

**RANCANG BANGUN ALAT DESINFEKSI MIKROBIOLOGI PADA
MEDIA BOTOL MADU MENGGUNAKAN GAS OZON (O_3)**

Skripsi

Oleh

**Tresna Ananda
NPM. 1917041056**



**JURUSAN FISIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAUHAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
2024**

ABSTRAK

RANCANG BANGUN ALAT DESINFEKSI MIKROBIOLOGI PADA MEDIA BOTOL MADU MENGGUNAKAN GAS OZON (O_3)

Oleh

Tresna Ananda

Rancang bangun alat desinfeksi mikrobiologi *E.coli* pada media botol madu telah direalisasikan menggunakan gas ozon (O_3). Penelitian ini dilakukan dengan membangkitkan gas ozon menggunakan ozon generator yang yang bisa diubah kadarnya menggunakan Modul *Solid State Relay* 100A, 380V, DC control AC dan didorong oleh *fan DC* menuju *box container* melalui aluminium selang fleksibel. Rancang bangun alat desinfeksi mikrobiologi *E.coli* ini diimplementasikan pada botol madu milik PT. Suhita Lebah Madu Indonesia. Botol madu yang digunakan yaitu 9 buah botol madu ukuran 250 ml dengan 3 buah botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan gas ozon, 3 buah botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan sinar UV, dan 3 buah botol madu tanpa perlakuan desinfeksi sebagai kontrol. Pengujian dilakukan dengan waktu 30 menit. Hasil pengujian di Laboratorium Mikrobiologi menyatakan tidak terdapatnya mikrobiologi *E.coli* pada botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan gas ozon selama 30 menit, tidak terdapatnya mikrobiologi *E.coli* pada botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan sinar UV selama 30 menit, dan terdapat satu buah botol madu tanpa perlakuan desinfeksi positif mengandung mikrobiologi *E.coli*.

Kata kunci: Desinfeksi, *E.coli*, Ozon generator.

ABSTRACT

DESIGN AND MANUFACTURE OF A MICORBIOLOGICAL DISINFECTION TOOL FOR HONEY JAR MEDIA USING OZONE GAS (O₃)

By

Tresna Ananda

The design of a microbiological disinfection device for E.coli for honey bottle media has been realized using ozone gas (O₃). This research was conducted by generating ozone gas using an ozone generator that can be changed using a Solid State Relay Module 100A, 380V, DC control AC and driven by a DC fan to the container box through a flexible aluminum hose. The design of the E.coli microbiological disinfection device is implemented on honey bottles owned by PT Suhita Lebah Madu Indonesia. The honey bottles used are 9 250 ml honey bottles with 3 honey bottles that have been disinfected using ozone gas, 3 honey bottles that have been disinfected using UV light, and 3 honey bottles without disinfection treatment as control. The test was conducted for 30 minutes. The test results in the Microbiology Laboratory that there was no E.coli microbiology in honey bottles that had been disinfected using ozone gas for 30 minutes, there was no E.coli microbiology in honey bottles that had been disinfected using UV light for 30 minutes, and there was one honey bottle without treatment positive for E.coli microbiology.

Keywords: Disinfection, E.coli, Ozone generator.

**RANCANG BANGUN ALAT DESINFEKSI MIKROBIOLOGI PADA
MEDIA BOTOL MADU MENGGUNAKAN GAS OZON (O_3)**

Oleh

Tresna Ananda

Skripsi

**Sebagai Salah Satu Syarat untuk Memperoleh Gelar
SARJANA SAINS**

Pada

Jurusan Fisika

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam



**JURUSAN FISIKA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS LAMPUNG
BANDAR LAMPUNG
2024**

Judul Skripsi : "Rancang Bangun Alat Desinfeksi Mikrobiologi pada Media Botol Madu Menggunakan Gas Ozon O_3 "

Nama Mahasiswa : Tresna Ananda

Nomor Pokok Mahasiswa : 1917041056

Jurusan : Fisika

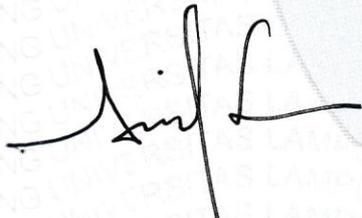
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

MENYETUJUI,

1. Komisi Pembimbing

Pembimbing I

Pembimbing II



Arif Surtono, S.Si., M.Si., M.Eng.
NIP.197109092000121001



Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si.
NIP. 198301312008121001

2. Ketua Jurusan Fisika

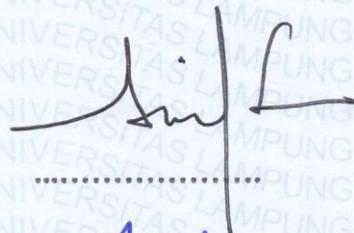


Gurum Ahmad Pauzi, S.Si., M.T.
NIP. 198010102005011002

MENGESAHKAN

1. Tim penguji

Ketua : Arif Surtono, S.Si., M.Si., M.Eng.



Sekretaris : Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si.

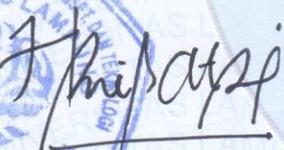


Penguji
Bukan Pembimbing : Sri Wahyu Suciyati, S.Si., M.Si.



2. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Dr. Eng Heri Satria, S.Si., M.Si.
NIP. 197110012005011002



Tanggal Lulus Ujian Skripsi : 24 April 2024

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah dilakukan orang lain dan sepengetahuan saya tidak ada karya atau pendapat yang ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini sebagaimana disebutkan dalam daftar pustaka. Selain itu, saya menyatakan pula bahwa skripsi ini dibuat oleh saya sendiri.

Apabila ada pernyataan saya yang tidak benar, maka saya bersedia dikenai sanksi sesuai dengan hukum yang berlaku.

Bandar Lampung, 28 Maret 2024



Tresna Ananda
NPM.1917041056

RIWAYAT HIDUP



Tresna Ananda lahir di Bekasi pada tanggal 12 November 2001. Penulis merupakan anak kedua dari 2 bersaudara dari pasangan Bapak Suryono dan Ibu Rohmah. Penulis menyelesaikan pendidikan di TK Gelatik pada tahun 2006, SDIT Patriot pada tahun 2013, SMPN 1 Sukatani pada tahun 2016, dan SMAN 1 Sukatani pada tahun 2019. Penulis terdaftar sebagai mahasiswa di Jurusan Fisika FMIPA Universitas Lampung melalui jalur SBMPTN tahun 2019.

Selama menempuh pendidikan di Universitas Lampung, penulis aktif tergabung organisasi Himpunan Mahasiswa Fisika (HIMAFI) sebagai anggota Minat dan Bakat tahun 2020, Staf Ahli Dinas Advokasi dan Kesejahteraan Mahasiswa Badan Eksekutif Masyarakat (BEM) FMIPA Unila tahun 2021, Anggota Keluarga Mahasiswa Nahdlatul Ulama 2021. Penulis juga sebagai asisten praktikum mata kuliah Fisika Eksperimen pada tahun 2023 dan Metode Pengukuran dan Kalibrasi pada tahun 2023.

Penulis melaksanakan Praktik Kerja Lapangan (PKL) di Pusat Penelitian dan Pengembangan Teknologi Ketenagalistikan, Energi Baru, Terbarukan, dan Konservasi Energi (P3TKEBTKE) di Bogor, dengan judul “Pra Studi Kelayakan Pembangunan PLTS Apung di Danau Towuti Menggunakan *Software* PVSyst”. Kegiatan pengabdian kepada masyarakat pernah penulis ikuti dalam program Kuliah Kerja Nyata Universitas Lampung tahun 2022 di Pekon Sukabumi, Kecamatan Talang Padang, Kabupaten Tanggamus. Penulis melaksanakan penelitian untuk menyusun skripsi dengan judul “**Rancang Bangun Alat Desinfeksi Mikrobiologi pada Media Botol Madu Menggunakan Gas Ozon**”

(O₃)” dibawah bimbingan Bapak Arif Surtono, S.Si., M.Si., M.Eng dan Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si.

MOTTO

*"It is possible to commit no mistakes and still lose. That is not a weakness.
That is life."* – David Kemper, *Star Trek: The Next Generation*

"Ever tried. Ever failed. No matter. Try again. Fail again. Fail better."
– Samuel Beckett, *Worstward Ho*

PERSEMBAHAN

**Dengan penuh rasa syukur kepada Allah SWT, kupersembahkan skripsi ini
kepada :**

Ibu Rohmah dan Irwanda

Orang tua serta kakak tercinta yang telah melahirkan, membesarkan, dan mendidikku, serta menjadi penyemangatku dalam menjalani hidup selama ini

Bapak/Ibu Dosen FISIKA FMIPA UNILA

Terima kasih telah memberikan bekal ilmu pengetahuan, nasihat, dan saran yang membangun kepadaku

Almamater Tercinta

Universitas Lampung

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT. Tuhan Yang Maha Esa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “**Rancang Bangun Alat Desinfeksi Mikrobiologi pada Media Botol Madu Menggunakan Gas Ozon (O_3)**”. Dengan segala kerendahan hati, penulis menyadari bahwa penyusunan skripsi ini masih terdapat kesalahan dan masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang bersifat membangun penulis harapkan untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini bermanfaat bukan hanya untuk penulis, tapi juga untuk para pembaca.

Bandar Lampung, 28 Maret 2024

Penulis

SANWACANA

Segala puji bagi Allah SWT yang telah memberikan taufik dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Rancang Bangun Alat Desinfeksi Mikrobiologi pada Media Botol Madu Menggunakan Gas Ozon (O_3)”. Dalam penyusunan skripsi ini, penulis menyadari tidak sedikit hambatan dan kesulitan yang dihadapi, namun berkat bantuan dan dukungan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat menyelesaikan skripsi ini. Penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. Bapak Arif Surtono, S.Si., M.Si., M.Eng selaku Dosen Pembimbing I yang telah membimbing, memberikan ilmu dan mengarahkan dalam proses penyusunan skripsi.
2. Ibu Dr. Kusuma Handayani, S.Si., M.Si. selaku Dosen Pembimbing II yang telah membimbing, memberikan ilmu, motivasi serta arahan dalam proses penyusunan skripsi.
3. Ibu Sri Wahyu Suciyati, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembahas yang telah memberikan saran dan masukan sehingga penulisan skripsi ini menjadi lebih baik.
4. Bapak Gurum Ahmad Pauzi, S.Si., M.T selaku Dosen Pembimbing Akademik dan Ketua Jurusan Fisika FMIPA Universitas Lampung yang telah membimbing penulis selama menjadi mahasiswa di Universitas Lampung.
5. Bapak Dr. Eng. Heri Satria, S.Si., M.Si. selaku Dekan FMIPA Universitas Lampung.

6. Seluruh Dosen Jurusan Fisika FMIPA Universitas Lampung yang telah memberikan banyak ilmu selama menjadi mahasiswa di Universitas Lampung.
7. Para Tenaga Kependidikan Jurusan Fisika yang telah membantu memenuhi kebutuhan administrasi penulis.
8. Orang tua Ibu Rohmah dan Kakak Irwanda yang senantiasa memberikan doa, semangat, motivasi, pengorbanan, nasihat serta kasih sayang kepada penulis.
9. Bapak Kasman, S.ST yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian.
10. PT Suhita Lebah Indonesia yang telah menjadi tempat penulis melakukan penelitian.
11. Teman-teman seperjuangan, Siti Aisyah, Mar Atun Nabilah Chaniago, Afifah Zahro, Frila Dwi Untari, Parikesit Asya Billhaque, Serli Assola Tynisa, dan Yuli Yana yang telah memberikan motivasi, bantuan, dan semangat kepada penulis selama menyelesaikan studi.
12. Teman-teman fisika angkatan 2019 yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi.
13. Semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan penelitian dan skripsi penulis.

Semoga Allah SWT membalas segala kebaikan dengan yang lebih baik, mempermudah segala urusannya dan menjadi pemberat amal di akhirat nanti.

