

4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Produk pertanian seperti buah dan sayur menjadi sumber gizi yang penting untuk dikonsumsi, terlebih masyarakat saat ini sadar akan pentingnya menjaga kesehatan. Keamanan dan perlindungan pangan telah menjadi perhatian global dengan tujuan untuk memastikan produk pangan yang dikonsumsi masyarakat telah dipastikan kualitas dan gizi terjaga hingga tangan konsumen. Maka dari itu, proses sanitasi yang tepat untuk menjaga kualitas produk segar wajib diterapkan pada teknologi pasca panen saat ini (Singh *et al.*, 2019). Produk pertanian menjadi salah satu produk yang sensitif dikarenakan produk tersebut dengan cepat dapat terkontaminasi oleh mikroorganisme pada proses pra dan pasca panen atau dapat ditularkan dari manusia melalui berbagai proses seperti saat pengolahan atau distribusi. Senyawa anti mikroba (sanitizer) menjadi salah satu hal penting untuk menjamin keamanan pangan dan menjaga kualitas pangan.

Efektivitas sanitizer dipengaruhi oleh beberapa parameter seperti jenis disinfektan, dosis atau konsentrasi yang diterapkan, waktu kontak, suhu, pH, target mikroorganisme atau residu pestisida pada produk, kualitas air pencucian, prosedur inokulasi (penyemprotan atau perendaman), dan kandungan zat organik pada produk (L *et al.*, 2015). Efisiensi disinfektan tidak hanya dipengaruhi oleh kontaminasi produk, tetapi juga efektivitas oksidan kimiawi yang terhambat karena adanya bahan organik selama proses pencucian (Haute *et al.*, 2015). Target kontaminan juga menjadi pertimbangan dalam pemilihan disinfektan, seperti bakteri vegetatif, bakteri patogen gram positif (*Listeria monocytogenes*), bakteri patogen gram negatif (*E coli* dan *Salmonella sp.*), residu pestisida. Pemilihan disinfektan ini dapat mempengaruhi strategi pengurangan dan inaktivasi kontaminan. Keamanan mikrobiologis dan kimiawi untuk konsumen serta aspek kualitas produk seperti nilai sensorik dan nilai gizi produk akhir juga menjadi evaluasi dalam menentukan disinfektan yang sesuai.

4.1. Faktor Efektivitas Sanitasi dengan Ozon

Agen antimikroba sangat dibutuhkan oleh industri pangan terkhusus produk pasca panen segar seperti buah dan sayur dengan tujuan untuk menjaga keamanan dan kualitas pangan. Salah satu disinfektan yang efektif dalam melawan bakteri patogen dan aman untuk digunakan dalam proses pengolahan produk pasca panen buah segar adalah ozon (O₃). Pada tahun 2001, FDA memberi persetujuan dalam penggunaan ozon secara langsung untuk perawatan, penyimpanan dan pemrosesan makanan dalam wujud gas ataupun cair (FDA, 2001). Perlakuan dengan ozon dalam wujud gas dapat dilakukan secara terus menerus

(*continuous*) atau sesekali pada suatu produk atau apabila dalam wujud cair, produk dapat melalui proses pencucian dengan air yang mengandung ozon (Fatima *et al.*, 2013). Ozon relatif lebih stabil pada wujud gas dibandingkan wujud cair, dikarenakan pada wujud cair ozon dapat dengan cepat terurai menjadi oksigen. Ozon sangat mudah larut dalam air (27 °C, tingkat kelarutan 580 mg/l), tingkat kelarutan ozon dipengaruhi oleh tekanan, suhu, pH, waktu kontak, ukuran gelembung ozon, kemurnian air dan laju aliran ozon (Khadre & Yousef, 2001). Semakin tinggi suhu dan pH maka akan makin rendah stabilitas ozon, kelarutan ozon akan meningkat seiring dengan kemurnian air juga meningkat dikarenakan adanya kandungan mineral dan organik di dalam air yang akan mengkatalis dekomposisi ozon. Tingkat inaktivasi ozon akan semakin melemah apabila media teroksidasi zat organik. Semakin kecil ukuran gelembung yang terbentuk maka kelarutan ozon akan meningkat karena luas kontak permukaan akan lebih besar.

Kontaminan (mikroorganisme dan pestisida) pada produk segar seperti buah dan sayur menjadi perhatian utama dalam hal keamanan pangan. Kontaminan tersebut dapat muncul selain karena mikroba bawaan dari bahan baku juga dapat terjadi karena kurang tepatnya penanganan, pemrosesan, distribusi atau penyimpanan produk. Selain praktek higienis selama proses produksi ataupun distribusi, disinfektan yang tepat juga harus diterapkan guna menjaga kualitas dan keamanan produk. Ozon dikenal sebagai disinfektan yang efektif dalam mematikan mikroba bahkan pada konsentrasi rendah dan pada suhu ruang (Debashis *et al.*, 2014). Efektivitas ozon dipengaruhi oleh beberapa faktor seperti laju aliran, jumlah mikroba awal, target mikroorganisme, keadaan permukaan produk, suhu, pH, kelembapan relatif (RH), konsentrasi dan waktu kontak (Debhasis *et al.*, 2014). Laju aliran gas yang diaplikasikan pada saat produksi ozon akan berpengaruh pada ukuran gelembung yang dihasilkan, ukuran gelembung akan berpengaruh pada kemanjuran disinfektan. Efektivitas ozon akan meningkat apabila ukuran gelembung ozon yang dihasilkan semakin kecil (Vithu *et al.*, 2015). Semakin kecil ukuran gelembung maka area kontak yang dapat dijangkau ozon semakin besar.

Bakteri gram negatif memiliki sensitivitas lebih tinggi terhadap paparan ozon dibandingkan bakteri gram positif. Bakteri gram negatif memiliki lapisan lipoprotein dan lipopolisakarida yang terdapat pada dinding sel dan merupakan daerah utama terjadinya kerusakan yang akan berakibat pada peningkatan permeabilitas sel dan pada akhirnya sel mengalami lisis (Kim *et al.*, 1999). Semakin tinggi resistensi bakteri gram positif maka akan diperoleh jumlah

peptidoglikan yang lebih besar, dimana pada peptidoglikan yang berada di dinding sel terdapat senyawa N-asetil glukosamin yang tahan terhadap paparan ozon wujud cair dalam pH 3-7 (Rey *et al.*, 1995). pH asam akan meningkatkan letalitas ozon dalam melawan bakteri. Pengaruh pH pada inaktivasi ozon dikaitkan dengan fakta bahwa laju dekomposisi ozon berubah secara substansial dengan perubahan pH. Inaktivasi *E. coli* oleh ozon jauh lebih cepat di tingkat pH yang lebih rendah, durasi perawatan yang diperlukan untuk mencapai pengurangan 5-log adalah 4 menit dengan pH rendah dan 18 menit dengan pH tinggi (Patil *et al.*, 2010). Apabila pH media perawatan ozon meningkat, maka laju dekomposisi molekul ozon menjadi radikal hidroksil meningkat (Steve, 2003). Stabilitas ozon di dalam air akan menurun apabila pH medium meningkat, tingginya pH mengganggu kelarutan ozon. Pengurangan mikroba maksimal akan terjadi apabila perawatan ozon yang diberikan adalah dengan konsentrasi rendah dengan rentan waktu (15-60 menit) atau dapat dilakukan perawatan gabungan antara ozon dengan radiasi UV maka waktu kontak yang diperlukan singkat, dimana teori ini sesuai dengan jurnal pada produk buah sebagai berikut,

Tabel 7. Faktor Konsentrasi dan Waktu Kontak pada Efektivitas Sanitizer Ozon pada Produk Buah Segar

Produk	Target Kontaminan	Konsentrasi	Waktu Kontak	Penurunan Log CFU/g	Referensi
Kurma	Bakteri mesofil	1 ppm	15 menit	0,02	(Mohammad & Haddad, 2009)
			30 menit	0,06	
			45 menit	0,09	
			60 menit	0,15	
		3 ppm	15 menit	0,17	(Mohammad & Haddad, 2009)
			30 menit	0,2	
			45 menit	0,26	
			60 menit	0,32	
		5 ppm	15 menit	0,27	(Mohammad & Haddad, 2009)
			30 menit	0,34	
			45 menit	0,42	
			60 menit	0,52	
	Bakteri koliform	1 ppm	15 menit	0,18	(Mohammad & Haddad, 2009)
			30 menit	0,29	
			45 menit	0,44	
			60 menit	0,7	

