



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI AWAL APLIKASI TEKNOLOGI OZON UNTUK
DEAKTIVASI SPORA *Bacillus sp.* PADA MEDIA PADAT**

SKRIPSI

**FATIMATUZ ZAHROH
0806332982**

**FAKULTAS TEKNIK
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2012**



UNIVERSITAS INDONESIA

**STUDI AWAL APLIKASI TEKNOLOGI OZON UNTUK
DEAKTIVASI SPORA *Bacillus sp.* PADA MEDIA PADAT**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Teknik

**FATIMATUZ ZAHROH
0806332982**

**FAKULTAS TEKNIK
DEPARTEMEN TEKNIK KIMIA
DEPOK
JUNI 2012**

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS

Penulis menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya tulis ilmiah skripsi dengan judul :

**Studi Awal Aplikasi Teknologi Ozon untuk Deaktivasi Spora *Bacillus sp.*
pada Media Padat**

disusun untuk memenuhi sebagian persyaratan akademis untuk dapat lulus mata kuliah spesial skripsi di Departemen Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia bukanlah merupakan tiruan ataupun duplikasi dari skripsi yang sudah dipublikasikan dan atau pernah dipakai untuk mendapatkan gelar kesarjanaan di lingkungan Universitas Indonesia maupun Perguruan Tinggi atau instansi manapun, kecuali bagian yang sumber informasinya dicantumkan sebagaimana mestinya.

Depok, 21 Juni 2012



Fatimatuz Zahroh





NPM. 0806332982

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh :
Nama : Fatimatuz Zahroh
NPM : 0806332982
Program Studi : Teknik Kimia
Judul Skripsi : Studi Awal Aplikasi Teknologi Ozon untuk
Deaktivasi Spora *Bacillus sp.* pada Media Padat

Telah berhasil dipertahankan dihadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana pada Program Studi Teknik Kimia Fakultas Teknik Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing : Prof. Dr. Ir. Setijo Bismo, DEA. ()
Penguji : Ir. Yuliusman, M.Eng. ()
Penguji : Eva Fathul Karamah, ST.,MT. ()
Penguji : Drh. Usamah Afiff, MSc. ()

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : Juli 2012

KATA PENGANTAR

Puji syukur Penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT karena atas rahmat dan bimbingan-Nya Penulis dapat menyelesaikan makalah skripsi yang berjudul “**Studi Awal Aplikasi Teknologi Ozon untuk Deaktivasi Spora *Bacillus sp.* pada Media Padat**”. Penulisan makalah skripsi ini dilakukan dalam rangka memenuhi mata kuliah Skripsi.

Secara khusus, penulis ingin mengucapkan terima kasih sebesar-besarnya kepada Prof. Dr. Ir. Setijo Bismo, DEA dan Drh. Usamah Afiff, M.Sc selaku pembimbing yang bersedia membimbing dan memberi arahan kepada Penulis dalam menyelesaikan makalah ini. Penulis juga ingin mengucapkan terima kasih kepada:

- Drs. Chaeruddin dan Zakiyah, S.Ag, kedua orang tua yang selalu memberi dukungan moral maupun materil kepada penulis bersama adik-adik di rumah.
- Prof. Dr. Ir Widodo W. Purwanto DEA selaku Ketua DTK FTUI dan Prof. Nasikin selaku dosen mata kuliah metode penelitian.
- Indriani Mukti, Maylen Rhona Vika, Migel Aldilla, Ria Wulansarie, Widioseno, Mba Ika, Mba Veny, Kak Wiwie, Kak Christine, dan teman yang selama penyusunan seminar saling mengingatkan dan memberi semangat.
- Para laboran yang telah membantu pelaksanaan penelitian ini, baik di DTK FTUI maupun FKH IPB.
- Indah Nur Zahra dan keluarga yang terus mendoakan dan memberi semangat.
- Hafizhah Az Zahra yang dukungannya senantiasa menentramkan jiwa dan menenangkan hati penulis.
- Ade Sri Rahayu dan Khofiful Walidani yang senyumnya mampu menstimulus kekuatan dan semangat penulis.
- Keluarga PSDM BEM UI 2012 yang selalu bekerja sama dengan baik.
- serta kepada semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa makalah ini masih belum sempurna. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun selalu penulis harapkan agar dapat menyempurnakan tulisan ini.

Depok, 21 Juni 2012

Penulis

**HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS**

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Fatimatuz Zahroh

NPM : 0806332982

Program Studi : Teknik Kimia

Departemen : Teknik Kimia

Fakultas : Teknik

Jenis Karya : Skripsi

demikian demi pengembangan ilmu pengetahuan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty-Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul:

**Studi Awal Aplikasi Teknologi Ozon untuk Deaktivasi Spora *Bacillus sp.*
pada Media Padat**

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/formatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 21 Juni 2012

Yang menyatakan



(Fatimatuz Zahroh)

ABSTRAK

Nama : Fatimatuz Zahroh
Program Studi : Teknik Kimia
Judul : Studi Awal Aplikasi Teknologi Ozon untuk Deaktivasi Spora *Bacillus sp.* pada Media Padat

Penelitian ini merupakan aplikasi teknik ozonasi pada media padat. Penelitian ini dapat dipandang sebagai alternatif pendukung dari program pemerintah untuk menekan pertumbuhan dan penyebaran bakteri *Bacillus anthracis*, yaitu mikroorganisme penyebab utama penyakit antraks yang mematikan, baik pada hewan ternak maupun manusia. Pendekatan utama yang diambil adalah bahwa spora bakteri *Bacillus cereus* memiliki kemiripan struktur dengan spora bakteri *Bacillus anthracis*, sedemikian sehingga dapat dianggap sebagai representasi ideal untuk proses ozonasi pada media padat. Proses ozonasi dilakukan dengan menggunakan ozonator yang telah dirancang-bangun sebelumnya di Laboratorium Intensifikasi Proses DTK FTUI. Ozonator dioperasikan dengan tegangan listrik sebesar 150 volt pada primer transformator tegangan tinggi (plasmatron), setara dengan tegangan 10 KV pada sekunder plasmatron, pada suhu ruang dan tekanan 1 atm. Udara yang digunakan dicatu dari kompresor dengan laju alir udara sekitar 850 liter/jam. Media yang diozonasi divariasikan menjadi tiga jenis, yaitu tanah, zeolit, dan campuran keduanya. Selanjutnya, setiap sampel diambil dari masing-masing media setelah dilakukan ozonasi selama 15, 30, 60, 90, dan 120 menit. Dari hasil penelitian, didapatkan bahwa proses ozonasi dapat mendeaktivasi spora *Bacillus sp.* pada media tanah dan zeolit dengan capaian efektivitas sebesar 99,8%.

