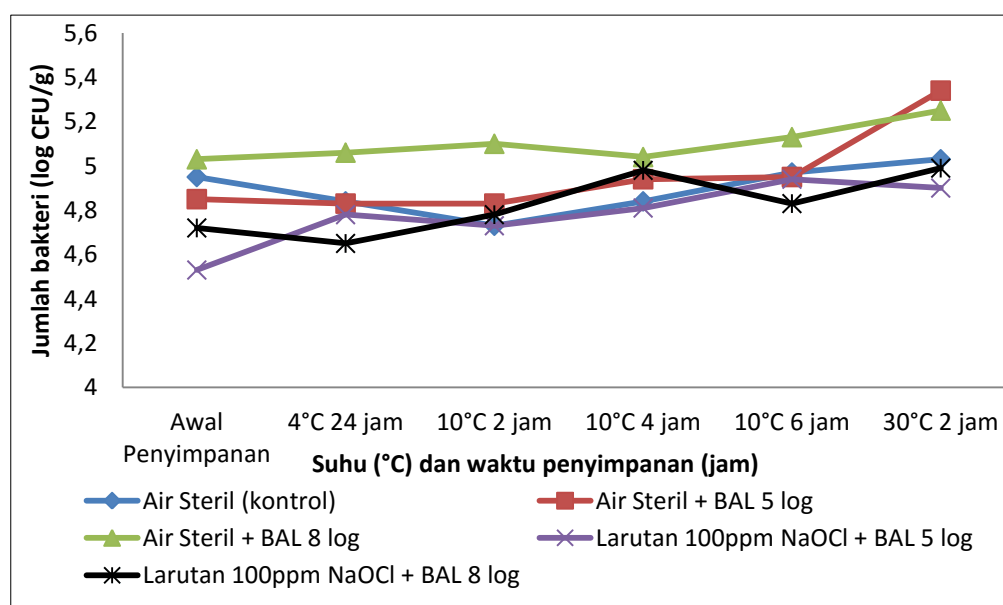


Gambar 4 Pertumbuhan BAL selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang pada daging ayam mentah yang mengandung *Salmonella* spp yang diberi perlakuan air steril dan inokulasi BAL 5 log CFU/g (◇), air steril dan inokulasi BAL 8 log CFU/g (■), NaOCl 100 ppm dan inokulasi BAL 5 log CFU/g (▲), dan NaOCl 100 ppm dan inokulasi BAL 8 log CFU/g (><)

Jumlah BAL pada daging ayam di akhir penyimpanan selama 2 jam pada suhu 30°C menunjukkan kenaikan jumlah bakteri sebanyak 0.3-0.4 log CFU/g. Pada suhu 30°C terjadi peningkatan laju pertumbuhan BAL sehingga pada akhir inkubasi jumlahnya mencapai 6.4 log CFU/g pada daging ayam yang dicuci dengan air steril dan kemudian diinokulasi dengan BAL sebanyak 6 log CFU/g. Pada daging ayam yang

dicuci dengan air steril dan diinokulasi BAL 8 log CFU/g menunjukkan peningkatan jumlah bakteri sebesar 0.3 log CFU/g sehingga pada akhir inkubasi selama 2 jam pada 30°C diperoleh BAL sebanyak 8.1 log CFU/g. Pada daging ayam yang dicuci dengan NaOCl 100 ppm dan diinokulasi dengan BAL 6 log CFU/g diperoleh BAL sebanyak 6.2 log CFU/g setelah inkubasi selama 2 jam pada suhu 30°C. Pada daging ayam yang disanitasi dengan NaOCl 100 ppm dan diinokulasi dengan BAL 8 log CFU/g diperoleh BAL sebanyak 8.2 log CFU/g setelah inkubasi selama 2 jam pada suhu 30°C (Gambar 4). Penelitian Nuraida *et al.* (2014) menunjukkan viabilitas *L.rhamnosus* R23 relatif stabil setelah penyimpanan yoghurt pada suhu dingin (<10°C) setelah 32 hari penyimpanan. Ketahanan dan pertumbuhan *L.rhamnosus* R23 juga tidak dipengaruhi oleh adanya kultur campuran *Salmonella*

Penambahan BAL pada daging ayam yang dicuci dengan senyawa penyanitasi tidak memengaruhi pertumbuhan *Salmonella* spp pada penyimpanan selama 24 jam pada suhu 4°C (Gambar 5). Hal ini ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan *Salmonella* yang tidak berbeda nyata ($p>0.05$) antara sampel yang ditambahkan BAL dan tanpa penambahan BAL (kontrol). Analisis statistik perubahan jumlah *Salmonella* selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang pada daging ayam mentah yang diberi perlakuan pencucian dan penambahan BAL dapat dilihat pada Lampiran 15 dan 16.