		3 ppm	15 menit	0,34	(Mohammad & Haddad, 2009)
			30 menit	0,7	
			45 menit	1,12	
			60 menit	3,54 (Reduksi maksimal)	
Produk	Target Kontaminan	Konsentrasi	Waktu Kontak	Penurunan Log CFU/g	Referensi
Kurma	Bakteri Koliform	5 ppm	15 menit	0,5	(Mohammad & Haddad, 2009)
			30 menit	0,81	
			45 menit	3,54 (Reduksi maksimal)	
			60 menit	3,54 (Reduksi maksimal)	
Apel	<i>E.coli</i>	1,4 ppm	5 menit	1,83	(Liu <i>et al.</i> , 2016)
			10 menit	2,13	
Strawberry	Bakteri mesofil	2 ppm	1 menit	1,89	(Elisabete <i>et al.</i> , 2011)
			2 menit	1,96	
			3 menit	2,31	
Strawberry	Bakteri mesofil	0,3 ppm	1-3 menit	Reduksi bertambah 0,4 dari produk kontrol, perbedaan terjadi pada waktu singkat	(Elisabete <i>et al.</i> , 2011)
Tomat (cherry)	<i>S. enteritidis</i>	5-30 ppm	5-20 menit	Reduksi maksimal saat konsentrasi 20 ppm setelah 15 menit kontak	(Das <i>et al.</i> , 2006)

Pre-treatment yang dilakukan pada produk buah segar sebelum melalui proses sanitasi dengan ozon ialah produk melalui proses inokulasi dengan target bakteri dan konsentrasi yang diinginkan. Produk didiamkan pada suhu ruang kemudian inokulum bakteri dapat dilakukan dan dilanjutkan dengan pengeringan buah di dalam *laminar flow hood* agar mikroba semakin melekat pada kulit produk (Bialka & Demirci, 2007). Setelah produk melalui proses inokulasi, produk dapat diletakkan pada labu berisi air deionisasi steril, ozon

disemprotkan ke dalam air selama waktu yang diinginkan dengan suhu yang telah ditentukan (Bialka & Demirci, 2007).

Pada tabel 7, dapat diketahui bahwa konsentrasi rendah dengan waktu kontak singkat efektif dalam inaktivasi mikroba secara maksimal, teori ini diperkuat pada produk buah kurma dengan konsentrasi sebesar 5 ppm dengan waktu 45 menit telah mereduksi sempurna seluruh bakteri (Mohammad & Haddad, 2009). Pada tabel 7 juga diketahui bahwa dengan aplikasi konsentrasi semakin tinggi maka reduksi bakteri semakin maksimal, hal ini diperkuat dengan hasil reduksi mikroba pada produk strawberry dengan perbandingan konsentrasi berbeda. Konsentrasi ozon sebesar 2 ppm dapat mereduksi bakteri mesofil lebih tinggi yaitu sebesar 1,89-2,31 CFU/g dibandingkan dengan konsentrasi 0,3 ppm yang hanya dapat mereduksi sebesar 0,4 CFU/g dengan waktu kontak yang sama selama 1-3 menit (Elisabete *et al.*, 2011). Namun pada produk kurma dan strawberry dengan target kontaminan yang sama yaitu bakteri mesofil diperoleh reduksi lebih besar pada produk strawberry. Hal ini disebabkan karena suhu perawatan ozon pada buah kurma tinggi yaitu 35 °C (Mohammad & Haddad, 2009). Ozon dapat dengan mudah terdegradasi menjadi oksigen terkhusus dalam suhu ruang maka dari itu apabila konsentrasi ozon yang diterapkan tinggi, maka waktu kontak yang dibutuhkan singkat. Selain itu, apabila konsentrasi yang diterapkan terlalu tinggi maka akan berdampak pada penambahan ozon lebih lanjut ke reaktor tidak efektif, yang mengakibatkan waktu kontak yang dibutuhkan menjadi lebih lama untuk mencapai reduksi log yang sama.

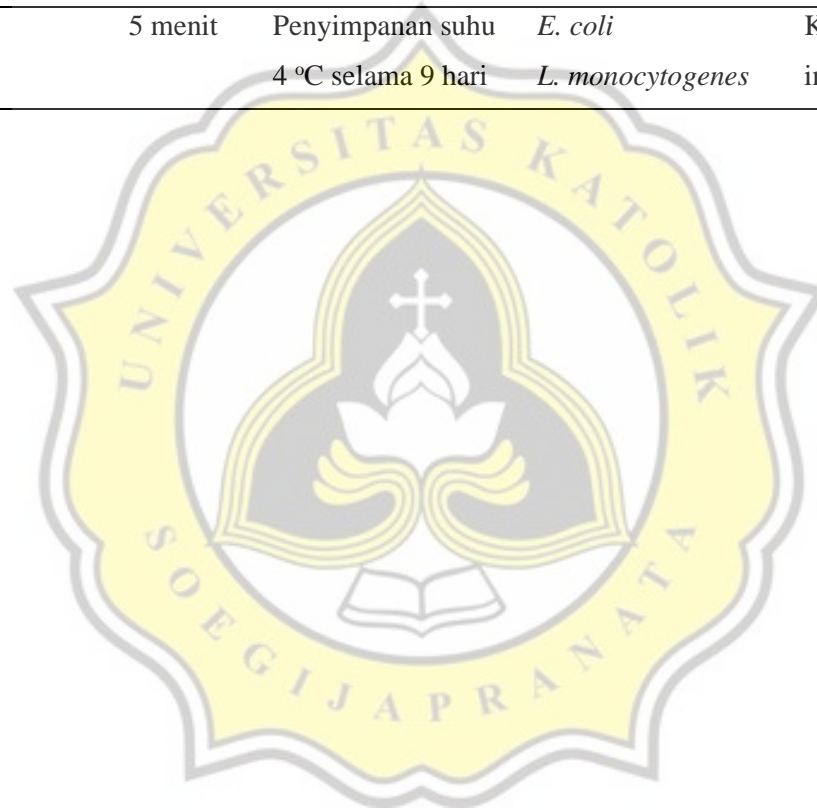
Kelembapan relatif (RH) dan suhu juga menjadi faktor penting dalam proses efektivitas ozon untuk inaktivasi kontaminan. Ozon dengan mudah akan larut dalam air apabila berada pada suhu ruang (27 °C), maka dari itu semakin rendah perlakuan suhu yang diterapkan maka efektivitas ozon akan maksimal (10-20 °C). Kelarutan ozon dalam air lebih tinggi 13 kali lipat dari oksigen pada suhu 0-30 °C dan kelarutan akan semakin meningkat di dalam air yang lebih dingin begitu pula sebaliknya apabila suhu meningkat kelarutan ozon berkurang dan menjadi tidak stabil (Vithu *et al.*, 2015). Kemampuan menonaktifkan ozon sejalan dengan penurunan suhu. Sedangkan untuk kelembapan relatif (RH), semakin tinggi RH yang diterapkan maka mikroba akan dengan mudah berkembang dimana hal tersebut memberikan peluang bagi ozon untuk melakukan proses oksidasi. Teori tersebut telah didukung dengan beberapa produk sebagai berikut,

Tabel 8. Faktor Suhu dan RH pada Efektivitas Sanitizer Ozon pada Produk Buah Segar

Produk	Konsentrasi (ppm)	Suhu (°C)	RH (%)	Waktu	Perlakuan Tambahan	Target Kontaminan	Hasil	Referensi
Anggur	200, 250, 350		35, 75 dan 95			<i>B. cinerea</i>	Bakteri tereduksi maksimal pada RH tinggi (95%)	(Ozkan <i>et al.</i> , 2011)
Anggur	16		85-90		Penyimpanan selama 6 hari di suhu 20 °C	Microflora alami (bakteri)	Tereduksi sempurna setelah 20 menit kontak dengan ozon	(Sarig <i>et al.</i> , 1996)
Apel	0,4	20		0-10 menit		<i>E. coli</i>	Reduksi hingga 5 log hanya dalam waktu kontak 5 menit	(Patil <i>et al.</i> , 2010)