Kata kunci: Ozonasi, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*.

ABSTRACT

Name : Fatimatuz Zahroh
Study Program : Chemical Engineering
Title : Preliminary Study of Application of Ozone Technology to
Deactivates *Bacillus sp.* Spores on Solid Media

This research is application of ozonation techniques on solid media. This research is alternative supporting government program to reduce growth and spread of *Bacillus anthracis*, the main cause of disease anthrax deadly, either on farm animals and humans. The main approach taken is that spore the bacterium *Bacillus cereus* has similarities with *Bacillus anthracis* spores structure, such that it can be considered as a ideal representation for ozonation process on solid media. Ozonation process is carried out using the ozonator has been designed earlier in the Process Intensification Laboratorium Chemical Engineering Departemen UI. Ozonator operated with a voltage of 150 volts on the high voltage primary transformer (plasmatron), the equivalent of 10 KV voltage at the secondary plasmatron, on room temperature and pressure of 1 atm. Air supplied from the air compressor used with air flow rate of about 850 litres/hour. An ozonated medium varied into three types, that is, a soil, a zeolite, and a mix of both. Furthermore, each sample is taken from each media after ozonation process for 15, 30, 60, 90, and 120 minutes. From the research, got that ozonation process can deactivates spores of *Bacillus sp.* in the soil and zeolite medium with the effectiveness of 99.8 %.

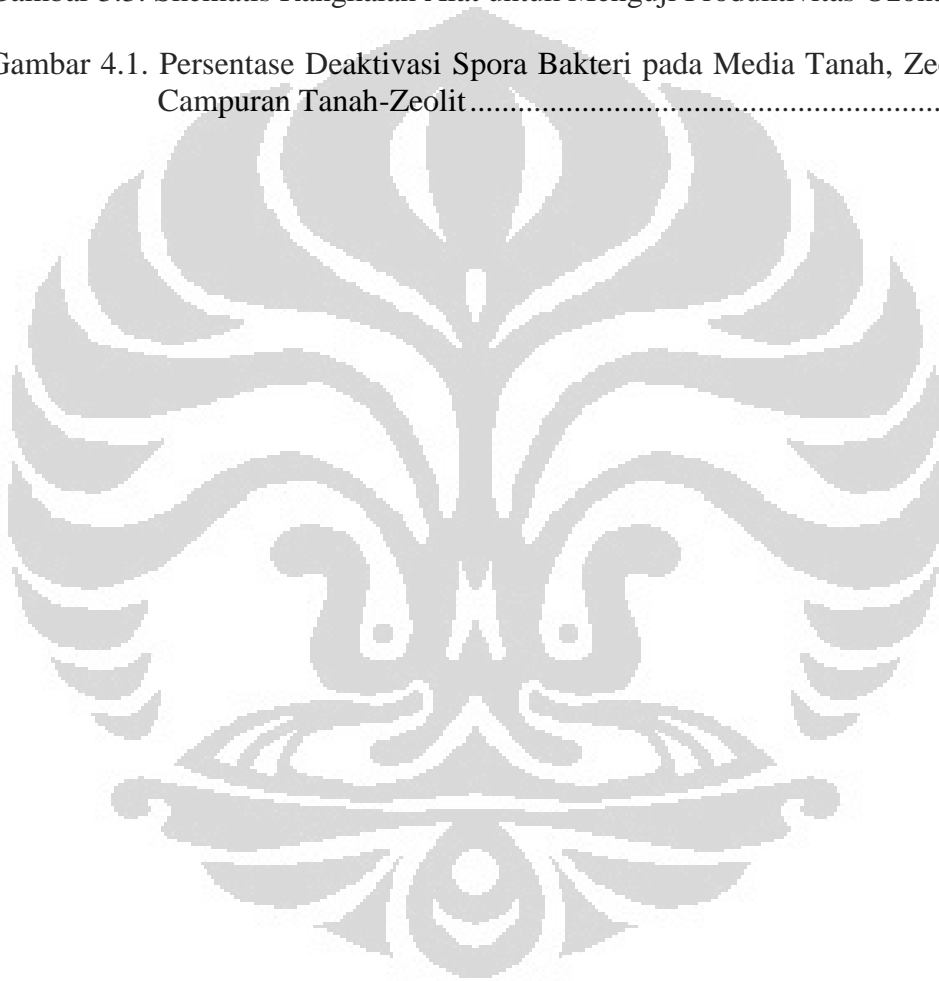
Keyword: Ozonation, *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*.

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL	i
HALAMAN JUDUL	ii
LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS	iii
KATA PENGANTAR	v
HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI	vi
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Batasan Masalah	3
1.5 Sistematika Penulisan	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Penyakit Antraks dan Penyebarannya	6
2.2 Bakteri Penyebab Penyakit Antraks	8
2.3 Teknologi Ozon untuk Deaktivasi spora <i>Bacillus sp.</i>	11
2.4 Metode <i>Total Plate Count</i> untuk Perhitungan Spora <i>Bacillus sp.</i>	18
BAB 3. METODOLOGI PENELITIAN	21
3.1 Diagram Alir Penelitian	21
3.2 Lokasi Penelitian	21
3.3 Variabel Penelitian.....	22
3.4 Bahan dan Peralatan Penelitian	23
3.5 Prosedur Penelitian	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	31
4.1. Analisis Produktivitas Ozonator	31
4.2. Proses Ozonasi pada Media Tanah	32
4.2. Proses Ozonasi pada Media Zeolit	33
4.3. Proses Ozonasi pada Media Campuran Tanah-Zeolit	34
4.4. Pengaruh Ozonasi terhadap Deaktivasi Spora <i>Bacillus sp.</i> pada Media Padat	35
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	40
5.1. Kesimpulan	40
5.2. Saran	40
DAFTAR PUSTAKA	41