Gambar 5 Pertumbuhan *Salmonella* selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang pada daging ayam mentah yang diberi perlakuan air steril (◇), air steril dan inokulasi BAL 5 log CFU/g (■), air steril dan inokulasi BAL 8 log CFU/g (▲), NaOCl 100 ppm dan inokulasi BAL 5 log CFU/g (>), dan NaOCl 100 ppm dan inokulasi BAL 8 log CFU/g (*)

Hasil ini sesuai dengan penelitian Aguilar dan Klotz (2010) yang menyatakan aktivitas penghambatan pertumbuhan patogen oleh BAL akan menurun secara signifikan seiring dengan penurunan suhu. Hal ini berkaitan dengan penurunan aktivitas metabolisme dari BAL untuk menghasilkan senyawa antibakterial. Pada penelitian

Aguilar dan Klotz (2010) tersebut terlihat pola pertumbuhan *E. coli* pada kultur campuran BAL sama dengan pola pertumbuhan pada kultur murni ketika diinkubasi pada suhu 5°C. Hal ini menunjukkan tidak ada aktivitas penghambatan yang dilakukan oleh BAL terhadap pertumbuhan *E. coli*.

Pada penyimpanan selama 8 jam pada suhu 10°C juga tidak terlihat aktivitas penghambatan BAL terhadap *Salmonella* pada daging ayam yang telah diberi perlakuan senyawa penyanitasi (Gambar 5). Pertumbuhan *Salmonella* yang tidak signifikan pada suhu 10°C lebih disebabkan oleh terhambatnya aktivitas metabolisme sel akibat penurunan kerja enzim-enzim pertumbuhan pada saat ditempatkan pada suhu dingin. Proses pencucian daging ayam, baik menggunakan air steril maupun NaOCl, juga tidak memberikan pengaruh nyata untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella* pada saat penyimpanan di suhu dingin. Pengujian total asam tertitiasi dan pH pada daging ayam setelah penyimpanan dingin tidak menemukan adanya peningkatan konsentrasi asam yang signifikan. Nilai pH daging ayam setelah penyimpanan dingin cenderung stabil berkisar pada 5.8-5.9 dengan total asam tertitiasi (TAT) sebesar 0.04-0.05% ((Lampiran 18). Kondisi ini mendukung dugaan tidak adanya aktivitas penghambatan oleh BAL terhadap *Salmonella*. Tidak adanya pertumbuhan BAL yang signifikan pada daging yang disimpan pada suhu dingin menunjukkan terhambatnya proses metabolisme BAL pada penyimpanan dingin untuk menghasilkan asam yang dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella*.

Penyimpanan daging ayam selama 2 jam pada suhu 30°C menunjukkan peningkatan *Salmonella* spp sebanyak 0.2 log CFU/g pada daging ayam yang dicuci dengan air steril dan ditambahkan dengan BAL 5 log CFU/g dan 8 log CFU/g (Gambar 5). Hasil yang sama juga diperoleh pada daging ayam disanitasi dengan NaOCl 100 ppm dan ditambahkan BAL 5 log CFU/g. Jumlah *Salmonella* spp pada daging ayam yang disanitasi dengan NaOCl 100 ppm dan ditambahkan BAL 8 log mengalami peningkatan sebanyak 0.3 log CFU/g setelah diinkubasi selama 2 jam pada suhu 30°C. Demikian juga, jumlah *Salmonella* spp pada daging ayam yang dicuci dengan air steril dan tidak ditambahkan BAL mengalami peningkatan sebanyak 0.1 log CFU/g setelah diinkubasi selama 2 jam pada suhu 30°C. Tidak ada perbedaan yang signifikan pada peningkatan jumlah *Salmonella* spp setelah penyimpanan selama 2 jam pada suhu 30°C pada daging ayam yang diberi perlakuan sanitasi dan penambahan BAL ataupun kontrol (Tabel 6). Sakaridis *et al* (2014) melakukan penelitian untuk melihat efek antibakteri *L. salivarius* terhadap campuran strain *Salmonella* spp (*S. blockley*, *S. paratyphi*, *S. bredeney*, *S. neftenbach*, *S. hadar*, dan *S. thompson*) pada daging ayam mentah. Penelitian ini dilakukan dengan menginokulasi sebanyak 10⁶ CFU/mL patogen dan 10⁸ CFU/mL BAL pada daging ayam sehingga pada daging diperoleh 10⁴ CFU/cm² *Salmonella* spp dan 10⁶ CFU/cm² BAL, selanjutnya daging disimpan pada suhu 7°C selama 6 hari. Pada akhir penyimpanan, terjadi penurunan *Salmonella* spp sebanyak 0.67 CFU/cm². Perhitungan jumlah BAL menunjukkan tidak ada pertumbuhan yang signifikan selama periode penyimpanan, yang berarti penghambatan patogen oleh BAL dapat terjadi tanpa ada pertumbuhan sel jika proses metabolisme terus berlangsung untuk menghasilkan senyawa antibakteri.