Bandar Lampung, 25 Maret 2023
Penulis,

Tresna Ananda

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	i
DAFTAR ISI	ii
DAFTAR GAMBAR	iv
DAFTAR TABEL	v
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Batasan Masalah	3
1.5 Manfaat Penelitian	4
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Desinfeksi	5
2.2 Ozon	6
2.2.1 Ozon Generator	11
2.3 <i>Coliform</i>	13
2.3.1 <i>Escherichia Coli</i>	14
2.3.1.1 Morfologi dan Taksonomi <i>Escherichia Coli</i>	15
2.3.1.2 Patogenesis <i>Escherichia Coli</i>	16
2.4 Metode MPN	19
2.5 <i>Solid State Relay (SSR)</i>	21
2.6 <i>Pulse Width Modulation (PWM)</i>	23
2.7 <i>Relay Delay Timer</i>	24
III. METODE PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	26
3.2 Alat dan Bahan Penelitian	26
3.3 Metode Penelitian	28
3.3.1 Perancangan Alat Desinfeksi	28
3.3.2 Pembuatan Alat Desinfeksi	29
3.3.3 Pengambilan Sampel	30
3.3.4 Uji Mikrobiologi	30
3.3.4.1 Pembuatan Media	30
3.3.4.2 Pengujian Sampel	31
3.3.5 Analisa Data	34
3.4 Perancangan Perangkat Keras	34
3.4.1 Skematik Rangkaian Alat	34

3.4.2 Desain Rancangan Alat	35
3.5 Rancangan Penelitian	37
3.6 Data Hasil Pengujian	38

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Hasil Rancangan Alat	40
4.2 Hasil Pengujian Mikrobiologi	43

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan	56
5.2 Saran	56

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
2.1 proses pembentukan dan perusakan ozon secara alami	8
2.2 Pembentukan gas ozon melalui proses tumbukan	9
2.3 Desain ozon generator	12
2.4 Diagram skematis pembentukan ozon dengan metode <i>corona discharge</i>	13
2.5 Morfologi <i>Escherichia Coli</i>	16
2.6 Struktur dan antigen bakteri <i>Escherichia Coli</i>	17
2.7 <i>Solid State Relay</i>	22
3.1 Diagram alir penelitian	28
3.2 Diagram blok perancangan alat desinfeksi	29
3.3 Rangkaian skematik alat	34
3.4 Desain alat desinfeksi	35
3.5 Tampak dalam alat desinfeksi	36
3.6 Tampak atas alat desinfeksi	36
4.1 Hasil Rancangan Alat Tampak luar <i>Box Container</i>	40
4.2 Hasil Rancangan Alat Tampak dalam <i>Box Container</i>	41
4.3 Tampak Dalam Alat	42
4.4 Tampak Atas Alat	43
4.5. Hasil uji sampel 1 ozon pada kandungan sampel 1 ml	45
4.6 Hasil uji sampel 1 ozon pada kandungan sampel 0,1 ml	45
4.7 Hasil uji sampel 1 ozon pada kandungan sampel 0,01 ml	45
4.8 Hasil uji sampel 2 ozon pada kandungan sampel 1 ml	45
4.9 Hasil uji sampel 2 ozon pada kandungan sampel 0,1 ml	45
4.10 Hasil uji sampel 2 ozon pada kandungan sampel 0,01 ml	45
4.11 Hasil uji sampel 3 ozon pada kandungan sampel 1 ml	46
4.12 Hasil uji sampel 3 ozon pada kandungan sampel 0,1 ml	46

4.13 Hasil uji sampel 3 ozon pada kandungan sampel 0,01 ml	46
4.14 Hasil uji sampel 1 UV pada kandungan sampel 1 ml	47
4.15 Hasil uji sampel 1 UV pada kandungan sampel 0,1 ml	47
4.16 Hasil uji sampel 1 UV pada kandungan sampel 0,01 ml	47
4.17 Hasil uji sampel 2 UV pada kandungan sampel 1 ml	48
4.18 Hasil uji sampel 2 UV pada kandungan sampel 0,1 ml	48
4.19 Hasil uji sampel 2 UV pada kandungan sampel 0,01 ml	48
4.20 Hasil uji sampel 3 UV pada kandungan sampel 1 ml	48
4.21 Hasil uji sampel 3 UV pada kandungan sampel 0,1 ml	48
4.22 Hasil uji sampel 3 UV pada kandungan sampel 0,01 ml	48
4.23 Hasil uji sampel 1 tanpa perlakuan pada kandungan 1 ml	50
4.24 Hasil uji sampel 1 tanpa perlakuan pada kandungan 0,1 ml	50
4.25 Hasil uji sampel 1 tanpa perlakuan pada kandungan 0,01 ml	50
4.26 Hasil uji sampel 2 tanpa perlakuan pada kandungan 1 ml	50
4.27 Hasil uji sampel 2 tanpa perlakuan pada kandungan 0,1 ml	50
4.28 Hasil uji sampel 2 tanpa perlakuan pada kandungan 0,01 ml	50
4.29 Hasil uji sampel 3 tanpa perlakuan pada kandungan 1 ml	51
4.30 Hasil uji sampel 3 tanpa perlakuan pada kandungan 0,1 ml	51
4.31 Hasil uji sampel 3 tanpa perlakuan pada kandungan 0,01 ml	51
4.32 Hasil uji sampel 2 tanpa perlakuan pada media BGLB kandungan 1 ml	52
4.33 Hasil uji sampel 2 tanpa perlakuan pada media BGLB kandungan 0,1 ml	52
4.34 Hasil uji sampel 2 tanpa perlakuan pada media BGLB kandungan 0,01 ml	52

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
3.1 Kegiatan Penelitian	26
3.2 Rancangan Penelitian	37
3.3 Pengujian mikrobiologi <i>E.coli</i> dan <i>Coliform</i> dengan paparan ozon	38
3.4 Pengujian mikrobiologi <i>E.coli</i> dan <i>Coliform</i> dengan paparan sinar UV	39
3.5 Pengujian mikrobiologi <i>E.coli</i> dan <i>Coliform</i> tanpa perlakuan	39
4.1 Hasil pengujian mikrobiologi <i>E.coli</i> dengan gas ozon pada media LB	44
4.2 Hasil pengujian mikrobiologi <i>E.coli</i> dengan sinar UV pada media LB	46
4.3 Hasil pengujian mikrobiologi <i>E.coli</i> tanpa perlakuan pada media LB	49
4.4 Hasil uji sampel 2 botol madu tanpa perlakuan pada media BGLB	51
4.5 Hasil pengujian pada media Endo Agar beserta hasil uji mikroskop	53

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Madu adalah cairan alami yang umumnya mempunyai rasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dari sari bunga tanaman (floral nektar) atau bagian lain dari tanaman (ekstra floral nektar) atau ekskresi serangga. Madu mengandung sejumlah senyawa dan sifat antioksidan. Sifat antioksidan dari madu ini berasal dari zat-zat enzimatik seperti katalase, glukosa oksidase dan peroksidase, serta zat-zat nonenzimatik seperti asam askorbat, α -tokoferol, karotenoid, asam amino, protein, produk reaksi Maillard, flavonoid dan asam fenolat. Jumlah dan jenis antioksidan ini sangat tergantung pada sumber bunga atau varietas madu, dan telah banyak penelitian terdahulu yang menunjukkan bahwa adanya hubungan antara aktivitas antioksidan dengan kandungan total fenol (Wulandari, 2017).

Menurut Badan Pusat Statistik (2021), produksi madu di Indonesia sangat fluktuatif sejak tahun 2016 sampai tahun 2020. Pada tahun 2016, produksi madu nasional mencapai 362,2kL. Kemudian menurun pada tahun 2017 sekitar 85% menjadi 54,3kL. Pada tahun 2018 meningkat 171,3% menjadi 147,3kL. Produksi madu nasional kembali meningkat signifikan 238,1% menjadi 498kL setahun setelahnya. Namun, angkanya kembali turun 89,7% pada tahun 2020. Jumlahnya hanya mencapai 51,34kL sepanjang tahun 2020.

Sumatera berada di urutan kedua pada produksi madu mencapai 4,01kL atau 7,81% dari totalnya secara nasional, dengan Provinsi Lampung memproduksi sekitar 318,4 kL. Salah satu produksi madu yang ada di Lampung yaitu PT Suhita Lebah Indonesia. PT ini terletak di Purnawirawan 1 Lingkungan II, Kelurahan Langkapura, Kecamatan. Langkapura, Kota Bandar Lampung, Provinsi Lampung.

Pada PT Suhita Lebah Indonesia, kebersihan alat dan kemasan merupakan syarat penting yang harus dipenuhi agar mikroorganisme tidak dapat tumbuh dan berkembangbiak sehingga kualitas madu terjamin (Bogdanov *et al.*, 2004; Fatma dkk., 2017). Kualitas madu yang dikemas dan dikonsumsi tidak selamanya terjamin, dapat disebabkan oleh proses pengolahan yang kurang memperhatikan kebersihan dalam proses produksi serta kebersihan alat dan kemasan sehingga mikroorganisme dapat tumbuh dan berkembangbiak (Anam dan Andrianto, 2018). Jika botol madu tidak steril, maka akan tumbuh bakteri seperti *E.coli*, *coliform*, dan patogen lainnya. Bakteri patogen ini bila dikonsumsi oleh manusia maka akan menyebabkan gangguan pencernaan.

Usaha desinfeksi botol kemasan madu telah dilakukan di PT. Suhita Lebah Indonesia menggunakan sinar UV. Belum ada penelitian yang dilakukan untuk mengetahui efektivitas sinar UV dalam mendesinfeksi botol madu di PT. Suhita Lebah Indonesia. Namun faktanya, untuk mendesinfeksi botol madu menggunakan sinar UV membutuhkan waktu cukup lama sekitar 2 jam. Hal ini tentunya mengurangi produktivitas madu di PT. Suhita Lebah Indonesia.

Permasalahan yang ada yaitu kurangnya penelitian untuk desinfeksi kemasan yang digunakan untuk madu. Salah satu perusahaan madu di Inggris yaitu Northumberland Bees, mensterilisasi kemasan botol madu dengan cara dicuci, kemudian dipanaskan menggunakan oven sampai 140 derajat celsius, lalu didinginkan. Tutup botol kemasan dicuci menggunakan air panas dengan sabun dan ditiriskan dengan pengering. Hal ini tentunya memiliki resiko karena ketika botol kaca dipanaskan dengan suhu yang sangat tinggi, tentunya botol kaca tersebut menjadi lebih rentan pecah (Bees, 2018).

Penelitian ini bertujuan untuk membuat alat desinfeksi mikrobiologi dengan menggunakan gas ozon. Ozonisasi dapat menghilangkan polutan mikroorganisme dan polutan zat organik sekaligus karena hal ini tidak terlepas dari sifat ozon yang dikenal memiliki sifat radikal (mudah bereaksi dengan senyawa disekitarnya). Ozon dengan kemampuan oksidasinya dapat membunuh berbagai macam

mikoorganisme seperti bakteri *Escherichia coli*, *Salmonella enteriditis*, *coliform* serta berbagai bakteri pathogen dan lainnya (Handayani dan Iryani, 2019). Gas ozon dibangkitkan dengan cara mengubah oksigen (O_2) menjadi ozon (O_3) menggunakan tegangan tinggi pada ozon generator. Gas ozon dapat masuk ke celah sempit yang tidak dapat dijangkau oleh sinar UV dimana bakteri atau mikroorganisme lainnya dapat tumbuh sehingga gas ozon dapat menjadi solusi yang lebih baik dalam hal desinfeksi mikrobiologi bakteri.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Bagaimana cara membuat alat desinfeksi dengan menggunakan gas ozon?
2. Apakah gas ozon dan sinar UV dapat membunuh mikrobiologi *E.coli* dalam waktu 30 menit?
3. Apakah ada perbedaan antara botol madu sebelum mendapatkan perlakuan desinfeksi dengan botol madu setelah mendapatkan perlakuan desinfeksi?

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Membuat alat desinfeksi mikrobiologi dengan menggunakan gas ozon.
2. Membuktikan bahwa gas ozon dan sinar UV dapat membunuh mikrobiologi *E.coli* dalam waktu 30 menit.
3. Membuktikan adanya perbedaan antara botol madu sebelum mendapatkan perlakuan desinfeksi dengan botol madu setelah mendapatkan perlakuan desinfeksi.

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Membuat alat desinfeksi dengan menggunakan ozon.
2. Jenis ozon yang digunakan berupa gas.
3. Pemberian gas ozon dan sinar UV pada botol madu dilakukan selama 30 menit.

4. Botol yang digunakan pada penelitian ini adalah botol madu.
5. Ukuran botol madu yang digunakan adalah 250 ml.
6. Metode yang digunakan untuk pegujian mikrobiologi adalah metode MPN dengan media LB (*Lactose Broth*), media BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*), dan media Endo Agar.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat adanya penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Menghasilkan suatu instrumen berupa alat desinfeksi mikrobiologi pada media botol madu.
2. Menghasilkan metode baru pada bidang industri dan kesehatan.

II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Desinfeksi

Penelitian yang telah dilakukan sebelumnya berupa uji kebersihan alat dan kemasan yang dilakukan di Indonesia oleh Mirza (2014). Penelitian yang dilakukan berupa higiene sanitasi dan jumlah *coliform* pada air minum dengan menggunakan instrumen *check list higiene sanitasi depot air minum isi ulang*, sedangkan untuk pemeriksaan jumlah *coliform* dalam air minum menggunakan metode tabung ganda. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa dari 38 Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) terdapat 8 DAMIU (21,1%) dengan perilaku higiene yang tidak baik, dan 30 DAMIU (78,9%) dengan perilaku higiene yang baik. Uji *coliform* menyatakan bahwa dari 38 Depot Air Minum Isi Ulang (DAMIU) terdapat 16 DAMIU (42,1%) tidak memenuhi persyaratan jumlah *coliform*, dan 22 DAMIU (57,9%) memenuhi persyaratan jumlah *coliform*. Jumlah *coliform* dalam air disebabkan oleh desinfeksi yang tidak sempurna dan pembilasan galon yang rawan pencemaran. Desinfeksi yang digunakan dalam DAMIU biasanya menggunakan ozon dan sinar UV.

Penggunaan konsentrasi ozon yang digunakan dalam proses desinfeksi didasarkan pada jenis mikroorganisme dan pemilihan proses yang digunakan. Pada penelitian terdahulu, pemanfaatan ozon sebagai disinfektan pada pengolahan air dilakukan dengan menggunakan proses *batch* dimana ozon akan diinjeksikan ke dalam air pada suatu wadah dengan waktu kontak tertentu (Jannah dkk., 2021).

Disinfektan adalah bahan kimia yang memiliki sifat mampu membunuh mampu membunuh bentuk-bentuk perubahan mikroorganisme penyebab penyakit. Desinfektan yang ideal harus memiliki sifat-sifat yaitu: a) dapat membunuh

mikroorganisme, aktivitas anti mikroorganisme berspektrum luas terhadap sel-sel vegetative dari bakteri, kapang dan khamir untuk menghasilkan kematian yang cepat, b) ketahanan terhadap lingkungan (bahan organik, residu deterjen dan sabun, kesadahan air dan pH), c) tidak beracun dan tidak menyebabkan iritasi, d) larut dalam air dengan berbagai pengenceran, e) stabil dalam larutan pekat dan encer, g) mudah digunakan, h) banyak tersedia dan murah (Mandana, 2013).

Desinfeksi harus memenuhi persyaratan salah satunya yaitu dapat membunuh berbagai jenis dan seluruh populasi patogen yang kemudian menimbulkan bau yang ada di dalam air bersih dalam waktu dan suhu tertentu. Hal yang perlu diperhatikan dalam konteks desinfeksi adalah tentang bagaimana mencegah terjadinya pemindahan bibit penyakit ke tubuh manusia dengan cara desinfeksi. Ada 3 kategori mikroorganisme patogen di usus manusia yaitu bakteri, virus, dan kista amoeba (Rukmana, 2015).