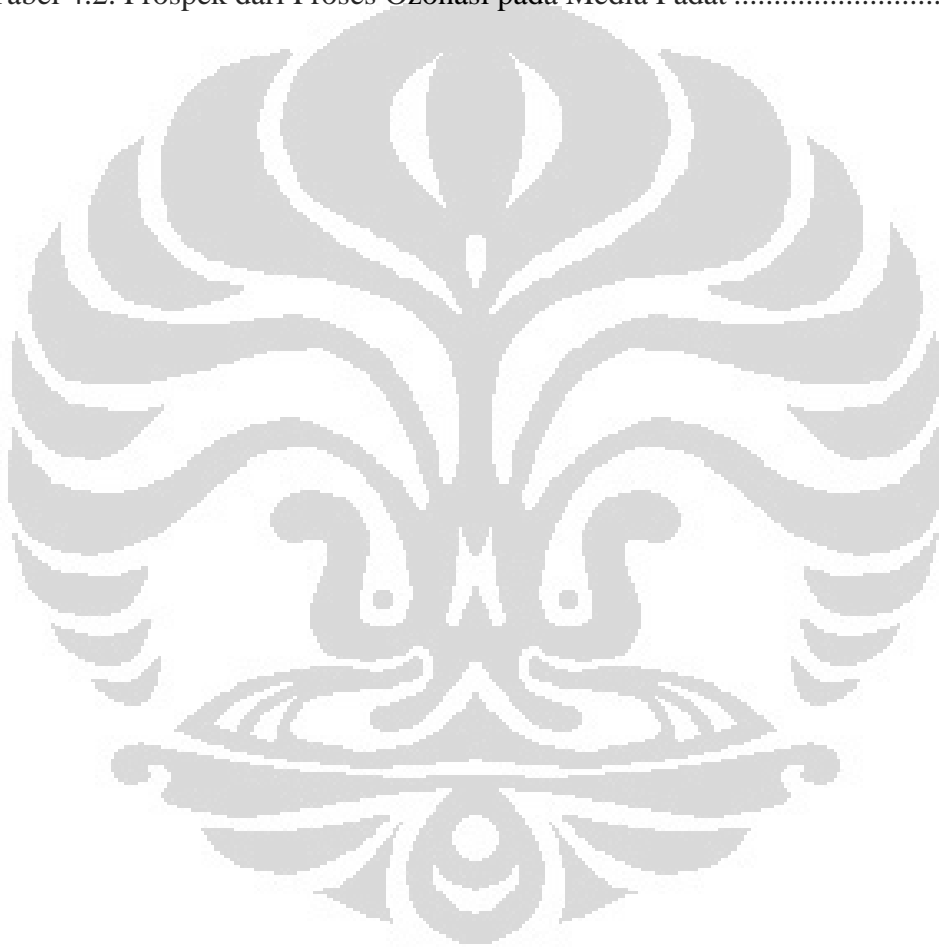
DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1. Peta Daerah Endemik Antraks di Indonesia.....	8
Gambar 2.2. Efek Ozon pada Bakteri	16
Gambar 2.3. Skema Melintang Ozonator dengan Satu CD-Chamber Koaksial ...	17
Gambar 2.4. Ozonator	18
Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian	21
Gambar 3.2. Foto dan Skematis Rangkaian Peralatan Penelitian	24
Gambar 3.3. Skematis Rangkaian Alat untuk Menguji Produktivitas Ozonator ..	28
Gambar 4.1. Persentase Deaktivasi Spora Bakteri pada Media Tanah, Zeolit, dan Campuran Tanah-Zeolit.....	36



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1. Penyebaran Penyakit Antraks	7
Tabel 2.2. Sifat Fisika Ozon.....	12
Tabel 3.1. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian	23
Tabel 3.2. Rincian Alat yang Digunakan dalam Penelitian	24
Tabel 3.3. Persentase Deaktivasi Spora Bakteri setelah Proses Ozonasi.....	30
Tabel 4.1. Kondisi Operasi Proses Ozonasi Media Padat.....	35
Tabel 4.2. Prospek dari Proses Ozonasi pada Media Padat	39



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Penyakit antraks, yang sangat mematikan baik pada manusia maupun hewan, memerlukan perhatian yang cukup serius dari pemerintah dan pihak-pihak terkait yang berkompeten karena penyebarannya yang semakin meluas. Sebagai contoh, sampai tahun 2011, di Kabupaten Boyolali tercatat dua kejadian luar biasa (KLB) antraks yang terpublikasi secara luas. Pada awalnya di tahun 1992, tercatat KLB di Kecamatan Teras akibat konsumsi sate kere dari daging sapi yang terkena antraks dan kemudian pada Februari 2011, tercatat KLB di Kecamatan Klego akibat konsumsi daging dari sapi yang sakit pula. Korban jiwa mencapai 18 orang akibat kejadian ini. Faktor penyebabnya adalah kemudahan akses transportasi hewan ternak dan mobilitas manusia itu sendiri, khususnya peternak (Suryadjaja, 2011).

Penyakit antraks merupakan salah satu penyakit zoonosis utama (penyakit yang dapat berpindah dari hewan ke manusia) di hampir seluruh negara (Basri and Kiptiyah, 2010). Ketika tidak ditangani dengan baik, korban penyakit antraks dapat meninggal dalam waktu 24 – 48 jam (Bradley, 2006). Pengobatan untuk penyakit antraks pada manusia dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik, biasanya penisilin, yang bertindak sebagai antitoksin. Namun, pada level toksin sudah menyebar dalam pembuluh darah dan telah menempel pada jaringan, toksin tidak dapat dinetralisasi dengan antibiotik apapun (Santamaria and Toranzos, 2003). Untuk hewan ternak, vaksinasi rutin telah dilaksanakan oleh pemerintah, tetapi sering terhambat terutama oleh pengetahuan pemilik ternak yang terbatas dan alasan ekonomi (Wahyuni, 2006).