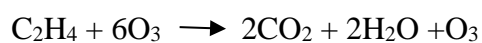
Produk	Konsentrasi (ppm)	Suhu (°C)	RH (%)	Waktu	Perlakuan Tambahkan	Target Kontaminan	Hasil	Referensi
Apel	3			5 menit	Penyimpanan suhu 4 °C selama 9 hari	<i>E. coli</i> <i>L. monocytogenes</i>	Inaktivasi maksimal kedua bakteri	(Rodgers <i>et al.</i> , 2004)
Persik	5,0			5 menit	Penyimpanan suhu 15 °C selama 7 hari	Bakteri aerobik	Reduksi saat 1 dan 5 menit sebesar 1,1 dan 1,6 CFU/g	(Smilanick <i>et al.</i> , 2002)
Blueberry	(1) 1,7-8,9 (2) 21	(1) 20 (2) 4		(1)2-64 menit (2)64 menit		<i>E. coli</i> <i>Salmonella sp.</i>	Perlakuan (1) reduksi <i>E. coli</i> (32 menit) dan <i>Salmonella</i> (64 menit) sebesar 4,9 CFU/g dan 4,7 CFU/g Perlakuan (2) reduksi meningkat: 5,2 dan 6,2 CFU/g	(Fatima <i>et al.</i> , 2013)
Raspberry	(1) 1,7-8,9 (2) 21	(1) 20 (2) 4		(1)2-64 menit (2)64 menit		<i>E. coli</i> <i>S. enterica</i>	Reduksi maksimal sebesar 5,6 (<i>E. coli</i>) dan 4,5 (<i>Salmonella</i>) CFU/g pada suhu 4 °C	(Bialka & Demirci, 2007)
Strawberry	(1) 1,7-8,9	(1) 20		(1)2-64		<i>E. coli</i>	Reduksi maksimal	(Bialka &

(2) 21	(2) 4	menit		<i>S. enterica</i>	sebesar 2,9 (<i>E. coli</i>) dan 3,3 (<i>Salmonella</i>) CFU/g pada suhu 20 °C	Demirci, 2007)
		(2)64 menit				
Strawberry	3	5 menit	Penyimpanan suhu 4 °C selama 9 hari	<i>E. coli</i> <i>L. monocytogenes</i>	Kedua patogen inaktivasi maksimal	(Rodgers <i>et al.</i> , 2004)



Pada tabel 8, diketahui bahwa faktor suhu sangat berpengaruh pada stabilitas ozon. Semakin rendah suhu yang diterapkan maka stabilitas ozon akan semakin meningkat. Teori ini dibuktikan pada produk strawberry dengan perlakuan suhu 4 °C dapat mereduksi seluruh mikroba secara maksimal bahkan setelah proses penyimpanan (Rodgers *et al.*, 2004), kemudian pada produk blueberry dan raspberry dimana reduksi maksimal diperoleh pada suhu 4 °C (Bialka & Demirci, 2007). Semakin tinggi RH maka stabilitas ozon akan meningkat, teori ini diperkuat pada produk anggur dengan RH tinggi sebesar 95% dapat mereduksi mikroba pada produk secara maksimal (Ozkan *et al.*, 2011). Kelembapan relatif (RH) berperan penting dalam inaktivasi seluruh patogen, apabila RH rendah maka pertumbuhan mikroba tidak akan maksimal sehingga efektivitas sanitiser dalam mereduksi patogen tidak maksimal. RH optimal untuk inaktivasi mikroba dengan ozon adalah 90-95%, ≤ 50% ozon akan kehilangan peran sebagai sanitiser (Steve, 2003).

Perlakuan tambahan seperti penyimpanan dengan suhu rendah juga akan mempengaruhi kualitas produk buah, dimana dengan penyimpanan suhu rendah maka secara otomatis akan semakin menekan pertumbuhan mikroba sehingga umur simpan menjadi lebih lama (Fatima *et al.*, 2013). Teori tersebut juga dipertegas oleh (Toivonen & Stan, 2004) yang mengatakan bahwa produk yang telah melewati perawatan dengan ozon maka laju respirasi produk akan terhambat. Produk yang telah diolah dengan ozon dan disimpan dengan suhu rendah dalam jangka waktu lama akan mengalami penurunan laju respirasi secara signifikan. Ozon juga dapat memperlambat peningkatan etilen dan produksi bakteri pada buah, hal ini telah terbukti pada produk buah kiwi yang melalui proses penyimpanan suhu rendah dalam waktu sedang (3 bulan) dan waktu lama (5 bulan) (Minas *et al.*, 2012). Etilen memainkan peran penting dalam proses pematangan produk, sehingga dapat dikatakan bahwa kombinasi perlakuan ozon dengan penyimpanan terkontrol (suhu rendah) sangat penting untuk menghambat laju respirasi dan produksi etilen sehingga kualitas produk terjaga hingga tangan konsumen. Ozon dapat mengurangi kandungan etilen di udara dalam penyimpanan suhu rendah dan hal ini telah dibuktikan efektif dalam menghilangkan etilen pada wadah produk ekspor (Vithu *et al.*, 2015). Ozon menimbulkan reaksi oksidasi sepenuhnya dengan etilen dan meninggalkan karbon dioksida, oksigen dan air (Vithu *et al.*, 2015),



Komponen produk pangan juga berpengaruh pada kekuatan bakteriosida ozon melawan bakteri (Guzel *et al.*, 2004) menguji kemanjuran ozon pada konsentrasi 0,4 ppm selama 10

menit untuk mengurangi spora *Bacillus stearothermophilus*, sel vegetatif dari *E. coli* dan *Staphylococcus aureus* dengan adanya komponen lemak, protein dan karbohidrat yang kemudian menghasilkan bahwa pati tidak memberikan atau memiliki sedikit pengaruh pada tingkat perlindungan populasi bakteri. Kandungan organik pada produk juga berpengaruh pada kestabilan ozon dalam inaktivasi bakteri. Bahan organik terlarut akan mengurangi aktivitas desinfeksi, yang dimana juga mengurangi konsentrasi spesies aktif yang tersedia untuk bereaksi dengan mikroorganisme (Vithu *et al.*, 2015). Teori tersebut didukung oleh hasil inaktivasi *E.coli* pada jus jeruk bahwa khasiat ozonisasi berkurang dengan adanya asam askorbat dan materi organik (Williams *et al.*, 2004). Karakteristik permukaan produk juga dapat berpengaruh pada populasi mikroba, lipatan dan lekukan pada permukaan tomat memungkinkan kelangsungan hidup bakteri walaupun telah dilakukan proses sanitasi dengan ozon (Long *et al.*, 2011).

4.2. Mekanisme Antimikroba dan Degradasi Toksin Ozon

Ozon memiliki sifat antimikroba sekaligus telah menjadi agen pengoksidasi potensial dalam membantu menghilangkan patogen yang merugikan yang sangat menguntungkan industri pangan dalam menghasilkan produk yang berkualitas tanpa meninggalkan residu pada produk akhir. Konsentrasi rendah dengan waktu kontak singkat serta pada suhu ruang cukup untuk menonaktifkan bakteri, ragi, jamur, dan virus (Kim *et al.*, 1999). Proses ozon dalam menghancurkan mikroorganisme adalah melalui proses oksidasi progresif komponen seluler vital, dan permukaan sel bakteri telah menjadi target utama bagi ozon. Dua mekanisme utama ozon dalam proses inaktivasi target adalah dimulai dengan ozon mengoksidasi kelompok sulfidril dan asam amino dari enzim, peptida dan protein menjadi kelompok peptida lebih kecil kemudian dilanjutkan dengan ozon mengoksidasi asam lemak tak jenuh ganda menjadi asam peroksida (Nath *et al.*, 2014). Degradasi ozon dari sel lemak tak jenuh mengakibatkan gangguan dan kebocoran sel sehingga sel bakteri melisis. Teori tersebut juga diperkuat oleh (Fatima *et al.*, 2013) yang mengatakan bahwa selain ozon dapat menembus sel bakteri, ozon juga dapat mengoksidasi komponen penting pada bakteri seperti enzim, protein dan asam nukleat. Hal ini dibuktikan oleh (Komanapalli & Lau, 1996) yang memverifikasi bahwa target utama ozon pada sel *E. coli* adalah membran bakteri yang mempengaruhi komponen lemak dan protein, meskipun permeabilitas membran dikompromikan dengan interval waktu yang pendek dari paparan ozon, sel bakteri masih mampu bertahan karena tidak ada kerusakan yang terlihat pada komponen intrasel dan tidak ada perubahan viabilitas yang terjadi. Namun, bila sel bakteri mengalami paparan ozon

berkepanjangan (*continuous*) maka intrasel protein dan DNA terpengaruh sehingga terjadi penurunan dalam kelangsungan hidup sel bakteri.