Salah satu faktor yang mempengaruhi efektivitas senyawa antibakteri BAL adalah jumlah bakteri patogen yang mengontaminasi produk pangan. Penelitian Uddin *et al.* (2019) menemukan jumlah *Salmonella* spp pada daging ayam bagian dada sebanyak 0.47-2.67 CFU/g, sayap sebesar 1.47-1.84 CFU/g, paha sebesar 1.07-1.67 CFU/g, dan kulit sebanyak 1.3-3.36 CFU/g dari karkas ayam yang dijual di pasar swalayan di

Dhaka (Bangladesh). Dibandingkan dengan jumlah kontaminasi alami *Salmonella* pada daging ayam, kontaminasi buatan *Salmonella* yang sengaja ditambahkan ke dalam daging ayam pada penelitian ini (4-5 log CFU/g), jumlahnya lebih banyak dari kondisi alami. Hal ini dapat mempengaruhi efektivitas BAL untuk menghambat pertumbuhan *Salmonella*. Kondisi ini memperkuat dugaan salah satu alasan tidak adanya aktivitas penghambatan BAL terhadap pertumbuhan *Salmonella* disebabkan oleh banyaknya jumlah *Salmonella* yang sengaja ditambahkan pada daging ayam. Russel *et al.* (2004) menyatakan salah satu faktor yang mempengaruhi efesiensi senyawa antimikroba adalah jumlah mikroba pencemar. Jumlah mikroba yang lebih sedikit akan memperbesar kemungkinan kontak antara komponen antimikroba dengan sel mikroba sehingga aktivitasnya lebih efektif.

Tabel 6 Pengaruh BAL terhadap perubahan jumlah *Salmonella* selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang

Suhu dan waktu penyimpanan	Perubahan jumlah <i>Salmonella</i> (log CFU/g) setelah perlakuan dengan:				
	Air Steril (Kontrol)	Air steril, inokulasi BAL 5 log	Air steril, inokulasi BAL 8 log	NaOCl 100 ppm,	NaOCl 100 ppm,
				inokulasi BAL 5 log	inokulasi BAL 8 log
4°C 24 jam	-0,1 ^{aA}	0,0 ^{aA}	0,0 ^{aA}	0,3 ^{aA}	-0,1 ^{aA}
10°C 2 jam	-0,2 ^{aA}	-0,2 ^{aA}	0,1 ^{aA}	0,2 ^{aA}	0,1 ^{aA}
10°C 4 jam	-0,1 ^{aA}	-0,1 ^{aA}	0,0 ^{aA}	0,3 ^{aA}	0,3 ^{aA}
10°C 6 jam	0,0 ^{aA}	-0,2 ^{aA}	0,1 ^{aA}	0,4 ^{aA}	0,1 ^{aA}
30°C 2 jam	0,1 ^{aA}	0,2 ^{aA}	0,2 ^{aA}	0,2 ^{aA}	0,3 ^{aA}

^aAngka-angka yang diikuti oleh huruf yang sama (huruf kecil pada kolom dan huruf kapital pada baris) tidak berbeda nyata pada taraf uji 5% (uji selang berganda Duncan)