Penyakit antraks disebabkan oleh bakteri *Bacillus anthracis* yang memiliki kemampuan hidup dalam dua bentuk berbeda, yaitu bentuk vegetatif dan bentuk spora. Bentuk spora biasanya terjadi pada kondisi kekurangan zat nutrisi dan ketersediaan oksigen (Blaha, 1989). Kemampuan membentuk spora inilah yang menyebabkan bakteri antraks sangat sulit untuk diberantas (Soejoedono, 2004).

Umumnya, sapi peternakan terjangkit penyakit antraks ketika memakan rumput yang di tanahnya terdapat spora bakteri antraks.

B. anthracis merupakan anggota dari grup *B. cereus* yang juga berisi *B. cereus* dan *B. thuringiensis*. Ketiga organisme tersebut memiliki hubungan yang sangat dekat, dimana beberapa peneliti sepakat bahwa ketiga organisme tersebut merupakan satu spesies (Helgason et al., 2000). Oleh karena itu, spora bakteri *B. cereus* ataupun *B. thuringiensis* dapat menjadi representasi dari spora *B. anthracis*, baik struktur spora maupun ketahanannya terhadap kondisi luar yang ekstrim, termasuk disinfektan. Selama ini, berbagai macam teknologi telah diuji untuk memberantas penyebaran spora bakteri ini. Namun, ketahanan spora *Bacillus sp.* sangat baik sedemikian sehingga belum ada teknologi yang terbukti ampuh dalam menanggulangi penyebaran spora *Bacillus sp.*

Sementara itu, sejak akhir tahun 1800-an, teknologi ozonasi telah digunakan sebagai metode disinfeksi untuk peningkatan kualitas air. Di satu sisi, ozon berperan sebagai oksidator yang sangat kuat dan disinfektan yang sangat baik sehingga oksidator ini mampu mendeaktivasi kerja enzim pada membran sel bakteri sedemikian hingga mati secara keseluruhan. Di sisi lain, ozon dilaporkan dapat mendeaktivasi spora *Bacillus sp.* dengan menghambat proses germinasinya (Young and Setlow, 2004). Bakteri antraks, yang memiliki spora, umumnya hidup di alam bebas, khususnya di tanah dan bertahan hidup di sana dalam jangka waktu yang lama. Seringkali, penyebaran penyakit antraks dimulai dari tanah. Sampai saat ini, belum ada metode yang terbukti ampuh untuk memberantas penyebaran spora bakteri antraks di alam bebas.

Dalam penelitian ini, dilakukan proses ozonasi pada media tanah dan zeolit yang mengandung spora bakteri dengan genus *Bacillus sp.* Karena mempertimbangkan aspek keamanan dan perizinan, bukan spora *B. anthracis* yang digunakan pada penelitian ini melainkan spora *B. cereus*. Proses ozonasi dilakukan dengan menggunakan ozonator yang telah dirancang bangun sebelumnya di Laboratorium Intensifikasi Proses DTK FTUI.

Ozonator dioperasikan dengan tegangan listrik sebesar 150 volt pada primer transformator tegangan tinggi (plasmatron), setara dengan tegangan 10 KV pada sekunder plasmatron, pada suhu ruang dan tekanan 1 atm. Udara yang

digunakan dicatu dari kompresor dengan laju alir udara sekitar 850 liter/jam. Variabel bebas pada penelitian ini adalah media dan waktu ozonasi. Selanjutnya, jumlah spora bakteri pada masing-masing media akan dihitung. Setelah penelitian ini dilakukan, akan diketahui bagaimanakah pengaruh ozonasi dan media ozonasi terhadap deaktivasi spora *Bacillus sp.* serta berapa waktu ozonasi yang optimum untuk mendehaktivasi spora *Bacillus sp.*

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas, rumusan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Bagaimana pengaruh ozonasi terhadap deaktivasi spora *Bacillus sp.*?
2. Berapa waktu ozonasi yang optimum untuk mendehaktivasi spora *Bacillus sp.*?
3. Bagaimana pengaruh media ozonasi terhadap efektivitas ozon dalam mendehaktivasi spora *Bacillus sp.*?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. Mengetahui efektivitas ozon dalam mendehaktivasi spora *Bacillus sp.*
2. Mendapatkan waktu yang optimum dalam proses ozonasi untuk mendehaktivasi spora *Bacillus sp.*
3. Mengetahui pengaruh media ozonasi terhadap efektivitas ozon dalam mendehaktivasi spora *Bacillus sp.*

1.4 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah:

1. Media yang digunakan adalah tanah dan zeolit P-2 yang ada di Departemen Teknik Kimia FTUI.
2. Spora bakteri *Bacillus cereus* didapat dengan menanam biakan bakteri *Bacillus cereus* yang diperoleh dari FKH IPB ke dalam masing-masing media lalu mendiamkannya selama tujuh hari sehingga bakteri tersebut membentuk spora.

3. Ozonator yang digunakan merupakan ozonator yang telah dirancang bangun pada tahun 2010 yang lalu oleh Prof. Dr. Ir. Setijo Bismo, DEA. di Laboratorium Intensifikasi Proses Departemen Teknik Kimia FTUI.
4. Perhitungan jumlah bakteri dilakukan dengan metode *Total Plate Count*, teknik cawan gores di Laboratorium Terpadu FKH IPB.
5. Kinerja proses dievaluasi berdasarkan reduksi jumlah bakteri pada media yang digunakan.

1.5 Sistematika Penulisan

Sistematika penulisan dalam makalah ini dilakukan dengan membagi tulisan menjadi lima bab, yaitu:

BAB I PENDAHULUAN

Meliputi latar belakang penelitian, perumusan masalah yang dibahas, tujuan dilakukannya penelitian, serta sistematika penulisan skripsi ini.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

Berisi tinjauan pustaka yang menjadi dasar penelitian, meliputi penjabaran mengenai penyakit antraks pada sapi peternakan, bakteri penyebab penyakit antraks, ozon, dan disinfeksi dengan teknologi ozon.

BAB III METODE PENELITIAN

Berisi diagram alir penelitian, peralatan penelitian, bahan penelitian dan prosedur yang dilakukan dalam penelitian.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Berisi hasil yang didapat setelah melakukan penelitian ini dilengkapi dengan pembahasan mengenai hasil tersebut.