Ikatan ganda dari asam lemah tak jenuh sangat rentan pada paparan ozon (Kim *et al.*, 1999). Oksidasi ozon dari sel protein internal menyebabkan kematian sel, kematian sel juga dapat terjadi karena hancur atau rusaknya asam nukleat, timin lebih sensitif pada paparan ozon dibandingkan sitosin atau urasil. Ozon juga menghancurkan RNA virus dan mengubah rantai polipeptida pada protein (Guzel *et al.*, 2004).

Residu pestisida merupakan zat tertentu yang terkandung pada produk pangan, komoditas pertanian atau pakan ternak yang dianggap zat toksik (FAO, 2001). Pestisida memiliki dampak yang buruk bagi kesehatan manusia yang akan mengakibatkan penyakit kronis seperti kanker, diabetes, gangguan kelahiran dan reproduksi (Parron *et al.*, 2014). Beberapa review telah menyelidiki potensi ozon dalam mengurangi tingkat residu pestisida di produk pangan, terutama tentang pencucian buah dan sayur menggunakan air terozonisasi. Degradasi residu pestisida dapat terjadi melalui jalur molekuler. Jalur reaksi ozon dengan makanan yang menimbulkan reaksi selektif terutama dengan hidrokarbon tak jenuh dan aromatik atau dengan jalur tidak langsung yang melibatkan radikal dengan potensi oksidasi lebih tinggi yang dapat menyerang molekul organik dan anorganik dengan reaksi non selektif (Ormad *et al.*, 2008) (Ikehata *et al.*, 2006). Teknik ozonisasi lebih efisien dibandingkan dengan klorin karena menghilangkan sekitar 70% pestisida dan setelah perawatan dengan ozon tidak membentuk trihalometana. Aplikasi gelembung mikro ozon (diameter $<50 \mu\text{m}$) di dalam air dengan konsentrasi rendah (1 hingga 2 ppm) untuk mencuci buah dan sayur efektif dalam menghilangkan residu pestisida dengan cepat, gelembung mikro memungkinkan ozon yang sangat tidak larut dalam air akan dengan mudah larut dan menghasilkan radikal hidroksil dengan jumlah tinggi yang sangat efektif dalam menguraikan molekul organik (Ikeura *et al.*, 2013). Berikut efektivitas ozon dalam mendegradasi pestisida pada produk buah segar (buah *citrus* dan anggur),

Tabel 9. Perbandingan Konsentrasi Sanitizer Ozon pada Hasil Reduksi Pestisida Buah Segar

Produk	Pestisida	Konsentrasi (ppm)	Waktu (menit)	Reduksi	Referensi
Buah <i>citrus</i> (Jeruk,Limau,Lemon)	<i>chlorothalonil</i>	10	5	100%	(Kusvuran <i>et al.</i> , 2012)
	<i>tetradivon</i>	10	5	98.6%	(Kusvuran <i>et al.</i> , 2012)
	<i>chloropyrifos</i>	10	5	94.2%	(Kusvuran <i>et al.</i> , 2012)
Anggur	<i>fenhexamid</i>	10000	60	68.5%	(Gabler <i>et al.</i> , 2010)
	<i>cyprodinil</i>	10000	60	75.4%	(Gabler <i>et al.</i> , 2010)
	<i>pyrimethanil</i>	10000	60	83.7%	(Gabler <i>et al.</i> , 2010)
	<i>pyraclostrobin</i>	10000	60	100%	(Gabler <i>et al.</i> , 2010)
Apel	<i>mancozeb</i>	1-3	5-30	97%	(Hwang <i>et al.</i> , 2001)
Tomat (cherry)- Ozon <i>bubble</i> (sirkulasi gas-air)	<i>fenitrothion</i>	500	10	84%	(Ikeura <i>et al.</i> , 2011)
Strawberry- Ozon <i>bubble</i> (sirkulasi gas- air)	<i>fenitrothion</i>	500	10	62%	(Ikeura <i>et al.</i> , 2011)
Tomat (cherry)- Ozon <i>bubble</i> (tipe dekompresi)	<i>fenitrothion</i>	500	10	95%	(Ikeura <i>et al.</i> , 2011)
Strawberry- Ozon <i>bubble</i> (tipe dekompresi)	<i>fenitrothion</i>	500	10	87%	(Ikeura <i>et al.</i> , 2011)
Tomat	<i>dichlorvos</i> (DDVP)	6	15	91.9%	(Heshmati & Nazemi, 2017)
Tomat	<i>mancozeb</i>	1 3	20	43% 65%	(Cengiz & Certel, 2014)
Tomat	<i>azoxystrobin</i>	1	5	27%	(Lozowicka &

					Jankowska, 2016)
Produk	Pestisida	Konsentrasi (ppm)	Waktu (menit)	Reduksi	Referensi
Tomat	<i>boscalid</i>	1	5	22%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Tomat	<i>cyprodinil</i>	1	5	37%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Tomat	<i>fludioxonil</i>	1	5	48%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Tomat	<i>pyraclostrobin</i>	1	5	37%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
<i>Blackcurrant</i>	<i>boscalid</i>	1	5	38%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
<i>Blackcurrant</i>	<i>bupirimate</i>	1	5	45%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
<i>Blackcurrant</i>	<i>lambda</i> <i>cyhalothrin</i>	1	5	37%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
<i>Blackcurrant</i>	<i>pyraclostrobin</i>	1	5	33%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>alpha-</i> <i>cypermethrin</i>	1	5	50%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>boscalid</i>	1	5	59%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>bupirimate</i>	1	5	38%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>chlorpyrifos</i>	1	5	65%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>cyprodinil</i>	1	5	36%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>deltamethrin</i>	1	5	54%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>fludioxonil</i>	1	5	43%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>iprodione</i>	1	5	35%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>lambda</i>	1	5	31%	(Lozowicka &

	<i>cyhalothrin</i>				Jankowska, 2016)
Strawberry	<i>pyraclostrobin</i>	1	5	50%	(Lozowicka & Jankowska, 2016)

Residu pestisida merupakan zat tertentu yang terkandung dalam produk pangan, salah satunya adalah komoditas pertanian. Residu pestisida ini timbul dari dampak penggunaan pestisida termasuk produk konversi, metabolit, produk reaksi dan pengotor yang dianggap bersifat toksikologis (FAO, 2001). Potensi penggunaan ozon untuk mengurangi residu pestisida menjadi perhatian beberapa tahun terakhir, terkhusus studi mengenai pencucian dengan air terozonisasi pada produk buah dan sayur (Trombete *et al.*, 2016). Metode yang dilakukan adalah menggunakan metode *bubbling* gas ozon dipompa ke dalam air deionisasi steril pada laju aliran tertentu dengan waktu yang diinginkan. Konsentrasi ozon dalam air ditentukan dengan metode *colorimetric* (Bader & Hoigne, 1981) (Chenghui *et al.*, 2020). *Pre-treatment* yang dilakukan sebelum aplikasi dengan ozon adalah produk yang telah melewati proses sortasi dan *grading* terlebih dahulu dicuci dengan air kran selama waktu yang ditentukan dan dikeringkan secara alami (Chenghui *et al.*, 2020).

Pada tabel 9, diketahui bahwa pengurangan residu pestisida untuk seluruh produk telah sesuai dengan peraturan MRL yaitu pengurangan pestisida mencapai $\geq 35\%$. Namun untuk beberapa pestisida seperti lambda-cyhalothrin pada produk strawberry dan azoxystrobin serta boscalid pada produk tomat hanya mengurangi residu sebesar 22-31%, hal ini dapat disebabkan karena karakteristik antar buah berbeda ataupun ozon yang berikatan dengan radikal bebas antar pestisida berbeda. Pengurangan residu mancozeb pada tomat mencapai 43-65%, hal ini sesuai dengan teori bahwa perlakuan konsentrasi tinggi pada waktu kontak yang sama akan lebih efektif konsentrasi lebih tinggi dalam mereduksi kontaminan. Tingkat pengurangan residu pestisida terjadi maksimal ketika konsentrasi ozon yang digunakan tinggi (2500-10000 ppm) dalam waktu singkat (hingga 2 jam) seperti pada produk anggur yang dapat mereduksi pyraclostrobin hingga 100%, namun hal ini akan berdampak pada kerusakan signifikan pada buah, maka dari itu paparan terus menerus (*continuous*) dengan konsentrasi lebih rendah lebih disarankan untuk menghilangkan residu pestisida (Karaca *et al.*, 2012).