Dibandingkan dengan desinfektan konvensional seperti senyawa khlor (khlorin) atau kaporit, ozon mempunyai banyak kelebihan. Senyawa khlorin dapat menimbulkan bau yang tajam. Selain itu, desinfeksi dengan menggunakan khlorin dapat menimbulkan dampak sampingan dengan terbentuknya senyawa trihalomethane (THMs) yang bersifat karsinogenik (Syafarudin dan Novia, 2013).

2.2 Ozon

Penelitian tentang ozon sebagai desinfektan telah banyak dikembangkan. Salah satu penelitian mengenai pengaruh kualitas air minum dalam kemasan terhadap konsentrasi ozon yang dilakukan oleh Handayani dan Iryani (2019). Pada penelitian ini menggunakan ozone DPD method dan analisis *E. coli*. Hasil yang didapat pada penelitian ini yaitu pada kemasan A cup 240 ml sebanyak 0,2 ppm, kemasan B cup 240 ml sebanyak 0,2 ppm, kemasan C cup 220 ml sebanyak 0,1 ppm, dan kemasan D cup 220 ml sebanyak 0,1 ppm. Dimana kadar ozon memang berkisar antara 0,1-0,4 ppm berdasarkan Surat Keputusan Menteri Perindustrian dan Perdagangan Nomor : 705/MPP/kep/11/2003. Di pabrik pengolahan air minum, ozon diproduksi ketika molekul oksigen (O_2) terdisosiasi oleh sumber energi menjadi atom oksigen

dan kemudian bertumbukan dengan molekul oksigen membentuk gas yang tidak stabil yaitu ozon (O_3), yang digunakan untuk mendesinfeksi air.

Penelitian berikutnya mengenai pengaruh waktu paparan gas ozon terhadap efektifitas penurunan bakteri *E. Coli* yang dilakukan oleh Ma'ruf dkk., (2018). Penelitian ini menguji perbedaan waktu paparan gas ozon terhadap pertumbuhan *E. Coli* dengan perlakuan 5 menit, 10 menit, 15 menit, 20 menit, dan 30 menit, dan kontrol tanpa paparan ozon. Hasil penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa waktu paparan gas ozon dapat menurunkan jumlah bakteri *E. Coli*. Mulai dari waktu 5 menit sampai 20 menit mengalami penurunan bakteri cukup signifikan begitupun di menit ke 25 sampai 30 hasilnya sama dengan 20 menit. Sedangkan dimana pada 5 menit jumlah rata-rata/*mean* $2,5 \times 10^6$ CFU/ml, 10 menit *mean* $1,25 \times 10^6$ CFU/ml, 15 menit *mean* $0,5 \times 10^6$ CFU/ml dan di 20, 25 dan 30 menit tidak terdapat pertumbuhan bakteri pada media CCA sedangkan kontrol tanpa pemaparan gas ozon memiliki *mean* 9×10^6 CFU/ml. Sehingga didapat kesimpulan untuk waktu paling efektif untuk membunuh bakteri *E. Coli* yaitu 20 menit dengan konsentrasi ozon 0,3 ppm.

Penelitian selanjutnya mengenai optimasi kadar ozon dalam proses desinfeksi bakteri *coliform* pada pengolahan air minum yang dilakukan oleh Jannah dkk., (2021). Penelitian ini membunuh mikroorganisme yang bersifat patogen dengan menginjektikan ozon yang berasal dari ozon generator dengan variasi kadar ozon yang ditetapkan. Persen degradasi bakteri yang merupakan persentase penurunan kandungan bakteri *coliform* yang terkandung dalam air harus mencapai 100% agar air layak untuk diminum. Pada penelitian ini didapatkan data bahwa persen degradasi terendah yaitu sebesar 47,83% pada kadar ozon 1,46 ppm, dan persen degradasi tertinggi yaitu sebesar 100% pada kadar ozon 2,45 ppm. Terdapat beberapa faktor penting yang mempengaruhi proses desinfeksi yaitu kadar desinfektan yang digunakan dan waktu kontak. Persen degradasi bakteri akan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya kadar desinfektan yang digunakan. Hal ini disebabkan oleh meningkatnya kadar ozon, sehingga radikal bebas yang dihasilkan ozon untuk mendegradasi mikroorganisme juga meningkat.

Ozon terbentuk secara alami melalui siklus Chapman, yaitu reaksi pemecahan molekul oksigen (O_2) oleh sinar UV menjadi 2 atom oksigen yang kemudian bereaksi dengan molekul oksigen lain sehingga terbentuk molekul ozon (O_3). Pembentukan molekul ozon paling banyak terbentuk di daerah tropis karena intensitas sinar UV paling optimum di daerah tropis (DLH Kota Yogyakarta, 2019), Proses pembentukan dan perusakan ozon secara alami ditunjukkan pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1 Proses pembentukan dan perusakan ozon secara alami (DLH Kota Yogyakarta, 2019).

Menurut Agung & Syakur (2011), ozon dapat terbentuk melalui dua proses yang berbeda, yaitu melalui proses tumbukan dan melalui proses penyerapan cahaya.

1. Pembentukan ozon melalui proses tumbukan

Proses ini dilakukan dengan melewati gas oksigen (O_2) pada daerah yang dikenai tegangan tinggi. Molekul oksigen ini akan mengalami ionisasi, yaitu proses terlepasnya suatu atom atau molekul dari ikatannya, menjadi ion-ion oksigen. Molekul-molekul oksigen yang terionisasi ini biasa disebut dengan plasma. Ion-ion tersebut kemudian berkombinasi dan menghasilkan ozon.

Pembuatan ozon dalam proses ini diawali dengan pembentukan oksigen radikal bebas dengan reaksi sebagai berikut.

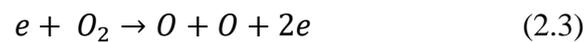
Disosiasi



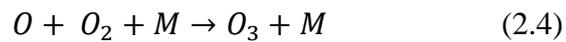
Pengikatan disosiatif



Ionisasi disosiatif

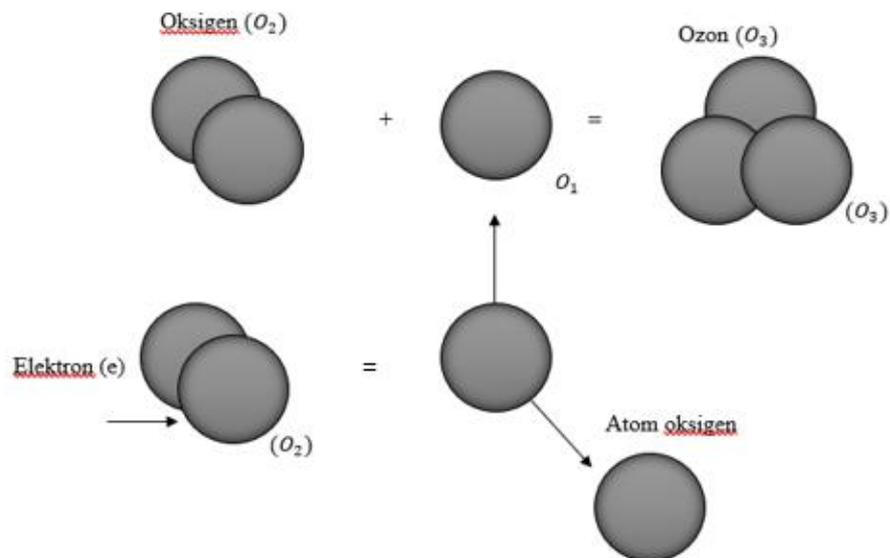


Kemudian radikal oksigen bereaksi dengan oksigen menghasilkan ozon.



Dimana M merupakan N_2 atau O_2 .

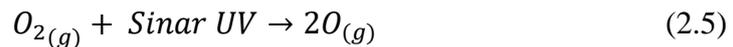
Gambar 2.2 merupakan proses pembentukan gas ozon melalui proses tumbukan.



Gambar 2.2 Pembentukan gas ozon melalui proses tumbukan
(Agung & Syakur, 2011).

2. Pembentukan ozon melalui proses penyerapan cahaya

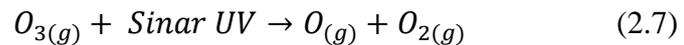
Gas oksigen dapat menyerap radiasi sinar UV dengan panjang gelombang kurang dari 240 nanometer, sedangkan gas ozon dapat menyerap radiasi sinar UV dengan panjang gelombang antara 240 nanometer sampai 290 nanometer. Karena gas oksigen menyerap radiasi sinar UV dengan panjang gelombang kurang dari 240 nanometer, maka gas oksigen tersebut akan terurai menjadi dua atom oksigen. Atom oksigen hasil reaksi tersebut sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan O_2 dan membentuk ozon (O_3).



Atom oksigen hasil reaksi tersebut sangat reaktif dan dapat bereaksi dengan O_2 dan membentuk ozon (O_3).



Reaksi di atas bersifat eksotermik, sehingga terjadi perubahan tiga molekul oksigen (O_2) menjadi dua molekul ozon (O_3) dan konversi radiasi sinar ultraviolet menjadi panas. Ozon menyerap radiasi sinar ultraviolet dengan panjang gelombang antara 240 sampai 290 nanometer. Reaksi tersebut menyebabkan ozon mengalami perubahan komposisi menjadi gas oksigen dan atom oksigen.



Reaksi tersebut juga bersifat eksotermik, sehingga reaksi ini mampu mengkonversi radiasi sinar UV menjadi panas.

Ozon dapat dibangkitkan melalui sintesis ozon, yaitu ionisasi oksigen menggunakan reaktor plasma. Ketika oksigen (O_2) melalui tegangan tinggi akan mengalami ionisasi yang merupakan proses terlepasnya suatu atom atau molekul dari ikatannya kemudian menjadi ion-ion oksigen dalam kondisi plasma. Plasma adalah partikel gas bermuatan yang terdiri dari ion positif, ion negatif, elektron dan radikal bebas yang kombinasinya akan membentuk ozon. Oksigen akan berubah menjadi ozon ketika melalui tegangan tinggi yang ada di dalam sistem reaktor plasma (Restianto, 2020).

Ozon merupakan oksidan yang dapat diaplikasikan pada air dan udara. Beberapa aplikasi untuk pengolahan makanan juga ada yang menggunakan ozon sebagai pengendali reaksi kimia dengan tujuan tertentu. Desinfektan yang ada juga banyak yang menggunakan ozon generator. Ozon banyak digunakan untuk mengolah makanan, karena dapat menggantikan zat aditif pada makanan serta ozon merupakan teknologi yang ramah lingkungan. Ozon menjadi alternatif bagi industri karena membersihkan makanan tanpa meninggalkan residu (Triawanto, 2016).

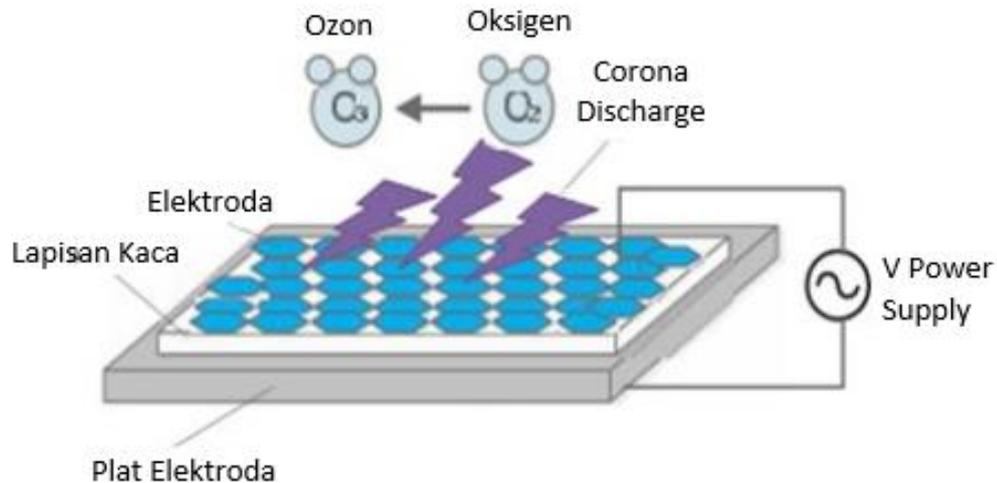
Ozon dimanfaatkan dalam bidang industri yang biasanya digunakan dalam berbagai proses seperti proses penghilangan warna, penghilangan bau, dan sebagai disinfektan. Pemanfaatan ozon sebagai disinfektan pada pengolahan air dilakukan pertama kali pada tahun 1906 di *Bon Voyage Water Treatment Plant*, Nice, Prancis. Proses pemanfaatan ozon sebagai disinfeksi mempunyai banyak kelebihan, salah satunya yaitu pada proses ini hanya memerlukan waktu yang sedikit, sehingga banyak waktu yang dapat dipangkas dibandingkan dengan menggunakan alat disinfeksi lainnya (Jannah dkk., 2021).

Ozon merupakan desinfektan yang kuat, sehingga beberapa peneliti memperlihatkan bahwa hanya dengan konsentrasi rendah (kurang dari 0,5 mg/liter), ozon dapat membunuh mikroba dalam air, bahkan dapat mensterilkan air. Ozon membunuh mikroorganisme dengan cara mengoksidasi dan menghancurkan dinding sel sehingga mampu membunuh mikroorganisme. Mekanisme disinfeksi ozon dengan cara mengoksidasi langsung ketika terjadi kontak antara ozon dengan dinding sel, suatu reaksi oksidasi terjadi sehingga menyebabkan lubang pada dinding sel sehingga bakteri mulai kehilangan bentuk atau pertahanan utamanya telah hancur. Ozon juga dapat menghambat pengendalian enzim yang bekerja pada metabolisme sel bakteri, sehingga dengan dosis yang tepat, membran sel bakteri dapat dirusak oleh ozon (Ma'ruf *et al.*, 2018).