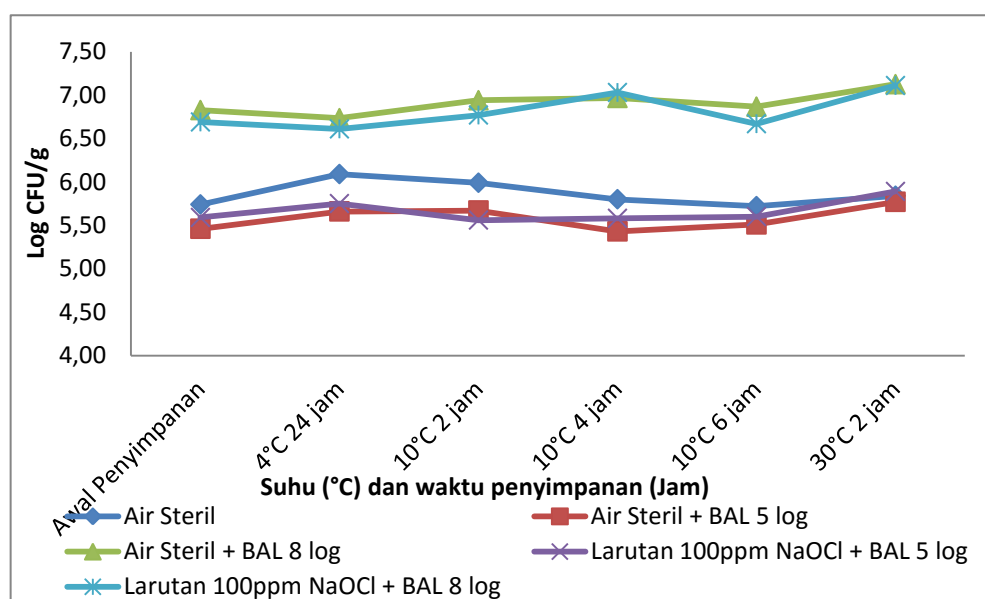
^bTanda (-) menunjukkan penurunan jumlah koloni dibandingkan dengan jumlah koloni awal sebelum penyimpanan.

BAL dapat menghambat mikroorganisme lain dengan menghasilkan senyawa antimikroba, diantaranya asam-asam organik (asam laktat dan asam asetat), hidrogen peroksida, karbon dioksida, diasetil dan bakteriosin (Servin 2004). Penelitian Sakaridis *et al.* (2014) menyatakan aktivitas penghambatan dapat terjadi tanpa adanya pertumbuhan sel karena produksi komponen antimikroba melalui proses metabolisme terus terjadi selama penyimpanan. Namun demikian, pada penelitian ini aktivitas mikroba BAL tidak cukup untuk secara signifikan menghambat pertumbuhan *Salmonella* selama penyimpanan pada suhu menyimpang.

L. rhamnosus merupakan BAL homofermentatif yang produk metabolisme utamanya adalah asam laktat (Nuraida *et al.* 2008). Jumlah asam yang dihasilkan oleh BAL dalam penelitian ini tidak secara signifikan menurunkan pH daging ayam. Selama proses penyimpanan pada suhu menyimpang, pH daging ayam terhitung berkisar pada 5.64-5.89 sehingga masih memungkinkan bagi *Salmonella* untuk bertahan hidup dan tumbuh karena pH pertumbuhan *Salmonella* berkisar pada 4.5-7.8 (Lampiran 18). pH pada penelitian ini telah memenuhi kondisi minimum untuk pertumbuhan BAL (pH pertumbuhan BAL 3.8-7.2), namun penyimpanan pada suhu dingin menghambat proses

metabolisme sel. Pada suhu 30°C diduga pertumbuhan *Salmonella* lebih cepat daripada BAL yang menyebabkan *Salmonella* lebih dulu tumbuh pada daging ayam. Veys *et al.* (2016) melaporkan terjadi peningkatan jumlah *Salmonella* pada suhu 25°C dengan lama fase lag sebesar 1.85 jam dan laju pertumbuhan 0.63 log CFU/jam. Disisi lain, Subagiyo *et al.* (2015) melaporkan pada 6 jam pertama BAL masih berada pada fase lag pada saat diinkubasi pada suhu 25°C-35°C. Hal ini menunjukkan pada 2 jam awal inkubasi pada suhu 30°C pada penelitian ini belum cukup bagi BAL untuk tumbuh optimum sehingga belum dapat menghambat pertumbuhan *Salmonella*.

Perhitungan TPC menunjukkan kenaikan pada sampel yang diinokulasi dengan BAL, sedangkan pada sampel yang tidak ditambahkan BAL, jumlah TPC menurun pada akhir masa penyimpanan pada suhu rendah (4°C selama 24 jam dan 10°C selama 6 jam). Setelah penyimpanan daging ayam pada 30 °C selama 2 jam, jumlah TPC pada sampel yang diinokulasi dengan BAL meningkat sebanyak 0.30 – 0.42 log CFU/g. Sampel daging ayam yang sebelumnya dicuci menggunakan NaOCl 100 ppm dan diinokulasi dengan 8 log BAL menunjukkan peningkatan TPC yang paling tinggi, sedangkan pada sampel tanpa penambahan BAL, nilai TPC hanya meningkat sebanyak 0.10 log CFU/g (Gambar 6). Data lengkap mengenai perubahan TPC pada daging ayam dengan dan tanpa penambahan BAL dapat dilihat pada Lampiran 17. Hasil ini menunjukkan bahwa penambahan BAL pada *fillet* ayam akan meningkatkan populasi TPC.