Pada salah satu jurnal dengan produk tomat dan strawberry, penulis menguji tentang efektivitas generator ozon *bubble* (OMB) dengan jenis yang berbeda yaitu jenis sirkulasi air-

gas dan jenis dekomposisi untuk menghilangkan fenitrothion, hasil menunjukkan bahwa generator jenis dekomposisi lebih efektif dalam menghilangkan fenitrothion yaitu sebesar 87-95% pada produk strawberry dan tomat, hal ini terjadi karena pada jenis sirkulasi air-gas gelembung ozon mengalami pemecahan sehingga terjadi pembentukan ion hidroksil (OH) dalam jumlah besar (Ikeura *et al.*, 2011). Aplikasi pencucian buah dan sayur dengan gelembung mikro ozon (diameter <50 μm) di air dengan konsentrasi rendah (1-2 ppm) efektif dalam mereduksi residu pestisida (Ikeura *et al.*, 2013). *Microbubbles* memungkinkan ozon tidak mudah larut dalam air sehingga menghasilkan radikal hidroksil lebih tinggi guna menguraikan molekul organik (Trombete *et al.*, 2016). Efektivitas pengurangan residu pestisida bergantung pada waktu perawatan dan konsentrasi senyawa kimia yang diberikan (Hwang *et al.*, 2001). Terlepas dari dampak positif ozon dalam menjaga kualitas dan umur simpan produk, kandungan nutrisi dan sifat organoleptik produk masih menjadi perhatian utama industri pangan yang masih dipelajari secara intensif (Kim *et al.*, 1999).

Aplikasi ozon pada produk pangan terkhusus pada produk buah segar telah terbukti efektif dalam mereduksi mikroba patogen pada buah seperti *E. coli*, *L. monocytogenes* dan *Salmonella*, mampu menghilangkan 60% hingga 99,9% pembentuk spora bakteri seperti *B. cereus* dan *B. stearothermophilus* (Tanmayee *et al.*, 2019). Aplikasi ozon dengan konsentrasi rendah pada proses penyimpanan terbukti efektif dalam menghambat sporulasi jamur hingga mencegah produksi mikotoksin pada produk (aflatoksin, fumonisin, citrinin, patulin) (Hansen *et al.*, 2013). Kemanjuran ozon dalam mereduksi residu pestisida pada buah segar juga telah terbukti pada jurnal ilmiah yang tersedia. Pengurangan pada 44 tipe residu pestisida oleh ozon telah ditemukan (Ormad *et al.*, 2008).

4.3. Faktor Efektivitas Sanitasi dengan Klorin Dioksida

Klorin dioksida merupakan salah satu sanitizier yang efektif dan memiliki kapasitas oksidasi yang tinggi bahkan pada konsentrasi rendah (0.1 mg/l) dengan rentang pH yang cukup luas (pH 3 dan 8) dan stabil pada suhu ruang (20-25 °C) (Park & Kang, 2015). Pada fase gas, warna ClO₂ kuning kehijauan dan beraroma menyengat, senyawa ini sangat stabil di dalam air terkhusus air dingin. Tingkat penyerapan gas ClO₂ lebih tinggi dibandingkan disinfektan lain dan pada aplikasi pangan ClO₂ memiliki efek anti mikroba terhadap beberapa mikroorganisme seperti *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, ragi dan kapang yang terdapat pada permukaan produk pertanian termasuk buah, sayur, dan daging mentah (Gomez-Lopez *et al.*, 2009). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi efektivitas ClO₂

dalam proses inaktivasi mikroorganisme pada produk pangan yaitu konsentrasi gas, waktu kontak, *relative humidity* dan suhu (Han *et al.*, 2001). Kelembapan relatif (RH), waktu kontak dan konsentrasi ClO₂ menjadi faktor yang sangat berpengaruh pada pengurangan log mikroba pada produk buah segar, semakin tinggi kelembapan relatif maka inaktivasi mikroba semakin besar dikarenakan apabila RH tinggi maka mikroba akan berkembang dimana membran sel akan meluas sehingga gas ataupun larutan ClO₂ dapat dengan mudah masuk ke dalam sel sehingga tingkat inaktivasi mikroba semakin tinggi (Westphal *et al.*, 2003). Teori tersebut telah sesuai dengan hasil sebagai berikut,

Tabel 10. Faktor RH dan Konsentrasi pada Efektivitas Sanitizer ClO₂ pada Buah Segar

Produk	Konsentrasi ClO ₂ (mg/l)	Waktu (menit)	RH (%)	Reduksi <i>E. coli</i>	Reduksi <i>L. monocytogenes</i>	Reduksi <i>Salmonella</i>	Referensi
Strawberry Log CFU/strawberry	0,5	10	90- 95	2,4	2,3	2,7	(Mahmomud <i>et al.</i> , 2007)
	3,0	10	90- 95	4,5	4,6	4,0	(Mahmomud <i>et al.</i> , 2007)
	5,0	10	90- 95	4,6	4,7	4,3	(Mahmomud <i>et al.</i> , 2007)
Jeruk Log CFU/cm ²	0,1	10	90- 95			2,2	(Bhagat A. , 2009)
	0,3	10	90- 95			-Tidak terdeteksi-	(Bhagat A. , 2009)
	0,5	10	90- 95			-Tidak terdeteksi-	(Bhagat A. , 2009)

Tabel 11. Faktor Waktu Kontak, Suhu dan Konsentrasi pada Efektivitas Sanitizer ClO₂ pada Buah Segar

Produk	Mikroorganisme	Konsentrasi ClO ₂ (mg/l)	Waktu Kontak	Suhu (°C)	Penurunan Log CFU/g	Referensi
Apel	<i>L. monocytogenes</i>	4,0	10 menit 30 menit	21	3,2 5,5	(Du <i>et al.</i> , 2002)
Apel	<i>A. acidoterrestris</i>	0,39 0,50 0,60	1 jam 2 jam 3 jam	21	2,7 3,7 4,5	(Lee <i>et al.</i> , 2006)
Apel	<i>A. acidoterrestris</i>	4,32	60 menit	20-23	>5	(Lee <i>et al.</i> , 2006)
Apel	<i>E. coli</i>	50 100 200	20 menit	20-24	-Tidak terdeteksi-	(Chao-Chin <i>et al.</i> , 2011)
Apel	<i>Enterobacter sakazakii</i>	100	1 menit	20-25	≥4,49	(Kim <i>et al.</i> , 2006)
Tomat	<i>S. enterica</i>	8,0 10 10	60 detik 120 detik 180 detik	25	2,94 3,86 4,87	(Trinetta <i>et al.</i> , 2010)
Tomat	<i>S. enterica</i>	20	1 menit	20-23	5	(Pao <i>et al.</i> , 2007)
Tomat	<i>E. coli</i>	50 100 200	20 menit	20-24	-Tidak terdeteksi-	(Chao-Chin <i>et al.</i> , 2011)
Tomat	<i>Salmonella sp.</i>	4,1	25 menit	20-23	4,33	(Vicente <i>et al.</i> , 2009)
Blueberry	<i>L. monocytogenes</i> <i>S. typhimurium</i> <i>S. aureus</i>	15,0	120 menit 20 menit 30 menit	20-23	4,88 3,32 4,56	(Wu & Kim, 2007)
Blueberry	<i>L. monocytogenes</i> <i>Salmonella sp.</i> <i>E. coli</i>	4,0	720 menit	20-23	3,94 3,8 4,25	(Popa <i>et al.</i> , 2007)
Strawberry	<i>Salmonella enterica</i>	5,0	10 menit	20-23	4,3 4,6	(Mahmomud <i>et al.</i> , 2007)