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

Berisi hal-hal yang dapat disimpulkan setelah melakukan analisis terhadap hasil penelitian ini beserta saran agar penelitian ini dapat dikembangkan dengan lebih baik lagi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

Penyakit antraks atau yang sering dikenal juga sebagai penyakit radang limpa, radang kura, *miltbrand*, *miltvuur* atau *splenic fever* merupakan salah satu penyakit zoonosis utama di hampir seluruh negara di dunia. Penyakit ini bukanlah penyakit baru karena sudah dikenal sejak ribuan tahun yang lalu pada masa Mesir Kuno. Saat ini, kejadian penyakit ini dilaporkan pernah terjadi di hampir seluruh dunia, baik di negara maju maupun di negara berkembang. Indonesia merupakan salah satu negara yang terus menerus terjangkit penyakit antraks. Selama periode tahun 2002 hingga tahun 2007, kasus penyakit antraks pada manusia di Indonesia mencapai 348 orang dengan kematian mencapai 25 orang atau CFR mencapai sebesar 7,2% (Basri and Kiptiyah, 2010).

Secara umum, pengobatan untuk penyakit antraks pada manusia dapat dilakukan dengan pemberian antibiotik, biasanya penisilin, yang akan menghentikan pertumbuhan dan produksi toksin. Pemberian antitoksin akan mencegah pengikatan toksin terhadap sel. Dapat pula dilakukan terapi tambahan, seperti sedation (pemberian obat penenang) untuk penderita penyakit ini. Namun, pada level toksin sudah menyebar dalam pembuluh darah dan telah menempel pada jaringan, toksin tidak dapat dinetralisasi dengan antibiotik apapun (Santamaria and Toranzos, 2003). Ketika tidak ditangani dengan baik, korban penyakit antraks dapat meninggal dalam waktu 24 – 48 jam (Bradley, 2006).

Vaksinasi antraks telah intensif dilakukan oleh pemerintah karena harga vaksin relatif murah dan proses vaksinasinya pun mudah. Namun, pelaksanaannya sering menghadapi berbagai hambatan terutama dari pemilik ternak akibat pengetahuan mereka yang terbatas. Kesulitan juga timbul karena alasan ekonomi, yaitu uang penggantian sebagai kompensasi ternak mati dinilai belum memadai (Wahyuni, 2006). Oleh karena itu, diperlukan suatu metode yang lebih efisien untuk menanggulangi penyakit antraks.

Berdasarkan penjelasan di atas, pada bab ini akan dijelaskan tentang penyakit antraks, penyebaran, serta bakteri yang menyebabkan penyakit ini.

Kemudian akan dijelaskan pula tentang teknologi ozon sebagai usulan alternatif untuk penanggulangan penyakit ini.

2.1 Penyakit Antraks dan Penyebarannya

Antraks adalah penyakit hewan yang dapat menular ke manusia dan bersifat akut. Penyebabnya bakteri *Bacillus anthracis* yang bersifat aerob (memerlukan oksigen untuk hidup). Di alam bebas, bakteri ini membentuk spora yang tahan puluhan tahun dalam tanah dan bisa menjadi sumber penularan pada hewan dan manusia. Hewan dapat tertular penyakit ini jika memakan spora yang menempel pada tanaman yang dimakan. Penularan pada manusia bisa lewat kontak langsung spora yang ada di tanah, tanaman, maupun bahan dari hewan sakit (kulit, daging, tulang atau darah), mengonsumsi produk hewan yang kena antraks atau melalui udara yang mengandung spora, misalnya, pada pekerja di pabrik wool atau kulit binatang.

Ada empat tipe antraks, yaitu antraks kulit, usus/antraks usus, pernapasan/antraks paru, dan antraks otak. Antraks otak terjadi jika bakteri terbawa darah masuk ke otak. Masa inkubasi antraks kulit sekitar dua sampai lima hari. Mula-mula kulit gatal, kemudian melepuh yang jika pecah membentuk keropeng hitam di tengahnya. Di sekitar keropeng bengkak dan nyeri. Jika antraks masuk tubuh, dalam 24 jam sudah tampak tanda demam, mual dan muntah darah pada antraks usus, batuk dan sesak napas pada antraks paru, sakit kepala dan kejang pada antraks otak. Jika tak segera diobati bisa meninggal dalam waktu satu atau dua hari.

Penyakit ini sangat mudah menyerang hewan herbivora, seperti sapi, kambing, dan domba. Hal ini disebabkan spora bakteri dapat mencemari apa saja termasuk pakan dan air yang biasa dikonsumsi hewan ternak. Tingkat kematian manusia akibat penyakit antraks sampai saat ini dilaporkan mencapai 18%. Angka risiko terinfeksi pada manusia berkisar 1/100.000 dan sebagian besar merupakan antraks kulit (*cutaneous antraks*) (Suprodjo, 2009).

Penyebaran Antraks kini semakin merambat perlahan dari waktu ke waktu dari satu lokasi endemis ke lokasi yang semula non-endemis. Penyebaran ini tidak lepas dari faktor mudahnya akses transportasi hewan ternak dan mobilitas

manusia itu sendiri, khususnya peternak. Penyebaran penyakit antraks di dunia dan Indonesia dapat dijelaskan pada Tabel 2.1. berikut.