Gambar 6 Populasi TPC selama penyimpanan pada berbagai suhu rendah yang berlanjut pada suhu menyimpang pada daging ayam mentah yang diberi perlakuan air steril (◇), air steril dan inokulasi BAL 5 log CFU/g (■), air steril dan inokulasi BAL 8 log CFU/g (▲), NaOCl 100 ppm dan inokulasi BAL 5 log CFU/g (×), dan NaOCl 100 ppm dan inokulasi BAL 8 log CFU/g (*)

5 SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Pencucian menggunakan larutan NaOCl 100 ppm merupakan perlakuan terbaik untuk menurunkan jumlah *Salmonella* spp dibandingkan menggunakan OMBW. Pada akhir penyimpanan pada kondisi suhu menyimpang, pencucian dengan larutan NaOCl tidak menunjukkan penghambatan terhadap pertumbuhan *Salmonella* yang berbeda dengan pencucian dengan air steril atau OMBW. Penambahan BAL setelah pencucian dengan air steril atau larutan NaOCl tidak menghambat pertumbuhan *Salmonella* spp selama penyimpanan pada suhu menyimpang. Untuk mengurangi jumlah *Salmonella* pada akhir penyimpanan, yang terpenting adalah mengurangi jumlah awal *Salmonella*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian untuk meningkatkan efektivitas senyawa penyanitasi seperti waktu paparan dan suhu pencucian. Perlu juga dilakukan penelitian menggunakan kultur BAL yang dapat menghasilkan bakteriosin dan/atau dikombinasikan dengan metode lain yang dapat efektif menghambat pertumbuhan *Salmonella* selama penyimpanan dengan suhu menyimpang. Penelitian juga perlu dilakukan dengan menggunakan jumlah *Salmonella* yang mungkin ada pada karkas ayam.

DAFTAR PUSTAKA

- Aguilar C dan Klotz B. 2010. Effect of the temperature o the antagonist activity of lactic acid bacteria against *Escherichia coli* and *Listeria monocytogenes*. *Journal of Food Safety*. <https://doi.org/10.1111/j.1745-4565.2010.00257.x>
- Alende A, Gonzales R., McEvoy J, Luo Y. 2008. Assessment of sodium hypochlorite and acidified sodium chlorite as antimicrobial agents to inhibit growth of *Escherichia coli* O157:H7 and natural microflora on shredded carrots. *International Journal of Vegetable Science*. 13(3):51–63. doi: 10.1300/J512v13n03-05
- Astutnes P, Mourao J, Campos J, Peixe L. 2015. Salmonellosis: the role of poultry meat. *Journal of Clinical Microbiology and Infection*. 22: 110-121. doi.org/10.1016/j.cmi.2015.12.004
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 1990. FDA Bacteriological analytical manual. Di dalam [BAM] Bacteriological Analytical Manual. 2001. Tersedia dari <http://www.cfsan.fda.gov/~ebam/bam-3.html>
- [AOAC] Association of Official Analytical Chemist. 2009. Sanitizers and disinfectants the chemicals of prevention. Tersedia dari <https://www.foodsafetymagazine.com/magazine-archive1/augustseptember-2011/sanitizers-and-disinfectants-the-chemicals-of-prevention/#reference>
- [BAM] Bacteriological Analytical Manual. 2001. Aerobic plate count. Tersedia dari <http://www.fda.gov/Food/ScienceResearch/LaboratoryMethods/BacteriologicalAnalyticalManualBAM/ucm063346.html>
- Brooks J, Brashears M, Miller M. 2008. Impact of ground beef packaging systems and temperatur abuse on the safety and quality of ground beef. *Final Reports*. Texas Tech University
- Chua Jedton A, Aoyagi H, Uthaibutra J, et al. 2017. Inactivation of *Escherichia coli* O157:H7 by treatment with different temperatures of micro-bubbles ozone containing water. *International Food Research Journal*. 24(3): 1006-1010
- Dewi AAS, Semara AAG, Putra, N, Riti D. Purnawati RC, Saputro. 2015. Salmonellosis pada daging dan telur ayam di provinsi Bali, NTB dan NTT. *Buletin Veteriner Udayana*. Vol. Xxvii (87). ISSNISSN : 0854-901X
- [FDA] United States Food and Drug Administration. 2001. Food Code 2001: recommendations of the United States Public Health Service, Food & Drug Administration. Section 3-501.16 and aorresponding annex (Pp. 68, 309-310). *National Technical Information Service*, Report Number PB 2002100819, Springfield, VA.
- [FDA] United States Food and Drug Administration. 2006. Code of Federal Regulation, Title 21, Part 110. Food and drugs: current good manufacturing practices in manufacturing, packaging, or holding human food.
- Gardner M dan Garret E. 2020. Chlorine testing critical in food processing application. *Artikel*. Tylor Technologies, Inc. Maryland
- Ghanbari M, Rezaei M dan Jami M. 2013. Selection of *Lactobacillus* species from intestinal microbiota of fish for their potential use as biopreservatives. *Licensee InTech Openscience*. doi: org/10.5772/50166
- Gonçalves A A. 2009. Ozone- an emerging technology for the seafood industry. *Brazilian Archives of Biology and Technology International Journal*. 52 (6): 1527