2.2.1 Ozon Generator

Generator ozon dibuat menggunakan dua elektroda positif dan negatif yang diletakkan di antara lapisan kaca sebagai pelindung untuk menghindari kontak

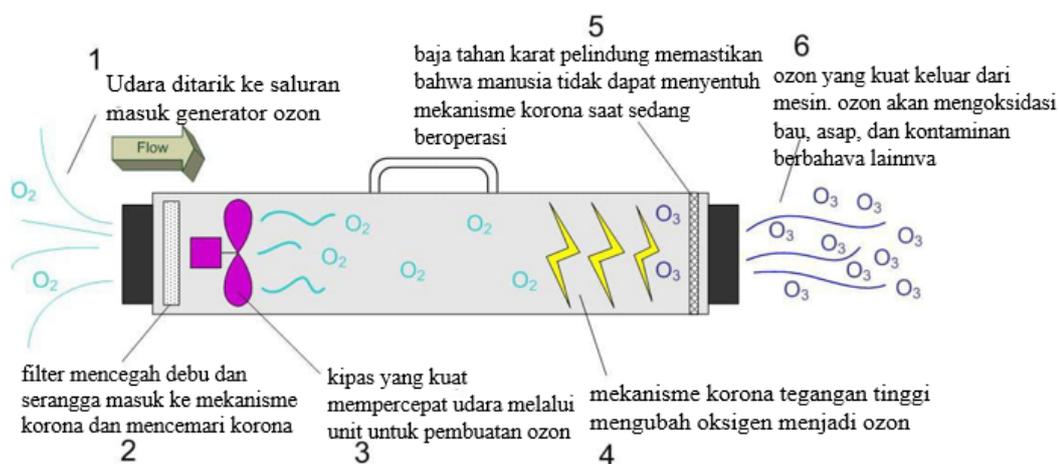
langsung yang akan mengakibatkan arus pendek. Elektroda tersebut kemudian diberikan tegangan tinggi sehingga menghasilkan oksigen ikatan 3 atom atau ozon (O_3). Ozon tercipta ketika terjadi lucutan elektron yang diberi tegangan tinggi, sehingga elektron menambah energi pada oksigen dan menghasilkan ozon (Marzuarman dan Faizi, 2018). Gambar 2.3 merupakan desain dari ozon generator.



Gambar 2.3 Desain ozon generator (Marzuarman dan Faizi, 2018).

Terdapat dua elektroda yang dipisahkan oleh media dielektrik berupa celah sempit untuk pelepasan muatan dan mengalirnya oksigen. Medan listrik yang cukup tinggi mengakibatkan peristiwa percepatan ionisasi oksigen yang terdapat di antara kedua elektroda tersebut. Peristiwa itu menyebabkan elektron-elektron bertabrakan dengan molekul oksigen sehingga terbentuk ozon (Sulistianto dkk., 2021).

Gambar 2.4 merupakan metode diagram skematis pembentukan ozon dengan metode *corona discharge*.



Gambar 2.4 Diagram skematis pembentukan ozon dengan metode *corona discharge* (Lukmanto, 2009).

Terdapat dua elektroda dalam pelepasan korona, salah satu di antaranya adalah elektroda tegangan tinggi dan yang lainnya adalah elektroda tegangan rendah (elektroda *ground*). Keduanya dipisahkan oleh satu media dielektrik keramik dan disediakan celah pelepasan muatan yang sempit. Ketika elektron mempunyai energi kinetik yang cukup (sekitar 6-7 eV) untuk memisahkan molekul oksigen, fraksi tertentu dari tumbukan ini terjadi dan satu molekul ozon dapat terbentuk dari setiap atom oksigen. Jika oksigen melintasi generator sebagai gas umpan, 1-3% ozon dapat dihasilkan. Bagaimanapun, menggunakan oksigen murni memungkinkan hasilnya mencapai 6% ozon. Sebagai akibatnya, konsentrasi ozon tidak dapat ditingkatkan melewati titik dimana laju pembentukan dan pemusnahan adalah sama. Gas ozon tidak dapat disimpan karena secara spontan ozon terurai kembali menjadi atom oksigen (Lukmanto, 2009).

2.3 *Coliform*

Coliform didefinisikan sebagai kelompok bakteri Gram-negatif, berbentuk batang, oksidasi-negatif, aerob sampai anaerob fakultatif, tidak membentuk spora, mampu tumbuh secara aerobik pada media agar yang mengandung garam empedu, dan mampu memfermentasikan laktosa dengan membentuk gas dan asam dalam waktu 48 jam pada suhu 37°C. Jumlah *Coliform* yang diperoleh dari inkubasi pada suhu 37°C tersebut biasanya dinyatakan sebagai total *Coliform*. Sementara

faecalcoliform merupakan bagian dari *Coliform* total dan dipresentasikan oleh total bakteri *Coliform* toleran panas yang mampu tumbuh pada suhu $44,5 \pm 0,2^{\circ}\text{C}$ dengan memfermentasikan laktosa dan memproduksi asam dan gas.

Terdapatnya bakteri *Coliform* dalam air minum dapat menjadikan indikator memungkinkan besar adanya organisme patogen lainnya, bakteri *Coliform* dibedakan menjadi 2 tipe yaitu *faecalcoliform* dan *nonfaecalcoliform*. *Faecalcoliform* hanya terdiri dari satu spesies saja yaitu : *Escherichia coli*. Sedangkan *nonfaecalcoliform* terdiri dari; *Enterobacter* sp, *Klebsiella* sp, *Aeromonas* sp, *Serratia* sp, *Citrobacter* sp, *Legionella* sp dan *Hafnia* sp.

2.3.1 *Escherichia Coli*

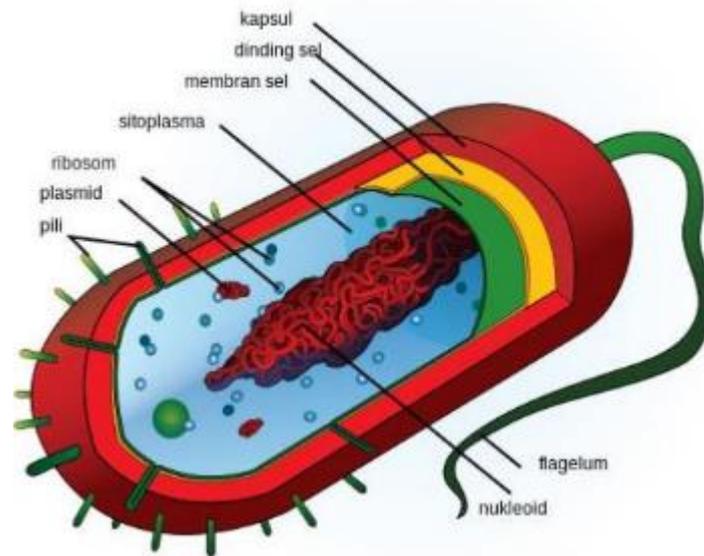
Bakteri *Escherichia Coli* (*E.coli*) merupakan bakteri Gram negatif berbentuk basil, peritrik, fakultatif anaerob dengan kebutuhan nutrisi yang sederhana. Bakteri ini umumnya hidup di usus halus dan usus besar mamalia. Patogenitas strain *E.coli* disebabkan adanya satu atau lebih faktor virulensi termasuk faktor invasi misalnya tingkat kemudahan untuk infeksi, labil pada suhu panas, verotoksin dan faktor kolonisasi. Keberadaan *E.coli* dalam bahan pangan dapat menimbulkan masalah kesehatan bagi masyarakat, karena keberadaannya merupakan suatu indikator kontaminasi tinja dan indikator adanya bakteri patogen lain. Meskipun sebagian besar serotipe yang memungkinkan memiliki sifat patogen dan terlibat secara langsung dalam timbulnya penyakit diare pada anak-anak. serta penyakit serius lainnya seperti *hemolytic colitis*, *hemolytic uremic syndrome*, dan *thrombotic thrombocytopenic purpura* (TTP) (Utami *et al.*, 2018).

Penelitian tentang mikrobiologi bakteri *E.coli* juga telah banyak dikembangkan. Salah satu penelitian mengenai identifikasi mikrobiologi bakteri *E.coli* dan *Coliform* pada jamu gendong yang dilakukan oleh Dewi dkk., (2022). Penelitian ini menggunakan metode MPN (*Most Probable Number*) dengan seri 3 tabung serta dilakukan duplo pada setiap sampel jamu yang meliputi beberapa pengujian seperti uji pendugaan *Coliform* menggunakan medium *EC Broth*, uji pelengkap menggunakan medium *Eosin Methylene Blue Agar* (EMBA) dan pewarnaan Gram

untuk melihat morfologi bakteri. Hasil yang didapat yaitu pada uji penduga nilai MPN dari 6 sampel terdapat 1 sampel yang memiliki jumlah bakteri *Coliform* melimpah sehingga nilai tersebut melebihi standar baku yang telah ditetapkan. Hasil pada uji pelengkap menghasilkan koloni bakteri yang berwarna kilap hijau metalik dan pewarnaan Gram bakteri berwarna merah berbentuk kokobasil menunjukkan adanya kandungan *Coliform* dan *E.coli* pada jamu gendong tersebut. Jumlah nilai keberadaan *Coliform* uji penduga lebih tinggi dibandingkan dengan SNI yang ada, begitupun dengan nilai keberadaan *E.coli* uji penegas lebih tinggi dibandingkan standar SNI yang ada.

2.3.1.1 Morfologi dan Taksonomi *Escherichia Coli*

Escherichia Coli atau yang biasa disebut dengan bakteri *E.coli* merupakan kuman oportunistik yang banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal. *E.coli* memiliki batang pendek (cocobasil) dengan ukuran $0,4-0,7 \mu\text{m} \times 1,4 \mu\text{m}$, bersifat motil (dapat bergerak), tidak memiliki nukleus, organel eksternal maupun sitoskeleton tetapi memiliki organel eksternal yakni vili yang merupakan filamen tipis dan lebih panjang. Bakteri aerob ini ditemukan oleh Theodor Escherich pada tahun 1885. Bakteri aerob mempunyai sifat unik karena dapat menyebabkan infeksi primer pada usus seperti diare dan infeksi pada jaringan tubuh lain di luar usus (Romadhon, 2016). Morfologi *E.coli* ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.5 Morfologi *Escherichia Coli* (Rizky Eka Febriansah, S.Mb. & Dewi Ratiwi Meiliza, 2020).

Menurut (Jawetz dan Adelberg, 2007), adapun Taksonomi *Escherichia Coli* adalah sebagai berikut.

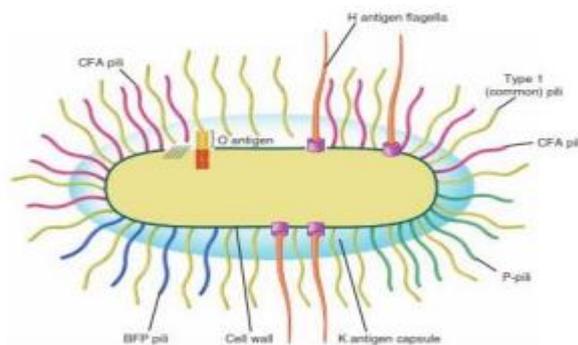
Kingdom : *Procaryotae*
 Divisi : *Gracilicutes*
 Kelas : *Scotobacteria*
 Bangsa (*Ordo*) : *Eubacteriales*
 Suku (*Familia*) : *Euterobactericea*
 Marga (*Genus*) : *Escherichia*
 Jenis (*Spesies*) : *Escherichia Coli*

2.3.1.2 Patogenesis *Escherichia Coli*

E. Coli digunakan sebagai indikator kualitas air yang secara normal hanya ditemukan di saluran pencernaan manusia atau hewan, atau bahan yang telah terkontaminasi dengan tinja manusia atau hewan . Keberadaan *E.Coli* dalam air mempunyai korelasi yang tinggi terhadap ditemukannya patogen di makanan. Makanan yang sering terkontaminasi adalah susu, air minum, daging ayam, daging

sapi, ikan dan makanan laut lainnya, telur, sayuran, dan buah buahan (Hamida dkk., 2019).

Bakteri *E. Coli* merupakan bakteri Gram negatif yang memiliki 150 tipe antigen O, 50 tipe antigen H, dan 90 tipe antigen K. Beberapa antigen O dapat dibawa oleh mikroorganisme sehingga sama seperti yang dimiliki *Shigella*. Penyakit spesifik terkadang berhubungan dengan antigen O, yang dapat ditemukan pada penyakit infeksi saluran kemih dan diare (Romadhon, 2016). Gambar 2.5 merupakan struktur dan antigen bakteri *E.coli*.



Gambar 2.6 Struktur dan Antigen Bakteri *Escherichia coli* (Romadhon, 2016).

E. Coli dapat menyebabkan diare pada manusia yang disebut sebagai *Enteropathogenic Escherichia coli* (EPEC). Infeksi dari EPEC dapat menyebabkan penyakit seperti kolera dan disentri pada anak-anak dan orang dewasa. Kasus yang disebabkan oleh bakteri *E. Coli* akhir-akhir ini sering menjadi pembicaraan. Berbagai negara di belahan dunia saat ini sudah mulai memperhatikan akibat yang disebabkan oleh bakteri ini termasuk bahan pangan. Kasus yang diakibatkan oleh bakteri *E. Coli* ini disebabkan oleh kurangnya pengetahuan dan penanganan yang tepat terhadap bahan pangan (Maruka dkk., 2017).

Berdasarkan sifat virulensinya, bakteri *E. Coli* digolongkan menjadi 5 golongan, yaitu:

1. *Enterotoxigenic Escherichia coli* (ETEC)

Golongan ini merupakan penyebab diare yang sering terjadi pada bayi di negara berkembang, hal ini diakibatkan karena virulensi yang dihasilkan

oleh ETEC yaitu enterotoksin dan antigen vili (fimbriae), enterotoksin ETEC berupa toksin tidak tahan panas (*heat labile toxins*) dan toksin tahan panas (*heat stabile toxins*).