Tabel 2.1. Penyebaran Penyakit Antraks

Tahun	Kejadian
1613	Wabah yang menewaskan 60.000 orang di Eropa diduga disebabkan oleh antraks
1884	Javasche Counrant melaporkan ditemukannya penyakit antraks di Teluk Betung, Provinsi Lampung yang menyerang kerbau.
1885	Kolonial Verslag melaporkan ditemukannya penyakit antraks di Buleleng (Bali), Rawas (Palembang), dan Lampung.
1886	Penyakit antraks ditemukan di daerah Banten, Padang, Kalimantan Barat, dan Kalimantan Timur, menyebabkan 900 ekor sapi mati, juga terjadi berkali-kali di Karawang, Madura, Tapanuli, Palembang, dan Bengkulu pada tahun yang sama.
1910	Antraks kembali menyerang di Jambi dan Palembang
1914	Antraks ditemukan di Padang, Bengkulu, dan Palembang
1927-1928	Penyakit antraks ditemukan di Padang, Bukit Tinggi, Palembang, dan Jambi
1930	Antraks ditemukan di Sibolga, Palembang, dan Medan
1962	Serangan penyakit antraks ditemukan di Cibungur (Jawa Barat)
1965	Kasus antraks ditemukan di Desa Hambalang, Bogor
1980	Penyakit antraks menyerang ternak peliharaan di Nusa Tenggara Timur
1983-1986	Kasus antraks terjadi di Bekasi yang menimpa sejumlah ternak di Kecamatan Serang, Cibarusah, Muara Gembong, Cibitung, dan Lemah Abang
1985	Antraks menyerang hewan di Cirangkong (Jawa Barat)
1999	Antraks ditemukan di Cipayungsari (Jawa Barat)
2000	Antraks menyerang burung unta di Purwakarta
2001	Kasus antraks kembali menyerang Desa Hambalang (Bogor) dan 20 orang dinyatakan terserang antraks
2003	Wabah antraks menyerang ternak di Bima, Nusa Tenggara Barat

(Gsianturi, 2004)

Secara nasional, penyakit antraks merupakan zoonosis (penyakit yang dapat berpindah dari hewan ke manusia) yang penting nomor dua setelah rabies. Propinsi Jawa Barat merupakan daerah endemis antraks, meliputi 7 kab/kota yang tersebar di 30 kecamatan dan 60 desa. Adapun kab/kota tersebut adalah Bogor, Depok, Bekasi, Purwakarta, Subang, dan Karawang. Selain itu, hingga kini di Kabupaten Boyolali tercatat dua kejadian luar biasa (KLB) antraks yang terpublikasi luas, pada tahun 1992 tercatat di Kecamatan Teras akibat konsumsi sate kere dari daging sapi yang terkena antraks dan pada Februari 2011 di Kecamatan Klego akibat konsumsi daging dari sapi yang sakit. Pada kejadian ini

terenggut korban jiwa sebanyak 18 orang (Suryadjaja, 2011). Peta daerah endemik antraks di Indonesia dapat dilihat pada Gambar 2.1.



Gambar 2.1. Peta Daerah Endemik Antraks di Indonesia (Nugroho, 2011)

2.2 Bakteri Penyebab Penyakit Antraks

Agen penyakit antraks adalah bakteri *Bacillus anthracis* yang merupakan bakteri gram positif, berbentuk batang lurus, dengan ujung siku, mempunyai kapsul, tidak bergerak, dan dalam jaringan tubuh tersusun tunggal atau rantai pendek, tetapi dalam biakan membentuk rantai panjang. Dalam jaringan tubuh, bakteri antraks terdiri atas dua sampai enam organisme yang diselubungi kapsul serta mempunyai ukuran panjang 5 – 8 mikrometer, lebar 1 – 1,5 mikrometer, dan diameter 1 – 1,25 mikrometer (Choquette and Broughton, 1981). *Bacillus anthracis* merupakan anggota dari grup *Bacillus cereus* yang juga berisi *Bacillus cereus* dan *Bacillus thuringiensis*. Ketiga organisme tersebut memiliki hubungan yang sangat dekat. Bahkan berdasarkan analisis genetik, beberapa peneliti mempertimbangkan mereka sebagai satu spesies, tetapi ide ini masih kontroversial. Plasmid yang terkait erat dengan pX01/pX02 baru-baru ini telah ditemukan di beberapa Nasopharyngeal *B. cereus* yang menyebabkan penyakit seperti antraks pada orang, simpanse, atau gorila (Helgason et al., 2000).

Bacillus anthracis adalah bakteri tanah, membentuk spora bila berada di luar tubuh induk semangnya (hewan atau manusia). Spora antraks akan terlindungi di dalam tanah, wool, tulang atau tepung tulang atau darah kering sehingga tetap hidup sampai bertahun-tahun dan tetap bisa menimbulkan infeksi

pada hewan dan manusia. Ketahanan spora dalam tanah tergantung beberapa faktor, seperti kandungan nitrogen dan kalsium, kelembaban, temperatur, mikroflora kompetitif, germinasi dan multifikasi (Bohm, 1989).

Oleh karena sifat *Bacillus sp.* yang cukup berbahaya, maka untuk menjalankan penelitian yang berkaitan dengannya diperlukan suatu prosedur standar bekerja dengan bakteri, seperti yang dijelaskan berikut ini:

a. Registrasi

Praktikan harus mengisi formulir registrasi untuk melakukan penelitian dengan hewan yang berbakteri atau bakteri dengan menulis hewan tersebut ataupun bakteri tersebut dalam formulir. Formulir registrasi ini harus ditandatangani oleh Komite Biohazard setempat.

b. Pelatihan

Semua level praktikan harus mengikuti pelatihan *biosafety* terlebih dahulu sebelum bekerja dengan bakteri level 2 dan jenis bakteri apapun. Seluruh praktikan yang bereksperimen dengan hewan yang terinfeksi bakteri harus mengikuti pelatihan Perlindungan dan Penggunaan Binatang oleh Animal Care and Veterinary Services (ACVS).

c. Identifikasi Bahaya

Seluruh praktikan wajib dibriefing mengenai prosedur keselamatan dimana melibatkan bakteri dalam eksperimen oleh Kepala Kesehatan Keselamatan Kerja dan Lingkungan setempat.

d. Pengawasan Medis

Praktikan yang bekerja dengan bakteri atau hewan yang terinfeksi bakteri harus mengumpulkan Position Hazard Form (PHF) yang memberikan jenis bakteri yang akan digunakan kepada Kepala K3L Fakultas atau Departemen. Jika memang bakteri yang digunakan berbahaya, perlu dilakukan imunisasi atau vaksin.

e. Kebutuhan Penahanan

Seluruh kegiatan eksperimen dengan bakteri yang hidup, dan seluruh kegiatan dengan jaringan hewan yang tidak pasti harus dilaksanakan sesuai dengan peraturan *biosafety* level 2 pada peraturan setempat,

misalnya pada “*Laboratory Biosafety Guidelines*,” *Health Canada*, 2nd edition, 1996. Perlu menggunakan masker HEPA.