- Guzel-Seydin Z B *et al.* 2004. Use of ozone in the food industry. *Lebensmittel-Wissenschaft Technologie*. (37): 453-460
- Huang J, Luo Y, Nou X. 2015. Growth of *Salmonella enterica* and *Listeria monocytogenes* on fresh-cut cantaloupe under different temperatur abuse scenarios. *Journal of Food Protection*. 78(6):1125-31. doi: 10.4315/0362-028X.JFP-14-468.
- Inatsu Y, Kitagawa T, Nakamura N, Kawasaki S, Nei D, Kawamoto S. 2011. Effectiveness of stable ozone microbubble water on reducing bacteria on the surface of selected leafy vegetables. *Food Science and Technology Research*. 17 (6): 479 – 485
- Ingham S, Losinski J, Becker K, Buege D.2007. Growth of *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella* serovars on raw beef, pork, chicken, bratwurst, and cured corned beef: implications for HACCP plan critical limits. University Of Wisconsin. Madison
- Ingham S, Vang S, Levey B, Fahey L, Norback J. *Et al.* (2009). Predicting behavior of *Staphylococcus aureus*, *Salmonellaserovars*, and *Escherichia coli* O157:H7 in pork products during single and repeated temperatur abuse periods. *Journal of Food Protection*. 72 (10): 2114–2124
- International Programme on Chemical Safety. 2000. Disinfectant and disinfectant by-products (environmental health criteria; 216). World Health Organization. Finland
- [Kementan] Kementerian Pertanian. 2020. Kementan: stok pangan asal hewan jelang HBKN aman. Artikel. diposting tanggal 06 Maret 2020. Tersedia dari: ditjenpkh.pertanian.go.id
- Kim JG, Yousef A, Sandhya D. 1999. Application of ozone for enhancing the microbiologicalsafety and quality of foods: A Review. *Journal of Food Protection*. 62 (9): 1071–1087
- Luiz DdB, Silva CDF, CampeloSR *et al.* 2017. Evaluation of the effectiveness of ozone as a sanitizer for fish experimentally contaminated with *Salmonella* sp. *Brazilian Journal of Food Technology*. 20: e2016150
- Nuraida L, Susanti, Hana, Palupi NS, Hartanti AW. 2008. Probiotic potency of lactic acid bacteria cultured from breast milk. *International symposium on probiotic from Asia traditional fermented food for healthy gut function*. Jakarta, Indonesia
- Nuraida L, Hana, Hartanti AW, Prangdimurti E. 2012. Potensi *Lactobacillus* yang diisolasi dari air susu ibu untuk mencegah diare. *Jurnal Teknologi dan Industri Pangan*. Vol.XXXIII. doi: 10.6066/jitp.2012.23.2.158
- Nuraida L, Nurdin Q, Firlieyanti AS. 2014. Pengembangan yoghurt berisi *Lactobacillus rhamnosus* dan *Pediococcus pentosaceus* dan viabilitasnya selama penyimpanan. *Journal Mutu Pangan*. (1):47-55
- Oscar TP. 2009. Predictive model for survival and growth of *Salmonella* Typhimurium dt104 on chicken skin during temperatur abuse. *Journal of Food Protection*. 72(2): 304–314
- Pan X dan Nakano H. 2014. Effects of chlorine-based antimicrobial treatments on the mycobiological qualities of selected leavy vegetables and wash water. *Food Science and Technology Research*. doi:10.3136/fstr.20.765
- Phaephiphat A dan Warapa M. 2018. Surface decontamination of *Salmonella* Typhimurium and *Eschericia coli* on sweet basil by ozone microbubbles. *Cogent: food & agriculture*. doi: org/10.1080/23311932.2018.1558496