Mekanisme infeksi ETEC di dalam tubuh yaitu ketika ETEC menempel pada sel enterosit dengan vili yang kemudian berproliferasi dan berkolonisasi di mukosa usus, sehingga menyebabkan terjadinya peningkatan jumlah ETEC di dalam saluran pencernaan. Toksin yang dihasilkan oleh ETEC akan berikatan dengan reseptor dan masuk ke dalam sel, toksin yang mengaktivasi guanilat siklase sehingga menyebabkan akumulasi cairan dan elektrolit di dalam lumen usus serta menghambat 18aemorr. Toksin labil akan mengikat ribose adenosin difosfat (ADP) sehingga menghambat kegiatan GTPase (pemecah protein G). Akibatnya, protein G ini meningkat dan merangsang adenilil siklase epitel yang berkepanjangan sehingga menyebabkan peningkatan jumlah adenosin monofosfat (AMP). Peningkatan AMP akan menyebabkan peningkatan sekresi pada sel-sel kelenjar di dalam usus yaitu dengan 16 merangsang sekresi Cl⁻ (hipersekreksi) dengan membuka saluran klorida pada sel kriptal dan menghambat 18aemorr Na⁺ dari lumen ke dalam sel epitel usus. Peningkatan kadar elektrolit dan air di dalam lumen usus inilah yang dapat menyebabkan diare.

2. *Escherichia Coli enteropatogenik* (EPEC)

Golongan EPEC merupakan strain pertama di antara strain *Escherichia coli* yang berhasil diidentifikasi sebagai penyebab diare pada pasien bayi dan anak-anak di Eropa. Oleh karena itu, EPEC merupakan penyebab diare cair yang sering terjadi pada bayi di negara berkembang tetapi dapat sembuh sendiri. EPEC akan menempel pada sel mukosa usus halus atau masuk ke dalam mukosa yang dapat menyebabkan hilangnya mikrovili sehingga proses penyerapan terganggu dan terjadi diare.

3. *Escherichia coli eteroinvasive* (EIEC)

Golongan EIEC mempunyai beberapa persamaan dengan *Shigella* yaitu dalam hal reaksi biokimia, serologi, dan sifat patogenitasnya. EIEC melakukan penetrasi di mukosa usus dan akan multiplikasi pada sel-sel

epitel colon (usus besar). Kerusakan yang terjadi pada mukosa usus dapat menyebabkan diare berdarah. Gejala yang ditimbulkan oleh EIEC ini mirip dengan disentri yang disebabkan oleh *Shigella*.

4. *Enterohaemorrhagic Escherichia coli* (EHEC)

Golongan EHEC merupakan penyebab diare ringan dan *19aemorrhage colitis* (radang usus besar). Transmisi EHEC dapat melalui makanan yang dihidangkan tidak higienis dan penularan secara spontan atau secara kontak langsung. EHEC memproduksi sitotoksin yang dapat menyebabkan terjadinya peradangan dan perdarahan yang meluas di usus besar yang dapat menyebabkan *haemolytic uraemic syndrome* terutama pada anak-anak. Gejala yang ditimbulkan ditandai dengan diare akut, kejang, demam, dan perlahan-lahan diare menjadi berdarah.

5. *Escherichia coli enteroaggregative* (EAEC)

EAEC merupakan penyebab diare akut dan kronik dalam jangka waktu lebih dari 14 hari pada orang-orang di negara berkembang, EAEC memproduksi hemolisin dan *Heat stabil toxin*, enterotoksin seperti yang dikeluarkan oleh ETEC. Toksin yang dihasilkan oleh EAEC dapat melekat pada bagian mukosa lumen usus yang dapat menyebabkan diare pada anak-anak (Romadhon, 2016).

2.4 Metode MPN

Penelitian tentang metode MPN telah banyak dilakukan. Salah satu penelitian mengenai identifikasi bakteri *E.coli* metode MPN (*Most Probable Number*) pada air isi ulang di Perumnas IV Waena Abepura yang dilakukan oleh Kurniawan dkk, (2021). Pada penelitian ini menggunakan metode MPN dan menunjukkan hasil 3 sampel air tercemar bakteri *E.coli*. Pada tahap uji pendugaan dilakukan dengan menggunakan media LB (*Lactose Broth*), dan menghasilkan gas pada tabung durham yang menunjukkan hasil positif. Pada tahap uji konfirmasi menggunakan media BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*) juga menghasilkan gas pada tabung durham yang menunjukkan hasil positif.

Metode MPN terdiri dari 3 tahapan. MPN (*Most Probable Number*) atau angka perkiraan terdekat merupakan suatu cara untuk menganalisis bakteri golongan *coliform* yang memiliki kemampuan memfermentasi laktosa dan menghasilkan gas, yang merupakan parameter suatu sampel air. Pada metode ini menggunakan medium cair di dalam tabung reaksi, dimana perhitungan dilakukan berdasarkan jumlah tabung yang positif yaitu yang ditumbuhi oleh mikrobiologi setelah inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Pengamatan tabung yang positif dapat dilihat dengan mengamati timbulnya kekeruhan, dan terbentuknya gas di dalam tabung kecil (tabung durham) yang diletakkan pada posisi terbalik (Dhafin, 2017).

Analisis MPN *coliform* berlangsung dalam beberapa tahap, yaitu tahap utama uji praduga (*presumptive test*), tahap kedua uji konfirmasi (*confirmed test*), dan uji pelengkap (*completed test*)

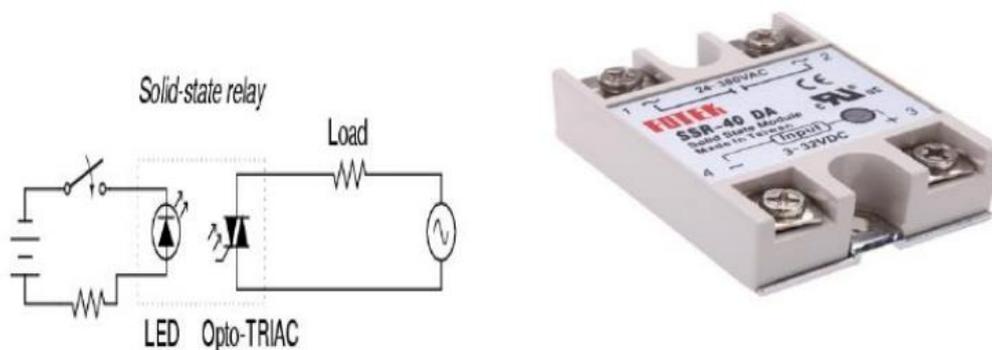
1. Uji praduga dilakukan untuk mendeteksi bakteri *coliform* yang teramat kecil porsinya dalam air terutama untuk air minum kemasan maupun bahan pangan lainnya. Nilai MPN yang ditunjukkan berdasarkan kombinasi tabung positif dan negatif tersebut tidak menunjukkan konsentrasi yang sebenarnya, namun berlaku sebagai penunjuk angka bakteri *coliform* dengan derajat kepercayaan (*level of significant*) dalam statistic sebesar 94%. Merupakan tes pendahuluan tentang ada tidaknya kehadiran bakteri *Colifrom* berdasarkan terbentuknya asam dan gas disebabkan karena fermentasi laktosa oleh bakteri golongan *coli*. Pada Uji penduga ini digunakan media *Lactosa Broth* (LB), diinkubasi 1 x 24 jam pada suhu 37°C terbentuknya asam dilihat dari kekeruhan pada media laktosa dan gas yang dihasilkan dapat dilihat dalam tabung durham berupa gelembung udara. Tabung dinyatakan positif jika terbentuk gas di dalam tabung durham dan apabila tidak menghasilkan gas maka diinkubasi lagi selama 48 jam pada suhu 37°C. Pada media LB ini mengandung *lactose* dimana mendukung pertumbuhan bakteri *Coliform* dan bakteri ini terdapat enzim laktase yang mampu memfermentasi laktosa tadi menjadi energi. Energi tersebut mengandung piruvat yang dapat menghasilkan CO_2 dan H_2 . CO_2 dan H_2 inilah yang membentuk gas dan asam pada media LB di tabung durham.

2. Uji konfirmasi merupakan langkah tambahan yang dilakukan setelah hasil awal dari Uji praduga menunjukkan adanya bakteri atau mikroorganisme. Pada Uji konfirmasi ini menggunakan media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB). Media BGLB merupakan media yang digunakan untuk memisahkan bakteri fermentasi yaitu *coliform* dari bakteri fermentasi lainnya. Media ini digunakan untuk mendeteksi adanya bakteri *coliform* (Gram negatif) di dalam air, makanan, dan produk lainnya. Media ini khususnya digunakan untuk pemeriksaan MPN *coliform*, yaitu pemeriksaan yang digunakan untuk mengetahui perkiraan jumlah terdekat bakteri *E.coli* dan *coliform*. Media ini digunakan dengan maksud untuk media penyubur bagi bakteri *coliform* sekaligus sebagai media selektif bakteri selain bakteri *coliform*.
3. Uji pelengkap adalah langkah tambahan yang dilakukan dalam proses identifikasi bakteri, terutama bakteri *coliform*. Uji ini menggunakan media EMBA dan media Endo Agar. Media Endo Agar adalah media kultur selektif dan diferensial untuk mendeteksi keberadaan bakteri *coliform* dan mikroorganisme lainnya. Selektivitas media Endo Agar tersusun atas sodium sulfat atau kombinasi *basis fuchsin*, yang menghasilkan suspensi mikroorganisme Gram positif. Media ini membantu memperkuat hasil uji awal dan memastikan identifikasi yang akurat dari bakteri *coliform* dalam sampel.

2.5 Solid State Relay (SSR)

Solid State Relay (SSR) memiliki pengertian dan fungsi yang sama dengan *relay* elektromekanik atau *magnetic contactor (MC)* yaitu sebagai saklar elektronik yang biasa digunakan atau diaplikasikan di industri sebagai *device* pengendali. Namun, *relay* elektromekanik memiliki banyak keterbatasan bila dibandingkan dengan *SSR*, salah satunya seperti siklus hidup kontak yang terbatas, mengambil banyak ruang, dan besarnya daya kontaktor *relay*. Karena keterbatasan ini, banyak produsen *relay* menawarkan perangkat *SSR* dengan semikonduktor modern dengan menggunakan *SCR*, *TRIAC*, atau *output* transistor sebagai pengganti saklar kontak mekanik. *Output device (SCR TRIAC, atau transistor)* adalah optikal yang digabungkan

sumber cahaya *LED* yang berada di dalam *relay*. *Relay* akan dihidupkan dengan energi *LED* ini, biasanya dengan tegangan power *DC* yang rendah. Isolasi optik antara *input* dan *output* inilah yang menjadi kelebihan yang ditawarkan oleh *SSR* bila dibandingkan dengan *relay* elektromekanik. Gambar 2.6 berikut merupakan gambar *SSR* dan simbol rangkaiannya (Kustiawan, 2018).



Gambar 2.7 *Solid State Relay*(Kustiawan, 2018).

SSR juga berarti *relay* yang tidak mempunyai bagian yang bergerak sehingga tidak terjadi aus. *SSR* juga mampu menghidupkan dan mematikan dengan waktu yang jauh lebih cepat jika dibandingkan dengan *relay* elektromekanik. *SSR* juga tidak ada pemicu percikan api antar kontak sehingga tidak ada masalah korosi kontak. Namun *SSR* masih terlalu mahal untuk dibuat dengan rating arus yang sangat tinggi. Sehingga kontaktor elektromekanik atau *relay* konvensional masih terus mendominasi aplikasi-aplikasi industri saat ini (Kustiawan, 2018).

Salah satu keuntungan atau kelebihan yang signifikan dari *SSR*, *SCR*, dan *TRIAC* adalah kecenderungan secara alami untuk membuka sirkuit *AC* hanya pada titik nol arus beban. Rangkaian tidak akan pernah terputus di tengah-tengah puncak gelombang sinus. Waktu pemutusan seperti yang ada dalam rangkaian yang mengandung induktansi besar biasanya akan menghasilkan lonjakan tegangan besar karena runtuhnya medan magnet secara tiba-tiba di sekitar induktansi. Hal seperti ini tidak akan terjadi saat pemutusan dilakukan oleh sebuah *SCR* atau *TRIAC*. Kelebihan ini disebut dengan *zero-crossover switching* (Kustiawan, 2018).

2.6 Pulse Width Modulation (PWM)

Pulse Width Modulation (PWM) secara umum adalah sebuah cara memanipulasi lebar pulsa sinyal yang dinyatakan dengan pulsa dalam suatu perioda, untuk mendapatkan tegangan yang berbeda. Beberapa contoh aplikasi PWM adalah pemodulasian data untuk telekomunikasi, pengontrolan daya atau tegangan yang masuk ke beban, regulator tegangan, *audio effect* dan penguatan, serta aplikasi-aplikasi lainnya. Aplikasi *PWM* berbasis mikrokontroler biasanya berupa pengendalian kecepatan motor *DC*, pengendalian motor servo, pengaturan nyala terang *LED* dan lain sebagainya (Lubis & Yanie, 2022).

Pulse Width Modulation (PWM) merupakan salah satu teknik untuk mendapatkan signal analog dari sebuah piranti digital. Sebenarnya Sinyal *PWM* dapat dibangkitkan dengan banyak cara, dapat menggunakan metode analog dengan menggunakan rangkaian op-amp atau dengan menggunakan metode digital. Dengan metode analog setiap perubahan *PWM* nya sangat halus, sedangkan menggunakan metode digital setiap perubahan *PWM* dipengaruhi oleh resolusi dari *PWM* itu sendiri. Resolusi adalah jumlah variasi perubahan nilai dalam *PWM* tersebut. Misalkan suatu *PWM* memiliki resolusi 8 bit berarti *PWM* ini memiliki variasi perubahan nilai sebanyak $2^8 = 256$ variasi mulai dari 0 – 255 perubahan nilai yang mewakili duty cycle 0 – 100% dari keluaran *PWM* tersebut (Lubis & Yanie, 2022).