f. Tempat Perkembangan Hewan

Hewan yang terinfeksi bakteri harus disangkarkan. Sangkar yang layak akan diputuskan dengan konsultasi antara Ketua Research Group, Kepala *Biosafety*, dan Direktur, ACVS sebagai standar sangkar yang dibutuhkan. Sangkar mikroisolator atau filtertop akan dibutuhkan dimana bakteri infeksi dapat menyebar dan menginfeksi hewan-hewan.

g. Pembuangan Limbah dan Dekontaminasi

- Perubahan *bedding* harus dikeluarkan dari kabinet *biosafety* jika memungkinkan. *Soiled bedding* dapat ditaruh dalam tas biohazard, disegel, dibungkus rangkap dua, dan dihilangkan dengan insinerasi.
- Jika tidak memungkinkan untuk mengganti bedding yang tidak bersih di dalam kabinet *biosafety* karena ukuran dari sangkar, alat perlindungan pernapasan dibutuhkan untuk semua orang yang berada di dalamnya. *Soiled bedding* dapat ditaruh di dalam tas biohazard dan disegel.
- Sangkar kecil yang terkontaminasi (termasuk rak besi dan botol air) harus didekontaminasi dengan disinfeksi sebelum mencuci atau membersihkan ruangan peliharaan hewan. Untuk disinfeksi, sangkar harus diberikan atau dibanamkan di dalam disinfektan untuk pembuktian keefektivannya terhadap bakteri (misalnya: Quatricide PV-15 atau CLIDOX untuk Adenobakteri). Sangkar harus dibanamkan untuk dekontaminasi terhadap bakteri. Sangkar kemudian dipindahkan dari ruang untuk dicuci. Sangkar yang lebih besar harus disemprot keseluruhan bagiannya dengan disinfektan dan dibiarkan basah selama waktu yang dibutuhkan untuk dekontaminasi. Disinfektan dilarutkan dengan spesifikasi tertentu seperti untuk Quatricide PV-15: ½ oz: 1 gal air. Disinfektan harus dibuat saat itu juga.

Disinfektan yang telah digunakan dapat dibuang dengan mengalirkannya ke saluran tertentu untuk limbah khusus. Setelah disinfeksi, sangkar akan dikeluarkan dari ruangan hewan L2 dan

ditaruh di pencuci sangkar untuk proses lebih lanjut. Disinfektan lainnya dapat digunakan, tetapi harus terbukti efektif pada bakteri yang digunakan. Alternatif disinfektan harus diperiksa terlebih dahulu oleh Kepala *Biosafety* sebelum digunakan. Hal penting yang harus diperhatikan untuk bekerja dengan reagen ini adalah sebagai berikut:

- Konsentrat disinfektan beracun
- Pengguna disinfektan harus menggunakan sarung tangan karet, overgown, dan pelindung mata
- Perlindungan pernapasan dibutuhkan
- MSDS dari disinfektan perlu dibaca sebelum menggunakannya.

h. Baju Keamanan

Baju panjang atau jas laboratorium harus digunakan pada ruangan level 2. Baju ini harus tetap dalam ruangan dan digunakan pada saat masuk ruangan dan dilepas ketika keluar ruangan. Pelindung sepatu dan sarung tangan pun harus digunakan. Pelindungan kepala pun dibutuhkan. Penggunaan kembali baju keamanan diperbolehkan, tetapi harus *di autoclave* sebelum dicuci. Baju yang langsung dibuang harus dihilangkan sebagai sampah *biohazard* dan *di autoclave* sebelum dibuang atau dibungkus rangkap dua dan diinsinerasi.

i. Perlindungan Tambahan

Jika tambahan perlindungan pernapasan dibutuhkan pernapasan HEPA seperti 3M 9970 atau pelindung pernapasan setengah muka dengan HEPA *catridge* harus digunakan ketika bekerja dengan bakteri ataupun dengan hewan yang terinfeksi bakteri.

j. Dekontaminasi

Sebagai pelengkap pekerjaan dengan bakteri, kabinet *biosafety*, semua sangkar, rak, peralatan, dan seluruh ruangan harus didekontaminasi sebelum ruangan akan digunakan untuk tujuan tertentu atau penelitian lainnya (USEPA, 2006).

2.3 Teknologi Ozon untuk Deaktivasi spora *Bacillus sp.*

Pada bagian ini, akan dijabarkan tentang hal-hal yang berkaitan dengan ozon, yaitu definisi, manfaat, dan deaktivasi spora bakteri dengan teknologi ozon.

2.3.1 Definisi Ozon

Ozon adalah molekul triatomik, terdiri dari tiga atom oksigen dan merupakan gas yang tidak stabil, yang diproduksi ketika molekul oksigen berdisosiasi menjadi atom oksigen. Pada suhu ruang, ozon merupakan gas berwarna biru dan memiliki bau yang tajam. Ozon bisa dideteksi oleh hidung manusia pada konsentrasi 0,01 – 0,05 ppm. Ozon akan meledak saat konsentrasinya mencapai 240 g/m^3 atau 20% di udara (Metcalf and Eddy, 2003).

Secara alamiah ozon dapat terbentuk melalui radiasi ultraviolet pancaran sinar matahari yang menyebabkan penguraian gas oksigen di udara bebas (proses fotolisis). Atom oksigen (O) yang terurai akan saling bertumbukan dengan molekul oksigen (O_2) yang ada di sekitarnya sehingga terbentuklah ozon (O_3). Peristiwa ini terjadi pada lapisan atmosfer paling atas (stratosfer) yang sering disebut sebagai lapisan ozon.

Molekul ozon yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan selalu berusaha melepaskan satu atom oksigen dengan cara oksidasi sehingga dapat berubah menjadi molekul oksigen (O_2) yang stabil. Sifat oksidator yang dimiliki ozon ini kemudian dimanfaatkan dalam berbagai aplikasi. Sifat fisika ozon dapat dilihat pada Tabel 2.2. berikut.