- Pichpol D. 2009. Experimental reduction of *Salmonella* in chicken breast. *Journal of Natural Resources*: 3322. Freien. Universitat Berlin
- Pyor A. dan Rice RG. 2000. Ozone toxicology and guidelines for sale use in food processing system. *Ozone News* 28(5): 19-28
- Rachmawati I, Suranto, Setyaningsih R. 2005. Uji antibakteri bakteri asam laktat asal asinan sawi terhadap bakteri patogen. *Jurnal Bioteknologi*. 2 (2): 43-48, ISSN: 0216-6887, DOI: 10.13057/biotek/c020202
- Regaldo-Pineda ID, Roderta-MedinaR, Resendiz-Nava C, *et al.* 2020. Three year longitudinal study: prevalence of *Salmonella* Enterica in chicken meat is higher in Supermarkets than wet markets from Mexico. *Foods Journal*. 9 (3) :264. doi:10.3390/foods9030264
- Restika K. 2012. Keberadaan *Salmonella* pada daging ayam yang dijual di pasar tradisional di Kota Tangerang Selatan. Institut Pertanian Bogor (IPB)
- Rocky VR, Zawani CJ *et al.* 2017. Effect of chlorinated water and sodium tripolyphosphate spray washing on microbiological quality of quail carcasses. *Journal of Science and Technology*. 9 (4): 50-55
- Russel, Hugo, and Ayliffe. 2004. Principles and practice of disinfection, preservation & sterilization. Fourth edition. Blackwell Publishing Ltd. Oxford, UK.
- Sakaridis I, Soultos N, Batzios Ch, Ambrosiadis I, Koidis P. 2014: Lactic acid bacteria isolated from chicken carcasses with inhibitory activity against *Salmonella* Spp. and *Listeria monocytogenes*. *Czech Journal of Food Science*. 32 (1): 61–68.
- Sant'Ana A, Franco B, Schaffner D. 2013. Modeling the growth rate and lag time of different strains of *Salmonella* Enterica and *Listeria monocytogenes* in ready-to-eat lettuce. *Journal of Food Microbiology*. 30 (1): 267-273
- Servin AL. 2004. Antagonist activities of *Lactobacilli* and *Bifidobacteria* against microbial pathogens. *FEMS Microbiology Review*. 28: 405-440
- Sexton M, Holds G, Kiermeier A, Sumner J. 2006. An evaluation of decontamination of chicken carcasses with acidified sodium chlorite. *Proceedings of the 11th International Symposium on Veterinary Epidemiology and Economics*
- [SNI] Standar Nasional Indonesia. 2009. Kualitas karkas dan daging ayam (SNI 3924:2009). Tersedia dari <http://www.sispk.bsn.go.id/SNI>
- Subagiyo, Argino S, Triyanto, Setyati W. 2015. Pengaruh pH, suhu, dan salinitas terhadap pertumbuhan dan produksi asam organik bakteri asam laktat yang diisolasi dari intestinum udang penaeid. ISSN 0853-7291. *Ilmu Kelautan*. 20 (4): 187-194
- Suku, S dan Sheth M. 2012. Can sanitizer reduce microbial load of coriander leaves?. *Nutrition and food science*. 42 (1): 12-20. doi.org/10.1108/00346651211196483
- Szala B, Paluszak Z, Motyl I. 2012. Antagonist effect of lactic acid bacteria on *Salmonella sentenberg* in mixed culture. *Polish Journal of Environmental Studies*. 21 (5): 1399-1403
- Tadesse G, Ephraim E, dan Ashenafi M. 2005. Assessment of the antimicrobial activity of lactic acid bacteria isolated from borde and shamita, traditional Ethiopian fermented beverages, on some foodborne pathogens and effect of growth medium on the inhibitory activity. *Internet Journal of Food Safety*. 5: 13-20
- Tirado M, Clarce R, Jaykus L *et al.* 2010. Climate change and food safety: a review. *Journal of Food Research International*. 43: 1745–1765
- Tirawat D, Petsong K, Sangsorn S. 2014. The effect of ozonated water, micro-bubble water, and ozone microbubble water on *E.coli* and *S. Typhimurium*

decontamination of fresh produce. *The 16th Food Innovation ASIAN Conference 2014*. Bangkok-Thailand

Trindade MA, Khusida MM, Vilanueva NM *et al.* 2012. Comparison of ozone and chlorine in low concentration as sanitizing agent of chicken carcasses in the water immersion chiller. *Journal of food protection*. 75 (6): 1139-1143

Uddin J, Hossain K, Hossain S. *et al.* 2019. Bacteriological assessments of foodborne pathogens in poultry meat at different super shop in Dhaka, Bangladesh. *Italian Journal of Food Safety*. 8 (1): 6720. doi: 10.4081/ijfs.2019.6720.