Produk	Mikroorganisme	Konsentrasi ClO ₂ (mg/l)	Waktu Kontak	Suhu (°C)	Penurunan Log CFU/g	Referensi
	<i>E. coli</i>				4,7	
	<i>L. monocytogenes</i>					
Strawberry	<i>E. coli</i>	4,0	30 menit	22	>5	(Han <i>et al.</i> , 2004)
	<i>L. monocytogenes</i>					
Strawberry	<i>E. coli</i>	0,2	15 menit	21	1,2	(Han <i>et al.</i> , 2004)
		0,6	30 menit		2,4	
			15 menit		1,9	
			30 menit		3,0	
Strawberry	<i>L. monocytogenes</i>	0,2	15 menit	21	1,8	(Han <i>et al.</i> , 2004)
		0,6	30 menit		2,8	
			15 menit		2,6	
			30 menit		3,6	
Persik	<i>Salmonella</i>	1,4-4,1	6-25 menit	22	1,00-3,23	(Sy <i>et al.</i> , 2005)
Jeruk	<i>Salmonella enterica</i>	0,1-0,5	14 menit	22	>5	(Bhagat <i>et al.</i> , 2011)

Pre-treatment yang dilakukan pada sampel produk buah segar untuk produk strawberry dan tomat dapat disimpan pada suhu 4 °C sedangkan produk apel dan jeruk dapat disimpan di suhu ruang 23 °C selama 24 jam sebelum dilakukan perawatan dengan gas ClO₂ (Valentina *et al.*, 2011). Seluruh produk telah dipastikan melewati proses sortasi dan *grading*. *Pre-treatment* tersebut dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas sanitiser pada mikroba alami yang sudah terkandung di produk. Apabila ingin mengetahui efektivitas sanitiser pada target kontaminan tertentu maka *pre-treatment* yang dilakukan berbeda. *Pre-treatment* yang dilakukan adalah proses inokulasi produk dengan kultur bakteri yang diinginkan. Produk disimpan pada kelembapan (RH) tinggi yaitu 90% selama 18-24 jam, kemudian diletakkan pada suhu ruang sekitar 23 °C sebelum dilakukan inokulasi. Produk dapat dikeringkan pada suhu ruang setelah melewati proses inokulasi dengan tujuan agar kultur bakteri semakin melekat pada produk (Michael *et al.*, 2007). Metode aplikasi dengan gas ClO₂ dimulai dengan menempatkan produk pada ruang (*chamber*) perawatan, kemudian gas ClO₂ diedarkan menggunakan kipas angin di dalam ruangan dengan RH dan sensor ClO₂

yang selalu dipantau. Setelah perawatan produk dapat dibilas dengan air suling dan dikocok dengan waktu dan kecepatan tertentu guna untuk menghilangkan sisa ClO_2 yang tertinggal pada permukaan produk (Valentina *et al.*, 2011).

Pada tabel 11, diketahui bahwa konsentrasi dan waktu kontak sangat berpengaruh pada efektivitas ClO_2 , selain itu apabila konsentrasi yang digunakan berbeda, dengan waktu kontak yang sama maka penurunan log terbesar terjadi pada konsentrasi yang lebih tinggi seperti pada produk apel dengan mikroba sasaran yaitu *A. acidoterrestris*, pada konsentrasi yang berbeda (0,39 dan 4,32 mg/l) dengan waktu kontak yang sama selama 1 jam menghasilkan penurunan log lebih besar pada konsentrasi 4,32 mg/l sebesar >5 CFU/g (Lee *et al.*, 2006). Hal yang sama juga terjadi pada produk tomat dengan mikroba sasaran yaitu *Salmonella enterica* pada konsentrasi yang berbeda (8,0 dan 20 mg/l) selama 1 menit menghasilkan penurunan log lebih besar pada konsentrasi 20 mg/l sebesar 5 CFU/g dibandingkan pada konsentrasi 8,0 mg/l hanya sebesar 2,94 CFU/g (Pao *et al.*, 2007) (Trinetta *et al.*, 2010). Kemudian apabila konsentrasi yang digunakan telah cukup tinggi maka tidak dibutuhkan waktu kontak lama seperti pada produk blueberry dengan mikroba sasaran yaitu *L. monocytogenes* pada konsentrasi berbeda (15,0 dan 4,0 mg/l) dengan waktu kontak (120 dan 720 menit) menghasilkan penurunan log lebih besar pada konsentrasi 15,0 mg/l dengan waktu kontak 120 menit yaitu sebesar 4,88 CFU/g (Wu & Kim, 2007) dibandingkan pada konsentrasi 4,0 mg/l hanya mereduksi sebesar 3,94 CFU/g (Popa *et al.*, 2007). Kelembapan relatif (RH) optimal untuk seluruh bakteri patogen tinggi yaitu antara 90-95%, hal ini dikarenakan apabila RH tinggi maka mikroba akan berkembang dimana membran sel akan meluas sehingga ClO_2 dapat dengan mudah masuk ke dalam sel sehingga tingkat inaktivasi mikroba semakin tinggi (Westphal *et al.*, 2003). Teori ini telah sesuai dengan hasil jurnal pada produk strawberry dan jeruk dengan RH 90-95% dapat mengurangi hingga inaktivasi maksimal seluruh target mikroba patogen (Bhagat A. , 2009) (Mahmomud *et al.*, 2007).

Faktor lain seperti hubungan antara konsentrasi yang diterapkan dengan jumlah sampel yang diuji juga berpengaruh pada efektivitas ClO_2 sendiri, apabila jumlah sampel lebih besar tetapi ruang perawatan (*chamber*) kecil maka degradasi ClO_2 akan berlangsung cepat, peristiwa tersebut akan berdampak pada penurunan jumlah gas ClO_2 yang tersedia selama waktu yang telah ditentukan (Vicente *et al.*, 2009). Kualitas permukaan dan letak mikroba juga menjadi faktor penting yang sangat mempengaruhi efektivitas ClO_2 , permukaan yang

tidak terluka akan menghasilkan penurunan log lebih signifikan dibandingkan dengan permukaan yang terluka (Suman *et al.*, 2020). Permukaan yang terluka (memar) dapat dijadikan sumber nutrisi bagi mikroba. Hal ini telah dibuktikan oleh hasil salah satu jurnal yang dilakukan (Kaye *et al.*, 2005),

Tabel 12. Faktor Kualitas Permukaan dan Letak Mikroba pada Efektivitas ClO₂ pada Buah Segar

Produk	Mikroba	Letak Inokulasi	Waktu Kontak (menit)	Konsentrasi ClO ₂ (mg/l)	Pengurangan Log (CFU/g)
Blueberry	<i>Salmonella sp.</i>	Kulit	30	4,1	2,95
			60	6,2	3,56
			120	8,0	3,67
		Jaringan Kelopak	30	4,1	2,20
			60	6,2	1,88
			120	8,0	2,44
		Luka Batang	30	4,1	2,43
			60	6,2	2,36
			120	8,0	3,24
Strawberry	<i>Salmonella sp.</i>	Kulit	30	4,1	2,32
			60	6,2	3,33
			120	8,0	3,76
		Luka Batang	30	4,1	2,22
			60	6,2	2,80
			120	8,0	4,41
Raspberry	<i>Salmonella sp.</i>	Kulit	30	4,1	0,52
			60	6,2	1,06
			120	8,0	1,54

Treatment tersebut dilakukan dengan tingkat kelembapan (RH) 76-90% dengan suhu 23 °C. *Pre-treatment* yang dilakukan pada percobaan ini adalah seluruh produk buah segar disimpan pada suhu 4 °C selama maksimal 2 hari sebelum perawatan dengan ClO₂. Setelah

melewati proses penyimpanan, produk didiamkan dalam suhu ruang sekitar 23 °C selama \pm 1-2 jam, sampel sebelumnya telah melewati proses sortasi dan *grading* terlebih dahulu sebelum dilakukan proses inokulasi. Inokulasi bakteri pada produk dilakukan di dalam suhu ruang 22 °C dengan menggunakan *micropipettor* pada setiap lokasi inokulasi yang diinginkan (jaringan kelopak, kulit, bekas luka batang). Setelah proses inokulasi, produk diokulasi dalam tudung *biosafety*, dikeringkan selama 2 jam dalam suhu 22 °C dan disimpan di dalam wadah plastik dengan RH 62% selama 20 jam pada suhu 4 °C. Sebelum *treatment* dengan ClO₂, produk diletakkan pada tudung biosafety selama 2 jam dengan suhu 22 °C (Kaye *et al.*, 2005).