Modulasi lebar pulsa (*PWM*) dicapai/diperoleh dengan bantuan sebuah gelombang kotak yang mana siklus kerja (*duty cycle*) gelombang dapat diubah-ubah untuk mendapatkan sebuah tegangan keluaran yang bervariasi yang merupakan nilai rata-rata dari gelombang tersebut. Persamaan berikut merupakan rumus yang digunakan untuk mencari modulasi lebar pulsa.

$$T_{total} = T_{on} + T_{off} \quad (2.8)$$

Siklus kerja atau *duty cycle* sebuah gelombang didefinisikan dengan persamaan 2.9 berikut.

$$\text{Duty Cycle} = \frac{T_{on}}{(T_{on}+T_{off})} \quad (2.9)$$

Tegangan keluaran dapat bervariasi dengan *duty cycle* menggunakan persamaan berikut.

$$V_{out} = \text{Duty Cycle} \times V_{in} \quad (2.10)$$

Sehingga:

$$V_{out} = \frac{T_{on}}{(T_{total})} \times V_{in} \quad (2.11)$$

Dari persamaan 2.11 dapat disimpulkan bahwa tegangan keluaran dapat diubah secara langsung dengan mengubah nilai. Di dalam program proses kerjanya yaitu dengan menjadikan nilai hasil dari penggunaan persamaan 2.11 sebagai *output*. Maka pompa akan bekerja sesuai dengan *duty cycle*.

2.7 Relay Delay Timer

Relay Delay Timer berfungsi sebagai sakelar dimana kontak akan bekerja dipengaruhi oleh waktu yang ditentukan apabila kumparan diberi tegangan. Relay adalah Saklar (*Switch*) yang dioperasikan secara listrik dan merupakan komponen Elektromekanikal yang terdiri dari 2 bagian utama yakni Elektromagnet (*Coil*) dan Mekanikal (seperangkat Kontak Saklar/*Switch*). *Relay* menggunakan Prinsip Elektromagnetik untuk menggerakkan Kontak Saklar sehingga dengan arus listrik yang kecil (*low power*) dapat menghantarkan listrik yang bertegangan lebih tinggi (Sudaryana, 2015).

Relay Delay Timer atau *relay* penunda batas waktu banyak digunakan dalam instalasi motor terutama instalasi yang membutuhkan pengaturan waktu secara otomatis. Peralatan kontrol ini dapat dikombinasikan dengan peralatan kontrol lain, contohnya dengan MC (*Magnetic Contractor*), *Thermal Overload Relay* dan lain-lain. Fungsi dari peralatan kontrol ini adalah sebagai pengatur waktu bagi peralatan yang dikendalikannya. *Timer* ini dimaksudkan untuk mengatur waktu hidup atau mati dari kontaktor atau untuk merubah sistem bintang ke segitiga dalam *delay* waktu tertentu (M . Efri Apriandi, 2018).

Timer dapat dibedakan dari cara kerjanya yaitu *timer* yang bekerja menggunakan induksi motor dan menggunakan rangkaian elektronik. *Timer* yang bekerja dengan prinsip induksi motor akan bekerja bila motor mendapat tegangan AC sehingga memutar gigi mekanis dan menarik serta menutup kontak secara mekanis dalam jangka waktu tertentu. Sedangkan *relay* yang menggunakan prinsip elektronik, terdiri dari rangkaian R dan C yang dihubungkan seri atau paralel. Bila tegangan sinyal telah mengisi penuh kapasitor, maka *relay* akan terhubung. Lamanya waktu tunda diatur berdasarkan besarnya pengisian kapasitor (M . Efri Apriandi, 2018).

Bagian input timer biasanya dinyatakan sebagai kumparan (*Coil*) dan bagian outputnya sebagai kontak NO atau NC. Kumparan pada *timer* akan bekerja selama mendapatkan arus. Apabila telah mencapai batas waktu yang diinginkan, maka secara otomatis *timer* akan mengunci dan membuat kontak NO menjadi NC dan NC menjadi No. Pada saat *timer* diberi tegangan, maka *timer* akan mulai menghitung. Ketika jumlah hitungan sama dengan *setting* pada *timer*, maka kontak keluaran *timer* akan bekerja/beroperasi. Kontak *timer* berupa *Normally Open* (NO) dan *Normally Close* (NC) (M . Efri Apriandi, 2018).

III. METODE PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan April 2023 sampai Agustus 2023 di PT. Suhita Lebah Indonesia. Uji mikrobiologi bakteri dilakukan di Laboratorium mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung. Kegiatan penelitian ditunjukkan pada Tabel 3.1 berikut.

Tabel 3.1 Kegiatan penelitian

Kegiatan	Bulan				
	April	Mei	Juni	Juli	Agustus
Perancangan alat	■				
Pembuatan alat		■	■	■	
Pengambilan sampel					■
Uji mikrobiologi					■
Analisa data					■

3.2 Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Ozon generator, untuk mengubah oksigen (O_2) menjadi ozon (O_3).
2. *Pulse Width Modulation* (PWM), untuk mengubah lebar pulsa (*duty cycle*) dengan nilai amplitudo dan frekuensi yang tetap.
3. *Solid State Relay*, untuk mengatur kadar ozon yang keluar dari ozon generator.

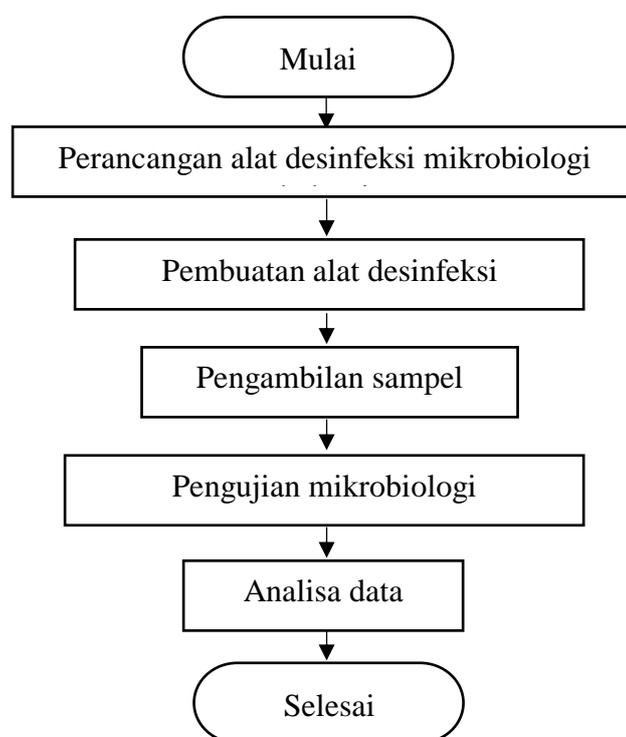
4. *Power supply*, untuk mengkonversi arus listrik dari sumber AC (*Alternating Current*) menjadi arus DC (*Direct Current*).
5. *Fan DC*, untuk menyebarkan gas ozon yang keluar dari ozon generator.
6. *Grill fan*, untuk saluran udara dan estetika.
7. *Timer*, untuk mengatur waktu pada ozon generator.
8. Baut, untuk menggabungkan kipas dengan *grill fan*.
9. *Push Button*, untuk mentrigger *Relay Delay Timer*.
10. Tabung reaksi, sebagai tempat perkembang biakan mikroba.
11. Tabung durham, sebagai indikator terdapatnya mikroba.
12. Cawan, sebagai tempat perkembang biakan mikroba.
13. Ose, untuk memindahkan mikrobiologi dari botol madu ke media McConkey.
14. Kaca objek, sebagai tempat mikrobiologi yang akan diamati.
15. Api Bunsen, untuk pemanasan dan pembakaran.
16. BSC (*Biological Safety Cabinet*), sebagai tempat aseptik untuk penanaman mikroba.
17. *Vortex*, berfungsi untuk melakukan proses pencampuran dan pengadukan larutan sampel menjadi homogen.
18. *Cotton Swab Steril*, untuk mengolesi botol madu sebelum dihomogenkan dengan NaCl.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut.

1. Filamen, untuk membuat *casing* dan menambah estetika.
2. Alkohol, untuk membilas atau melunturkan kelebihan zat warna pada sel mikrobiologi.
3. Larutan NaCl, untuk persiapan mikrobiologi sebelum ditanamkan dalam media pertumbuhan.
4. Media LB (*Lactose Broth*), sebagai penduga mikrobiologi *E.coli*.
5. Media BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*), sebagai penegasan dari media LB.
6. Media Endo Agar, sebagai pelengkap dari tahap media LB dan media BGLB.
7. Cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D, sebagai pengidentifikasi bakteri Gram negatif.

3.3 Metode Penelitian

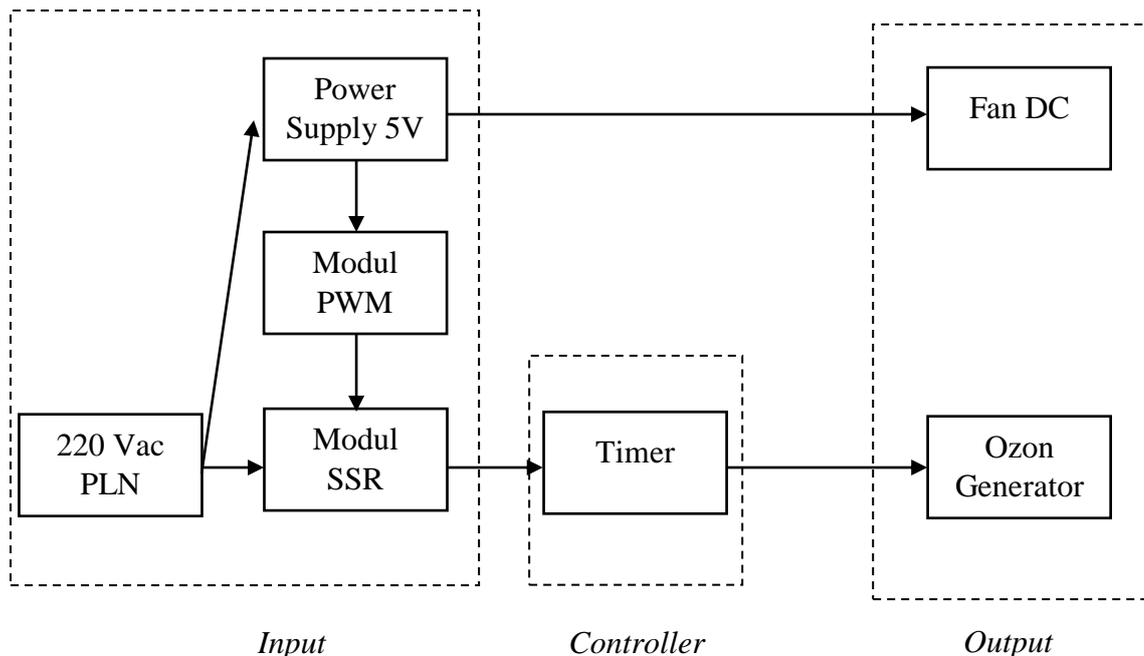
Penelitian ini terdiri dari 4 tahap yaitu perancangan alat desinfeksi, pengambilan sampel, uji mikrobiologi, dan analisa data. Adapun secara keseluruhan tahapan penelitian ini digambarkan pada Gambar 3.1 berikut.



Gambar 3.1 Diagram alir penelitian

3.3.1 Perancangan Alat Desinfeksi

Pada tahap ini dilakukan proses perancangan alat yang akan digunakan dalam pembuatan alat desinfeksi, setelah selesai, dilakukan pengujian rangkaian untuk menguji kelayakan alat. Setelah pengujian alat berhasil, dilanjutkan tahap berikutnya. Berikut diagram blok perancangan alat desinfeksi ditunjukkan pada Gambar 3.2 berikut.



Gambar 3.2 Diagram blok perancangan alat desinfeksi

Berdasarkan Gambar 3.2, AC input 220V terhubung pada modul SSR dan ozon generator. Modul SSR berfungsi agar kadar ozon yang keluar dari ozon generator dapat diubah. *Timer* berfungsi mengatur waktu hidup ozon generator. *Power supply* berfungsi untuk *step down* modul PWM dan mikrokontroler 5 Volt 5 Ampere.

Ozon membunuh mikroorganisme dengan cara mengoksidasi dan menghancurkan dinding sel sehingga mampu membunuh mikroorganisme. Mekanisme desinfeksi ozon dengan cara mengoksidasi langsung ketika terjadi kontak antara ozon dengan dinding sel, suatu reaksi oksidasi terjadi sehingga menyebabkan lubang pada dinding sel sehingga bakteri mulai kehilangan bentuk atau pertahanan utamanya telah hancur. Ozon juga dapat menghambat pengendalian enzim yang bekerja pada metabolisme sel bakteri, sehingga dengan dosis yang tepat, membran sel bakteri dapat dirusak oleh ozon.

3.3.2 Pembuatan Alat Desinfeksi

Merupakan tahap pembuatan alat desinfeksi dengan menggabungkan komponen-komponen sesuai dengan Gambar 3.3. Ketika alat telah selesai dibuat, kemudian

melakukan pengujian alat untuk memastikan sistem dapat bekerja dengan baik. Setelah berhasil dilakukan tahap berikutnya.

3.3.3 Pengambilan Sampel

Pada tahap ini dilakukan pengambilan sampel berupa 3 buah botol madu yang telah diozonisasi menggunakan alat desinfeksi yang telah dibuat. Lalu sampel botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan sinar UV disiapkan sebanyak 3 buah. Selain itu, disiapkan 3 buah botol madu yang tidak diozonisasi maupun diberi sinar UV.

3.3.4 Uji Mikrobiologi

Sampel yang telah diambil kemudian dibawa ke Laboratorium mikrobiologi untuk diuji mikrobiologi *Escherichia coli* dan *coliform* yang terdapat pada masing-masing sampel.