Ukuku D dan Sapers G. 2007. Effect of time before storage and storage temperatur on survival of *Salmonella* inoculated on fresh-cut melons. *Journal of Food Microbiology*. 24(3): 288-295

[USDA] United States Departement of Agriculture. 2011. Food safety information: danger zone. Tersedia dari: fsis.usda.gov

[USDA] United States Departement of Agriculture. 2011. Food safety information: kitchen thermometers. Tersedia dari: fsis.usda.gov

Veys O, Elias SO, Sampers I, Tondo EC. 2016. Modelling the growth of *Salmonella* spp and *Escherichia coli* O157 on lettuce. 9th International Conference on Prediction Modelling in Food. *Procedia science*. (7): 168-172

Yang H, Li Y, Johnson M. 2001. Survival and death of *Salmonella* Typhimurium and *Campylobacter jejuni* in processing water and on chicken skin during poultry scalding and chilling. *Journal Of Food Protection*. 64(6): 770–776



@Hak cipta milik IPBUniversity

Hak Cipta Dilindungi Undang-undang

1. Dilarang mengutip sebagian atau seluruh karya tulis ini tanpa mencantumkan dan menyebutkan sumber :
 - a. Pengutipan hanya untuk kepentingan pendidikan, penelitian, penulisan karya ilmiah, penyusunan laporan, penulisan kritik atau tinjauan suatu masalah
 - b. Pengutipan tidak merugikan kepentingan yang wajar IPBUniversity.
2. Dilarang mengumumkan dan memperbanyak sebagian atau seluruh karya tulis ini dalam bentuk apapun tanpa izin IPBUniversity.

RIWAYAT HIDUP



Penulis dilahirkan di Kota SoE – Nusa Tenggara Timur pada 17 Juni 1990 sebagai anak kedua dari tiga bersaudara pasangan Laurens. L. R. Nalle, SE dan Irma L Tallo, SE. Pada tahun 2008, penulis lulus dari Sekolah Menengah Atas Katolik (SMAK) Frateran, Malang. Pendidikan strata 1 ditempuh di Program Studi Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Brawijaya Malang. Setelah menjadi sarjana, penulis bekerja sebagai staf di Akademi Sabu Raijua (AKSARA) Kabupaten Sabu Raijua, NTT. Penulis mendapatkan kesempatan untuk melanjutkan studi pada Program Studi Magister Ilmu Pangan, Sekolah Pascasarjana IPB pada tahun 2016 dengan sponsor beasiswa Pemerintah Kabupaten Sabu Raijua.

Selama mengikuti program S-2, penulis pernah terpilih mengikuti program UC-FSCC Summer School yang diselenggarakan oleh Universitas Gadjah Mada (UGM) dan University of Natural Resources and Life Sciences (BOKU) di Yogyakarta. Penulis juga pernah terpilih mengikuti program Master of Science in Food Security and Climate Change (MS-FCC) melalui Erasmus+ Programme of the European Union dan Southeast Asian Regional Center for Graduate Study and Research in Agriculture (SEARCA) di Kasetsart University, Thailand. Karya ilmiah berjudul “Ozone Micro-bubble Water As Raw Chicken Sanitizer Against *Salmonella* spp. During Temperature Abuse” telah disajikan pada 4th Food Safety Postgraduate Mobility Programme 2018 yang diselenggarakan oleh Universiti Putra Malaysia (UPM) dan Institut Pertanian Bogor (IPB). Sebagai syarat untuk memperoleh gelar Magister Sains Ilmu Pangan, penulis melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh Senyawa Penyanitasi dan *Lactobacillus rhamnosus* R23 Terhadap Pertumbuhan *Salmonella* spp Selama Penyimpanan Daging Ayam Mentah Pada Suhu Menyimpang”. Sebagian dari hasil penelitian sedang dalam proses penelaahan untuk dipublikasikan pada Jurnal *Food Research* dengan judul “Effect of Sanitizers and *Lactobacillus rhamnosus* R23 on The Growth of *Salmonella* spp in Raw Chicken Fillets During Temperature Abuse Storage”. Karya-karya ilmiah tersebut merupakan bagian dari program S-2 penulis.

@Hak cipta milik IPBUniversity