Perawatan produk dimulai dengan meletakkan produk dalam rak kabinet, sumber gas ClO₂ yang digunakan berasal dari *sachet* yang dipasok oleh ICA TriNova, Inc., Marietta, Ga. *Sachet* yang terdiri dari dua kompartemen, yang berisi impregnasi padat berpori granular yang dilapisi dengan natrium klorit dan sisi lainnya berupa butiran padatan berpori yang mengandung asam dan prekursor asam. Proses pemecahan septum antara dua kompartemen diikuti dengan proses pencampuran bahan kimia akan memulai produksi gas ClO₂. Pada review ini, 3 *sachet* digunakan untuk menyediakan gas ClO₂ sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan. Konsentrasi ClO₂ ditentukan dari melakukan proses titrasi jumlah yodium yang terbentuk dari hasil reaksi dengan kalium iodida yang menggunakan natrium tiosulfat sebagai titran. Produk ditempatkan pada rak terbawah kabinet tersebut, air panas dituangkan dalam *plastic weigh dis* dan diletakkan di rak terbawah setelah produk. *Sachet* diletakkan di rak teratas kabinet dengan tujuan agar kelembapan relatif (RH) dan konsentrasi gas ClO₂ maksimal (Kaye *et al.*, 2005).

Pada buah blueberry, diperoleh penurunan signifikan pada seluruh perawatan dengan ClO₂ terlepas dari letak inokulasi. Pengurangan tertinggi diperoleh pada saat konsentrasi ClO₂ 8 mg/l dengan waktu selama 120 menit. Pengurangan yang lebih rendah pada inokulasi di jaringan kelopak dan luka batang dikarenakan persentase yang lebih besar dari sel-sel pada kulit yang terpapar ClO₂ sehingga lebih rentan bagi mikroba untuk inaktivasi, sedangkan pada jaringan kelopak dan luka batang sel-sel masih cukup terlindungi. Hasil ini juga mendukung hasil review lain dengan produk apel, pengurangan populasi *L. monocytogenes* pada kulit mencapai 5,5 CFU/g sedangkan pada jaringan kelopak hanya 3,2 CFU/g dan rongga batang sebesar 3,6 CFU/g, perawatan ini dilakukan dengan konsentrasi ClO₂ sebesar 4.0 mg/l selama 10 menit dengan suhu 21°C dan RH 90% (Du *et al.*, 2002). Perbedaan

sensitivitas bakteri patogen produk dengan struktur permukaan serta morfologi antar produk akan berpengaruh pada perbedaan pada tingkat perlindungan sel terhadap paparan ClO_2 .

Pada buah strawberry, diketahui bahwa penurunan lebih tinggi terjadi pada konsentrasi 6,2 dan 8,0 mg/l. Hasil yang diberikan berbeda dengan blueberry dimana pada strawberry efektivitas konsentrasi ClO_2 tidak dipengaruhi oleh letak inokulasi, hal ini dapat disebabkan karena kesamaan dalam porositas kulit dan permukaan bekas luka batang serta efek perlindungan yang diberikan oleh jaringan batang blueberry berbeda. Jurnal lain mengungkapkan bahwa ClO_2 efektif dalam membunuh mikroba *E. coli* dan *L. monocytogenes* pada strawberry dengan perlakuan konsentrasi ClO_2 3 atau 5 mg/l selama 20-30 detik dapat menyebabkan pengurangan log sebesar 5 CFU/g, bahkan dengan konsentrasi 3 mg/l selama 5 menit dapat mereduksi log hingga kurang dari 1 (Han *et al.*, 2004). Perbedaan pengurangan log yang signifikan antara *Salmonella* dengan *E. coli* dan *L. monocytogenes* disebabkan oleh perbedaan sensitivitas bakteri, dan metode perawatan yang diaplikasikan seperti metode inokulasi serta pengambilan sel yang layak dari strawberry (Kaye *et al.*, 2005). Pada buah raspberry diperoleh hasil reduksi log tidak sebesar pada buah strawberry dan blueberry, hal ini terjadi karena kelembapan relatif (RH) yang diterapkan rendah yaitu hanya 75-83%, selain itu tingkat respirasi yang tinggi pada buah raspberry menyebabkan gas CO_2 yang cukup tinggi sehingga dapat melindungi permukaan buah dari paparan ClO_2 yang berakibat pada tidak maksimalnya inaktivasi *Salmonella* oleh ClO_2 .

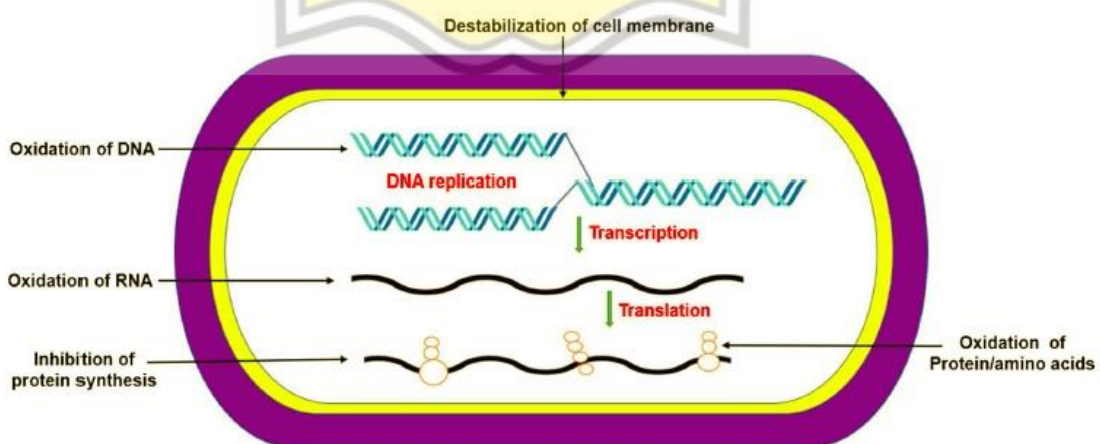
4.4. Mekanisme Antimikroba dan Degradasi Toksin Klorin Dioksida

Klorin dioksida (ClO_2) merupakan senyawa antimikroba yang sebagian besar telah digunakan oleh industri pangan, selain itu ClO_2 juga dikenal sebagai zat pengoksidasi yang cukup baik dikarenakan daya oksidasi nya mencapai 2.5 kali lebih besar dibandingkan klorin pada HOCl (Wu & Rioux, 2010). Penggunaan ClO_2 juga telah disetujui dan diakui aman oleh *Food and Drug Administration AS* untuk diaplikasikan pada produk segar pasca panen sejak tahun 2006 (Gomez-Lopez *et al.*, 2009). Pada peraturan UE tidak ditemukan tentang penerapan aplikasi pencucian ClO_2 pada produk segar (Lopez *et al.*, 2010), FDA juga telah menetapkan peraturan bahwa ClO_2 dapat menjadi senyawa antimikroba pada komoditas pertanian dengan syarat sisa residu ClO_2 dibawah 3 ppm dengan diikuti perlakuan pembilasan setelah perawatan dengan ClO_2 (Jennifer *et al.*, 2015). ClO_2 dikenal memiliki spektrum antimikroba yang luas dan terbukti efektif dalam melawan bakteri, virus, dan

patogen. Pada aplikasi produk pangan, ClO_2 memiliki efek antimikroba pada beberapa mikroorganisme penyebab kerusakan dan pembusukan produk seperti *E. coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella sp.*, ragi dan kapang yang dapat ditemukan pada permukaan buah, sayur dan daging mentah. Perawatan dengan klorin dioksida tidak mengubah kualitas nutrisi dari produk serta tidak menghasilkan senyawa karsinogenik (trihalometana) yang dapat membahayakan kesehatan manusia (Jin *et al.*, 2007). Klorin dioksida dalam wujud gas lebih efektif dibandingkan wujud cair dikarenakan apabila dalam bentuk gas lebih efisien dalam mencapai dan menonaktifkan sel patogen di bagian yang tidak terjangkau karena gas ClO_2 memiliki difusivitas dan penetrabilitas yang tinggi (Suman *et al.*, 2020).

Mekanisme sanitasi ClO_2 dikaitkan dengan daya oksidasi nya yang tinggi, dimana kapasitas oksidasi dipengaruhi oleh karakteristik struktural. Molekul ClO_2 memiliki 19 elektron valensi berpasangan dan elektron valensi tidak berpasangan yang berperan sebagai radikal bebas monomerik. Radikal bebas tersebut memiliki sifat oksidatif yang kuat sehingga menyebabkan ClO_2 memiliki kemampuan oksidasi yang kuat (Shan & Lu, 2013).