3.3.4.1 Pembuatan Media

Penelitian ini menggunakan media LB (*Lactose Broth*), media BGLB (*Brilliant Green Lactose Broth*) dan media Endo Agar. Pembuatan ketiga media ini pada umumnya sama yaitu bahan-bahan masing-masing media ditambah aquades hingga volumenya sesuai dengan takaran yang diinginkan dan kemudian diaduk. Setelah diaduk, media diambil sebanyak 9 ml dan dimasukkan ke dalam 9 buah tabung reaksi yang di dalamnya dimasukkan tabung durham dengan posisi terbalik. Fungsi tabung durham dalam posisi terbalik yaitu untuk menangkap gas yang dihasilkan oleh bakteri. Selanjutnya mulut tabung reaksi ditutup dengan kapas dan dibungkus lagi menggunakan kertas dan plastik agar tidak terkontaminasi dari lingkungan luar. Tabung dimasukkan ke dalam autoklaf dengan suhu 11°C, tekanan 1 ATM agar semua mikroorganisme dan spora mati.

Sampel botol madu yang telah disiapkan kemudian dioles permukaan dalamnya secara merata dengan agak ditekan menggunakan *cotton swab steril*, tujuannya agar bakteri *E.coli* yang terdapat di dalam botol madu dapat menempel pada *cotton swab steril*. Selanjutnya, *cotton swab steril* dimasukkan ke dalam larutan NaCl 9ml dan

larutan tersebut dihomogenkan dengan menggunakan vortex hingga homogen. Setelah homogen, larutan NaCl tersebut diambil dan dimasukkan ke dalam media LB 9 ml menggunakan mikropipet sebanyak 1 ml, 0,1 ml, dan 0,01 ml. Selanjutnya mulut tabung reaksi ditutup dengan kapas dan dibungkus menggunakan plastic wrap, kemudian diinkubasi selama \pm 24 jam.

3.3.4.2 Pengujian Sampel

Penelitian ini dilakukan uji mikrobiologi pada media botol madu. Pengujian mikrobiologi ini untuk melihat efektivitas ozon dan sinar UV dalam membunuh mikroorganisme. Mikroorganisme indikator yang digunakan adalah *E.coli* dan *Coliform*. Uji mikrobiologi yang digunakan pada penelitian ini menggunakan metode tabung fermentasi (*Most Probable Number* atau MPN) seri 3 tabung dengan volume sampe 1 ml; 0,1 ml; dan 0,01 ml. Metode MPN terdiri dari 3 tahapan yaitu sebagai berikut.

1. Tahap Pendugaan (*Presumptive Test*)

Tahap Pendugaan (*Presumptive Test*) merupakan tes pendahuluan tentang ada tidaknya bakteri *coliform* berdasarkan terbentuknya asam atau gas yang disebabkan karena fermentasi laktosa oleh bakteri golongan *E.coli*. Terbentuknya asam dapat dilihat dari kekeruhan pada media, dan gas yang dihasilkan dapat dilihat dalam tabung durham yang berupa gelembung udara. Terbentuknya gas dalam tabung durham dinyatakan sebagai hasil positif dan jika tidak terbentuk gas dalam tabung durham, dinyatakan sebagai hasil negatif. Hasil perhitungan metode MPN dapat dilihat pada Tabel (Lampiran 2).

Media yang digunakan pada tahap ini yaitu media *Lactose Broth* (LB). Media ini digunakan sebagai media pendeteksi kehadiran *coliform* yang memfermentasikan laktosa dalam air, makanan, dan produk susu. Laktosa menyediakan sumber karbohidrat yang dapat difermentasikan oleh mikrobiologi *coliform*. Ketika hasil dari tahap ini positif maka dilanjutkan ke tahap berikutnya yaitu tahap penegasan.

2. Tahap Penegasan

Pada tahap ini menggunakan media *Brilliant Green Lactose Broth* (BGLB). Pada media ini dapat dilihat fermentasi laktosa pada bakteri *E.coli* dengan terbentuknya asam atau gelembung pada tabung durham. Pada tahap penegasan ini kandungan bakteri *E.coli* dapat dilihat dengan menghitung tabung yang terdapat gelembung di dalam tabung durham dan dihitung MPN-nya dengan membandingkan hasil dengan tabel MPN. Hasil perhitungan metode MPN dapat dilihat pada Tabel (Lampiran 2).

Tahap penegasan ini digunakan untuk mengkonfirmasi hasil tes positif yang terdapat gelembung gas pada tabung durham di tahap pendugaan. Pada tahap ini dilakukan dengan cara menanam biakan yang positif dari media LB satu ose ke tabung reaksi yang berisi media BGLB. Pada saat penanaman dari media :LB ke media BGLB dilakukan dengan teknik aseptik yang dilakukan di *Biological Safety Cabinet* (BSC).

3. Tahap Pelengkap (*Completed Test*)

Tahap ini merupakan penanaman bakteri dari tahap penegasan pada media Endo Agar secara aseptik menggunakan ose. Koloni bakteri yang tumbuh pada media Endo Agar berwarna hijau dengan kilap metalik.

Pada tahap pelengkap ini dilakukan dengan cara menginokulasikan hasil positif bakteri *E.coli* dan *Coliform* dalam media BGLB ke cawan yang berisi media Endo Agar. Proses inokulasi ini dilakukan dengan metode cawan gores (*streak plate*) yang bertujuan untuk mendapatkan koloni tunggal sehingga mempermudah untuk dilakukan pengecatan. Setelah ditanam, cawan petri dibungkus kertas dan dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18 sampai 24 jam. Selanjutnya diamati dan dipilih koloni berwarna hijau metalik lalu dilakukan pengecatan Gram untuk melihat adanya koloni.

Pengecatan Gram merupakan salah satu teknik pewarnaan yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri (mikroorganisme). Zat warna yang digunakan pada

pengecatan Gram meliputi cat Gram A, cat Gram B, cat Gram C, dan cat Gram D. Fungsi dari masing-masing zat warna tersebut adalah sebagai berikut.

1. Cat Gram A

Cat gram A mengandung *crystal violet* yang berwarna ungu. Merupakan pewarna primer yang akan memberi warna microorganism target. *Crystal violet* bersifat basa sehingga mampu berikatan dengan sel mikroorganisme yang bersifat asam, dengan begitu sel mikroorganisme yang transparan akan berwarna ungu.

2. Cat Gram B

Cat Gram B mengandung yodium dan merupakan pewarna mordan, yaitu pewarna yang berfungsi memfiksasi pewarna primer yang diserap mikroorganisme target. Pemberian yodium pada pengecatan Gram dimaksudkan untuk memperkuat pengikatan warna oleh bakteri.

3. Cat Gram C

Cat Gram C mengandung alkohol dan merupakan solven organik yang berfungsi untuk membilas atau melunturkan kelebihan zat warna pada sel bakteri. Pemberian alkohol pada pengecatan ini dapat mengakibatkan terjadinya dua kemungkinan yaitu bakteri akan tetap berwarna ungu atau menjadi tidak berwarna.

4. Cat Gram D

Cat Gram D mengandung safranin berwarna merah dan merupakan pewarna tandingan atau pewarna sekunder. Zat ini berfungsi untuk mewarnai kembali sel-sel yang telah kehilangan pewarna utama setelah perlakuan dengan alkohol.

Pada pengecatan Gram yang dilakukan bakteri gram negatif akan berwarna merah atau merah muda. Hal ini terjadi karena bakteri Gram negatif tidak dapat mempertahankan warna *crystal violet* pada saat pengecatan oleh cat Gram A. Sehingga ketika dicuci dengan alkohol oleh cat Gram C maka warna ungu yang ditimbulkan oleh *crystal violet* akan luntur.

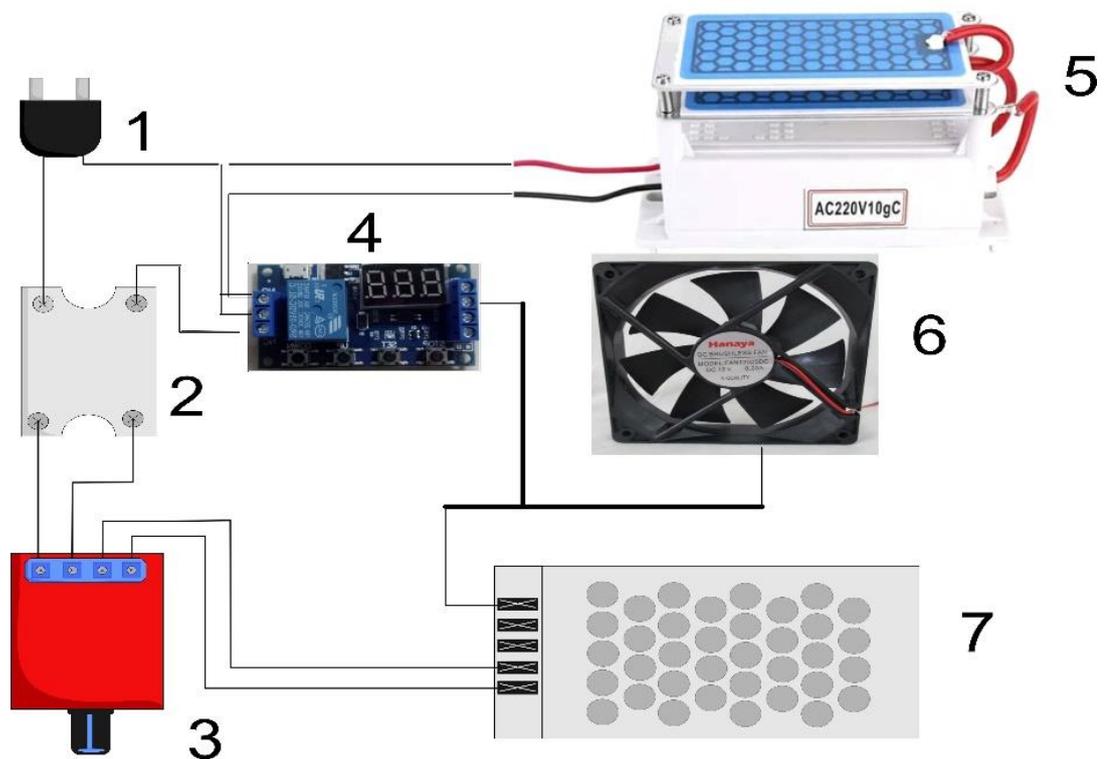
3.3.5 Analisa Data

Setelah data diperoleh dari hasil uji mikrobiologi bakteri, data diolah dengan cara membandingkan hasil uji antara sampel yang satu dengan sampel lainnya sehingga diketahui nilai keberhasilan dan efektivitas alat yang akan dibuat. Kemudian dibuat kesimpulan penelitian.

3.4 Perancangan Perangkat Keras

3.4.1 Skematik Rangkaian Alat

Skematik rangkaian alat desinfeksi ditunjukkan pada Gambar 3.3 berikut ini.



Gambar 3.3 Rangkaian skematik alat

Keterangan:

1. AC input
2. Modul *Solid State Relay* 100A, 380V, DC control AC

3. Modul *Pulse Width Modulation* 5A DC 4.5-35V 90W
4. *Relay Delay Timer* Modul display DC 6V~ 30V *time switch module*
5. Ozon generator air purifier disinfektan ozonizer 10g/h 200V
6. *Fan DC* 12V 0.20 A
7. *Power Supply* 5V 5A

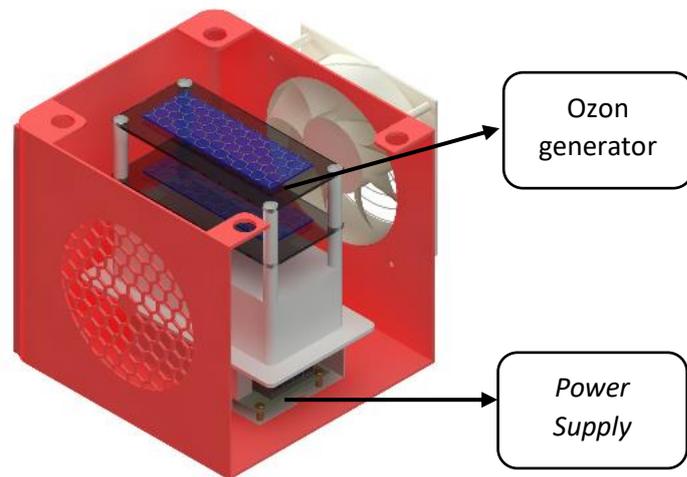
3.4.2 Desain Rancangan Alat

Alat desinfeksi yang akan dibuat memanfaatkan ozon generator untuk membangkitkan ozon. Perancangan ini merupakan desain alat desinfeksi yang akan dibuat dan akan menjadi acuan untuk membuat alat yang sebenarnya. **Gambar 3.4** berikut merupakan desain alat desinfeksi.



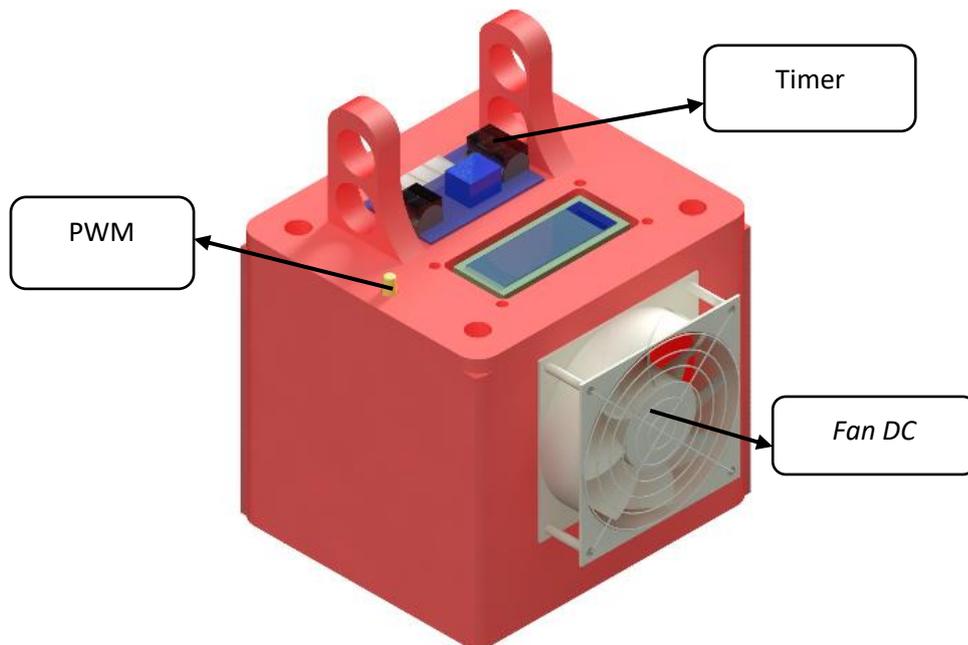
Gambar 3.4 Desain alat desinfeksi

Gambar 3.4 menggambarkan desain *casing* alat desinfeksi yang berbentuk kotak dibuat menggunakan bahan filamen yang dicetak menggunakan *3D printing*.