Membran sel menjadi target utama dari ClO_2 dalam inaktivasi mikroorganisme. ClO_2 dapat menembus dan mengoksidasi protein yang terdapat di permukaan sel sehingga menghasilkan gangguan metabolisme sel (Vandekinderen *et al.*, 2009). Klorin dioksida tidak hanya menembus membran sel mikroba, menghambat respirasi dan memperburuk gradien ion trans-membran namun juga memodifikasi konformasi protein dan lipid yang berada di luar membran (Praeger *et al.*, 2016). Mekanisme anti mikroba oleh ClO_2 dapat dilihat di gambar berikut,



Gambar 10. Mekanisme Anti-mikroba oleh ClO_2 (Suman *et al.*, 2020)

ClO_2 dapat menyebabkan destabilisasi membran sel, beberapa reaksi asam amino, gangguan sintesis protein, dan oksidasi asam nukleat (DNA/RNA) serta protein. Mekanisme mikroba oleh klorin dioksida dikaitkan dengan kemampuannya untuk mendestabilisasi membran sel, dimana senyawa organik di dalam sel teroksidasi dan protein di dalam sel membran bereaksi dengan ClO_2 sehingga mulai terjadi gangguan metabolisme sel (Suman *et al.*, 2020). ClO_2 dapat mengoksidasi asam amino terutama tirosin yang mempengaruhi sintesis protein dan metabolisme mikroba (Fu & Du, 2004). Teori tersebut juga dipertegas oleh (Buschini *et al.*, 2004) yang mengatakan bahwa ClO_2 dapat merusak sintesis protein dengan oksidasi, menyebabkan genotoksisitas, degradasi RNA (Simonet & Gantzer, 2006), pecahnya senyawa penting dalam reaksi biokimia (Sharma & Sohn, 2012) sehingga menyebabkan kematian mikroba.

Klorin dioksida juga dapat mendegradasi mikotoksin dengan menurunkan produksi racun atau merusak struktur toksin tersebut. Mekanisme kerja dari ClO_2 dalam mendegradasi mikotoksin trichothecene diawali dengan ClO_2 mengoksidasi dan membuka cincin dari kelompok epoksida dalam struktur trichothecene sehingga seluruh struktur molekul dapat dihancurkan (Swanson *et al.*, 1988), gugus kimia utama dari trichothecene seperti oksigen dan gugus hidroksil mengalami peristiwa oksidasi. Klorin dioksida dalam fase cair lebih baik dalam menghilangkan mikotoksin dibandingkan fase gas, dikarenakan pada fase cair peningkatan produksi radikal bebas lebih tinggi (Wilson *et al.*, 2005). ClO_2 dalam mendegradasi pestisida (*tebuconazole*) adalah dengan merusak ikatan C-C yang terhubung dengan gugus OH tersier dan menghasilkan kation butyl tersier dan p-klorobenzil sehingga mendistorsi penuh struktur senyawa (Yan *et al.*, 2019). ClO_2 terbukti dapat menurunkan beberapa tipe pestisida dari beberapa produk buah segar (Apel dan Anggur) sebagai berikut,

Tabel 13. Efektivitas ClO_2 dalam Mendegradasi Pestisida pada Buah Segar

Produk	Pestisida	Konsentrasi ClO_2 (mg/l)	Waktu	Suhu ($^{\circ}\text{C}$)	pH	Perlakuan Tambahan	Efektivitas	Referensi
Apel	<i>mancozeb</i>	5	0-30 menit	21	6,7	-	36-87%	(Hwang <i>et al.</i> , 2001)
	<i>ethylenethiourea</i>	10	0-30 menit	21	6,7	Penambahan 500 mg/l $\text{Ca}(\text{ClO})_2$	100%	(Wei <i>et al.</i> , 2018)

Anggur	<i>azoxystrobin</i>	0-183.79		Penyimpanan 27 hari di suhu 0 °C	50.71%	(Zhang & Fu, 2018)
	<i>dimethormoph</i>	0-183.79		Penyimpanan 27 hari di suhu 0 °C	41.06%	(Zhang & Fu, 2018)
	<i>tebuconazole</i>	0-183.79		Penyimpanan 27 hari di suhu 0°C	65.33%	(Zhang & Fu, 2018)
Anggur	<i>azoxystrobin</i>	140	120 menit		49.29%	(Wei <i>et</i> <i>al.</i> , 2018)
	<i>tebuconazole</i>	140	120 menit		34.67%	(Wei <i>et</i> <i>al.</i> , 2018)
	<i>dimethormoph</i> (z)	140	120 menit		58.94%	(Wei <i>et</i> <i>al.</i> , 2018)
	<i>dimethormoph</i> (e)	140	120 menit		60.52%	(Wei <i>et</i> <i>al.</i> , 2018)

Sebagian besar residu pestisida pada produk segar seperti buah dan sayur diperoleh pada permukaan (kulit) produk dan resistensi pestisida bergantung pada sifat fisikokimia dari molekul pestisida serta produk (Usha & Kulwant, 2014). Pencucian dan perawatan dengan larutan kimia seperti klorin dioksida, natrium bikarbonat, alkohol dapat menghilangkan sebagian besar residu pestisida (Gupta, 2006). Selain pencucian, pengupasan kulit buah juga berperan penting dalam mereduksi residu pestisida ke tingkat berbeda bergantung pada konstitusi buah, sifat kimia pestisida dan kondisi lingkungan (Awasthi, 1986). Proses pencucian dapat mengurangi kadar dimethoate dan fenthion pada mangga hingga 66-68% serta kadar fenvalerat dan sipermetrin menjadi 21-27% (Awasthi, 1993). Proses pengupasan kulit menghilangkan sebesar 100% residu pada produk (Usha & Kulwant, 2014). Degradasi pestisida dapat terjadi melalui proses fotolisis, hidrolisis, oksidasi dan reduksi, metabolisme, perlakuan suhu dan pH (Usha & Kulwant, 2014).

Pre-treatment yang dilakukan untuk analisis residu pestisida pada produk segar adalah produk direndam di dalam air yang mengandung pestisida dengan konsentrasi yang telah ditentukan (Fang *et al.*, 2014). Sampel produk yang digunakan telah melewati proses sortasi dan *grading*. Setelah perendaman, produk dikeringkan pada suhu ruang selama batas waktu tertentu (Wu *et al.*, 2007). Analisis residu pestisida dilakukan menggunakan gas *chromatography* (GC), alat ini digunakan untuk menentukan komposisi campuran zat kimia pada sampel.

Pada tabel 13, dapat diketahui bahwa efektivitas ClO_2 dapat maksimal apabila berada pada suhu ruang dengan cakupan pH yang cukup luas (pH 3-8). Pada produk apel diperoleh penurunan *ethylenethiourea* sebesar 100% dapat terjadi karena adanya penambahan kalsium hipoklorit ($\text{Ca}(\text{ClO})_2$) yang juga berperan sebagai disinfektan dan memiliki kandungan klorin bebas lebih banyak dibandingkan natrium hipoklorit. Perbedaan pengurangan residu antar mikotoksin dapat terjadi karena ClO_2 yang berikatan dengan radikal bebas antar pestisida berbeda. Pada produk anggur diperoleh pengurangan pestisida sebanyak 35-60% yang dimana telah memenuhi syarat MRL, hal ini dapat disebabkan oleh adanya hubungan ester asam fosfat yang tidak stabil dalam pestisida organofosfor yang membuatnya lebih rentan terhadap oksidasi dan mudah terurai menggunakan ClO_2 (Ong *et al.*, 1996).

Aplikasi klorin dioksida pada produk pangan terkhusus buah segar terbukti efektif dalam mereduksi mikroba patogen seperti *E. coli*, *L. monocytogenes*, *Salmonella* (Gomez-Lopez *et al.*, 2009). Namun jurnal yang membahas efektivitas ClO_2 dalam mereduksi residu pestisida pada produk buah segar tidak sebanyak sanitiser ozon. Kombinasi perlakuan antara ClO_2 dengan sanitiser lain seperti $\text{Ca}(\text{ClO})_2$ ataupun dengan penyimpanan suhu rendah dapat mereduksi residu pestisida pada produk lebih maksimal.