Gambar 3.5 Tampak dalam alat desinfeksi

Gambar 3.5 menggambarkan bagian dalam kotak yang terdapat *power supply* dan ozon generator untuk mengeluarkan gas ozon.



Gambar 3.6 Tampak atas alat desinfeksi

Gambar 3.6 menggambarkan bagian atas kotak terdapat *timer* untuk mengatur waktu hidup ozon generator, dan PWM yang berfungsi untuk mengatur kadar ozon

yang keluar. Sedangkan pada bagian depan kotak terdapat *fan DC* yang berfungsi untuk menyebarkan gas ozon yang keluar dari ozon generator.

3.5 Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan untuk meneliti kandungan bakteri pada botol madu adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) faktorial. Penggunaan metode RAL factorial mempunyai tiga faktor yaitu, faktor pertama (A) merupakan botol madu yang telah diozonisasi, faktor kedua yaitu (B) merupakan botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan sinar UV, dan faktor ketiga yaitu kontrol (K) merupakan botol madu yang tidak diberi perlakuan apapun, tiap perlakuan dilakukan 3 kali pengulangan:

1. Faktor pertama (A) : botol madu yang telah diozonisasi,
2. Faktor kedua (B) : botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan sinar UV,
3. Kontrol (K) : botol madu yang tidak diberi perlakuan apapun.
4. Pengulangan (P)
P1 : Pengulangan pertama, P2 :Pengulangan kedua, P3 : Pengulangan ketiga.

Kombinasi perlakuan adalah sebagai berikut

BP2	KP3	AP1
AP2	KP2	AP3
KP1	BP3	BP1

Tabel 3.2 Rancangan Penelitian

No.	Kriteria Sampel	Sampel
1.	3 buah botol madu yang telah diozonisasi menggunakan alat yang dibuat pada penelitian selama 30 menit.	3
2.	Botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan sinar UV dengan pengulangan sebanyak 3 kali.	3
3.	Botol madu yang tidak diberikan perlakuan apapun sebanyak 3 buah.	3
Jumlah sampel penelitian		9

Berdasarkan pada rancangan penelitian yang telah disebutkan oleh Tabel 3.1 di atas, maka jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah 9 botol madu.

Adapun tahapan-tahapan pengambilan sampel adalah sebagai berikut.

1. Telah disiapkan 3 buah botol madu yang akan didesinfeksi menggunakan ozon (Lampiran 1).
2. telah disiapkan 3 buah botol madu yang telah didesinfeksi menggunakan sinar UV selama 30 menit (botol madu diambil dari PT. Suhita Lebah Indonesia).
3. Telah disiapkan 3 buah botol madu yang tidak diberikan perlakuan apapun (botol madu diambil dari PT. Suhita Lebah Indonesia).
4. Hasil sampel dibawa ke Laboratorium mikrobiologi FMIPA Universitas Lampung untuk uji bakteri.

3.6 Data Hasil Pengujian

Pengujian yang dilakukan adalah menguji mikrobiologi bakteri *E. coli* dan *coliform* pada media botol madu, dengan menggunakan alat desinfeksi ozon yang akan dibuat, menggunakan sinar UV yang ada pada PT. Suhita Madu Indonesia, dan media botol madu yang tidak diberi perlakuan sebagai kontrol pada penelitian. Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui perbandingan dan efektifitas antara ozon dengan sinar UV. Tabel 3.3 adalah tabel pengujian mikrobiologi *E. coli* dan *coliform* pada media botol madu menggunakan paparan ozon.

Tabel 3.3 Pengujian mikrobiologi *E. coli* dan *coliform* dengan paparan ozon

Sampel	Jumlah tabung positif			MPN
	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	
Pengulangan 1				
Pengulangan 2				
Pengulangan 3				

Tabel 3.4 adalah tabel pengujian mikrobiologi *E. coli* dan *coliform* pada media botol madu menggunakan paparan sinar UV.

Tabel 3.4 Pengujian bakteri *E. coli* dan *coliform* dengan paparan sinar UV

Sampel	Jumlah tabung positif			MPN
	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	
Pengulangan 1				
Pengulangan 2				
Pengulangan 3				

Tabel 3.5 adalah tabel pengujian mikrobiologi bakteri *E. coli* dan *coliform* pada media botol madu tanpa perlakuan.

Tabel 3.5 Pengujian bakteri *E.coli* dan *coliform* tanpa perlakuan

Sampel	Jumlah tabung positif			MPN
	1 ml	0,1 ml	0,01 ml	
Pengulangan 1				
Pengulangan 2				
Pengulangan 3				

V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka diperoleh simpulan sebagai berikut.

1. Alat desinfeksi mikrobiologi *E.coli* dapat dibuat menggunakan gas ozon.
2. Gas ozon dan sinar UV dapat membunuh mikrobiologi *E.coli* dengan waktu 30 menit.
3. Terdapat perbedaan antara botol madu sebelum mendapat perlakuan desinfeksi dengan botol madu setelah mendapat perlakuan desinfeksi.

5.2 Saran

Saran yang dapat dilakukan untuk penelitian berikutnya yaitu melanjutkan pengujian sampel menggunakan metode kuantitatif agar terlihat perbedaan kandungan bakteri yang lebih spesifik.

DAFTAR PUSTAKA

- Agung, B., & Syakur, W. A. (2011). *Aplikasi Ignition Coil Sebagai Pembangkit Tegangan Tinggi Impuls Untuk Penyedia Daya Reaktor Ozon. Dc.*
- Anam, H., & Andrianto, M. R. (2018). *Uji Mutu Mikrobiologis Pada Madu Kemasan Yang. 1*, 153–160.
- Badan Pusat Statistik. (2021). *Statistik Produksi Kehutanan 2020*. www.bps.go.id
- Bees, N. (2018). *Simple Hygienic Honey Processing for a Small-Scale Beekeeper - Part 2 Jarring Honey*. <https://www.northumbrianbees.co.uk/simple-hygienic-small-scale-honey-processing-jarring-honey/>
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & Persano Oddo, L. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. *Apidologie*, 35(Suppl. 1), S4–S17. <https://doi.org/10.1051/apido:2004047>
- Dewi, R. A. W. K., Kasasiah, A., & Ratnasari, D. (2022). Cemar Coliform Dan Identifikasi Bakteri Escherichia Coli Pada Jamu Gendong Di Kecamatan Karawang Timur. *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 11(3), 40–48.
- Dhafin, A. A. (2017). Analisis Cemar Bakteri Coliform Escherichia coli Coli pada Bubur Bayi Home Industry di Kota Malang dengan Metode TPC dan MPN. *Skripsi*.
- DLH Kota Yogyakarta. (2019). *Perlindungan Lapisan Ozon. P2KLH DLHK DIY*.
- Fatma, I. I., Haryanti, S., Widodo, S., & Suedy, A. (2017). Uji Kualitas Madu Pada Beberapa Wilayah Budidaya Lebah Madu di Kabupaten Pati. *Jurnal Biologi*, 6(2), 58–65.
- Hamida, F., Aliya, L. S., Syafriana, V., & Pratiwi, D. (2019). Escherichia Coli Resisten Antibiotik Asal Air Keran Di Kampus Istn. *Jurnal Kesehatan*, 12(1), 63–72. <https://doi.org/10.23917/jk.v12i1.8958>
- Handayani, L., & Iryani, A. S. (2019). Pengaruh Kualitas Air Minum Dalam Kemasan Terhadap Konsentrasi Ozon. *Universitas Fajar, November*, 199–208.
- Jannah, F. Z., Zuhri, M. S., & Mulyadi, E. (2021). Optimasi Kadar Ozon Dalam

Proses Disinfeksi Bakteri Optimization of Ozone Levels in the Process of Disinfection Coliform Bacteria in Drinking Water. *Jurnal Teknik Kimia*, 15 (2), 59–65.

Jawetz, M., & Adelberg. (2007). *Mikrobiologi Kedokteran* (23rd ed.).

Kurniawan, F. B., Asrori, A., & Alfreda, Y. W. K. (2021). Identifikasi Bakteri *Escherichia coli* Metode MPN pada Air Isi Ulang di Perumnas IV Waena Abepura Tahun 2021. *Gema Kesehatan*, 13(1), 69–74. <https://doi.org/10.47539/gk.v13i1.170>

Kustiawan, E. S. (2018). Meningkatkan Efisiensi Peralatan Menggunakan Solid State Relay (SSR) dalam Pengaturan Suhu Pack Pre-Heating Oven (PHO)(Studi Kasus di PT Indonesia Toray Synthetics, Tangerang). *STT Yuppentek*, 9(1), 2–7.

Lubis, F. B., & Yanie, A. (2022). Implementasi Pulse Width Modulation (PWM) pada Penyaluran Limbah Cair Pupuk Kelapa Sawit Berbasis Arduino. *Journal of Electrical Technology*, 7(2), 39–46.

Lukmanto, A. (2009). *Rancang Bangun Ozonator Koaksial Shell and Tube Untuk Pengolahan Air Bersih dan Air Minum*.

M. Efri Apriandi. (2018). M. Efri Apriandi. *Analisis Perhitungan Arus, Daya, Dan Kecepatan Pada Rangkaian Motor Listrik 3 Phase Dengan Menggunakan Time Delay Relay (TDR) Dan Tanpa Menggunakan Time Delay Relay (TDR), Dari latar*, 1–72.

Ma'ruf, A., Dewi, S. S., & Wardoyo, F. A. (2018). Waktu Paparan Gas Ozon Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli*. *Pendidikan, Sains, Dan Teknologi*, 1–5.

Mandana, G. O. (2013). *Pengaruh Larutan Disinfektan dan Pengemasan Atmosfer Termodifikasi Menggunakan Film Plastik Terperforasi Terhadap Susut Bobot dan Mutu Buah Cabai Besar (Capsicum Annuum L.) Selama Penyimpanan*. 1, 1–10.

Maruka, S. S., Siswohutomo, G., & Rahmatu, D. (2017). Identifikasi Cemar Bakteri *Escherichia Coli* Pada Ikan Layang (*Decapterus Russelli*) Segar Di Berbagai Pasar Kota Palu Safriyanto S Maruka 1 , Gatot Siswohutomo dan Rostiati Dg Rahmatu 2. *Mitra Sains*, 5(1), 84–89.

Marzuarman, & Faizi, M. N. (2018). Prototype Penetralisir Asap Rokok Pada Ruang Menggunakan Metode Corona Discharge. *Inovtek Polbeng*, 8(1), 91. <https://doi.org/10.35314/ip.v8i1.322>

Mirza, M. N. (2014). Hygiene Sanitasi dan Jumlah Coliform Air Minum. *Jurnal*

Kesehatan Masyarakat, 9(1), 167–173.

- Restianto, D. (2020). Rancang Bangun Bilik Sterilisasi Ozon dan Rancang Bangun Bilik Sterilisasi Ozon dan UV-C Light dan Aplikasinya di Rumah Sakit. *Skripsi*.
- Rizky Eka Febriansah, S.Mb., M. S., & Dewi Ratiwi Meiliza, S. M. (2020). Buku Ajar Mata Kuliah. In *Umsida Press Sidoarjo Universitas* (Vol. 1, Issue 1).
- Romadhon, Z. (2016). Identifikasi Bakteri Escherichia coli dan Salmonella sp Pada Siomay Yang Dijual di Kantin SD Negeri Kelurahan Pisangan, Cirendeu, dan Cempaka Putih. In *Skripsi, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta*.
- Rukmana, J. (2015). *Aplikasi teknologi membran untuk desinfeksi air*. December, 0–10.
- Sudaryana, I. G. S. (2015). Pemanfaatan Relai Tunda Waktu Dan Kontaktor Pada Panel Hubung Bagi (Phb) Untuk Praktek Penghasutan Starting Motor Star Delta. *Jurnal Pendidikan Teknologi Dan Kejuruan*, 12(2). <https://doi.org/10.23887/jptk.v12i2.6478>
- Sulistianto, A. E., Murdiya, F., & Hamdani, E. (2021). Rancang bangun generator ozon koaksial. *Jom FTEKNIK*, 8(1), 1–8.
- Susanto, E. (2013). Automatic Transfer Switch. *Jurnal Teknik Elektro*, 5(1), 1–4.
- Syafarudin, A., & Novia. (2013). Produksi Ozon dengan Bahan Baku Oksigen Menggunakan Alat Ozon Generator. *Jurnal Teknik Kimia*, 19(2), 1–9.
- Triawanto, Y. (2016). Pengaruh Variasi Topologi Elektroda terhadap Kadar Ozon yang dihasilkan oleh Generator Ozon. *Jurnal Fisika Dan Aplikasinya*, 12(1), 47. <https://doi.org/10.12962/j24604682.v12i1.1327>
- Utami, S., Bintari, S. H., & Susanti, R. (2018). Deteksi Escherichia coli pada jamu gendong di gunungpati dengan medium selektif diferensial. *Life Science*, 7(2), 73–81.
- Wulandari, D. D. (2017). Analisa kualitas madu. *Jurnal Kimia Riset*, 2(1), 16.