Tabel 2.2. Sifat Fisika Ozon

Karakteristik	Nilai
Berat molekul (g/mol)	48
Densitas (0°C , 1 atm) (g/liter)	1,666
Titik leleh ($^\circ\text{C}$)	-192,5
Temperatur kritis ($^\circ\text{C}$)	-12,1
Titik didih ($^\circ\text{C}$)	-111,9
Volume spesifik (0°C , 1 atm) (m^3/kg)	0,464
Tekanan kritis (kPa)	5532,3

(Metcalf and Eddy, 2003)

Ozon ditemukan dalam konsentrasi rendah di alam yaitu sekitar 0,02 – 0,03 ppm. Di daerah industri konsentrasinya lebih tinggi, dapat mencapai 0,05 ppm, karena terjadinya reaksi gas oksigen di udara oleh sinar matahari dengan adanya partikel-partikel asap pabrik (Pikatan, 2008). Ozon mempunyai waktu paruh lebih lama ketika berupa gas dibandingkan dalam larutan yang mengandung air. Ozon merupakan senyawa yang tidak stabil dan pada temperatur ruang akan terdekomposisi dengan cepat menjadi oksigen, dan laju dekomposisinya akan bertambah besar sesuai dengan kenaikan suhu dan PH. Selain itu, kelarutan ozon dalam air juga sebanding dengan waktu kontak yang diperlakukan. Oleh karena itu, ozon harus dibuat dalam ozonator yang jaraknya cukup dekat dengan instalasi pengolahan air minum (*in situ*) (Rice and Browning, 1981).

2.3.2 Manfaat Ozon

Penggunaan ozon dalam pengolahan air minum telah banyak diaplikasikan di seluruh dunia. Ozon digunakan pada pengolahan air karena ozon dapat merusak racun organik, mengendapkan logam berat dan logam kompleks, merusak sianida dan mengoksidasi amoniak. Semua potensi pengolahan ini bisa diatasi hanya dengan satu sistem pengolahan yaitu dengan menggunakan ozon (Ball, 1997).

Ozon memiliki dua fungsi utama yaitu oksidator dan disinfektan atau gabungan keduanya. Ozon adalah zat pengoksidasi yang sangat baik. Dalam pengolahan air, ozon sangat efektif dalam menghilangkan rasa dan bau yang disebabkan oleh material organik dan material anorganik yang bisa dioksidasi seperti ion besi, mangan, dan sulfida. Konsentrasi ozon yang dibutuhkan dan waktu reaksi tergantung pada tipe dan konsentrasi polutan dalam air yang bisa dioksidasi. Ozon juga merupakan disinfektan yang paling efisien yang digunakan dalam pengolahan air minum karena dapat menginaktivasi beberapa mikroorganisme, seperti protozoa, yang sulit diinaktivasi oleh disinfektan lainnya.

Selain itu, ozon memiliki keistimewaan lain, yaitu dapat terdekomposisi menjadi radikal OH (*OH), yang merupakan oksidan yang sangat kuat dalam air. Oleh karena itu, proses ozonasi selalu melibatkan dua hal yaitu radikal OH

dan ozon itu sendiri. Selama proses disinfeksi oleh ozon berlangsung, proses oksidasi mungkin terjadi antara kedua oksidan, radikal OH dan ozon. Sehubungan dengan hal tersebut, produk samping yang tidak diinginkan dapat terbentuk dari reaksi antara ozon dan radikal OH dengan komponen dalam air, seperti senyawa organik dan senyawa non organik. Biasanya ozonasi selalu diikuti dengan filtrasi biologi, sehingga sebagian senyawa organik yang telah dioksidasi bisa digunakan untuk dimineralisasikan secara mikrobiologi (Gunten, 2003).

Selain digunakan dalam pengolahan air, ozon juga dapat digunakan untuk sterilisasi bahan makanan mentah, pengawetan bahan makanan, pengelantangan (*bleaching*) pada pabrik tekstil, pulp dan kertas, pengolahan limbah cair dari industri dan hasil pemurnian minyak, mengontrol bau dan warna, pembuatan *ultrapure water* pada industri elektronik, serta *laundry* untuk kepentingan industri atau komersial. Dalam bidang kedokteran, ozon digunakan untuk sterilisasi peralatan kedokteran. Ozon juga digunakan untuk memperlancar jalannya aliran darah dan perawatan kulit terbakar (Ali, 2006).

2.3.3 Teknik Ozonasi untuk Deaktivasi Spora *Bacillus sp.*

Proses ozonasi merupakan proses bereaksinya ozon dengan spesi lain dalam fasa cair yang didahului absorpsi ozon pada fasa cair tersebut. Proses ozonisasi atau proses dengan menggunakan ozon pertama kali diperkenalkan Nies dari Prancis sebagai metode sterilisasi pada air minum pada tahun 1906. Penggunaan proses ozonisasi kemudian berkembang sangat pesat. Dalam kurun waktu kurang dari 20 tahun terdapat kurang lebih 300 lokasi pengolahan air minum menggunakan ozonisasi untuk proses sterilisasinya di Amerika (Berlana, 1998). Proses ini memanfaatkan sifat ozon sebagai oksidator kuat dan kemampuan ozon dalam melakukan disinfeksi.

Pembentukan oksigen menjadi ozon dilakukan dengan menggunakan energi. Ozon juga dapat dibuat dari reaksi kimia dan elektrolitik. Pada sistem ozonasi secara umum, terdapat proses *passing dry*, membersihkan udara dengan aliran listrik bertegangan tinggi seperti pada *corona discharge*, yang akan menghasilkan konsentrasi ozon sebesar 1% atau 10000 mg/L. Untuk pemurnian air pada kuantitas kecil, ozonasi UV merupakan yang paling umum

digunakan, sedangkan sistem dengan skala yang lebih besar dapat menggunakan *corona discharge* atau metode lainnya.

Tindakan ozon pada bahan organik dipengaruhi oleh pH. Pada pH rendah, ozon akan bereaksi secara eksklusif dengan senyawa yang memiliki gugus spesifik melalui reaksi selektif seperti elektrofilik, nukleofilik, atau reaksi penambahan dipolar (ozonasi langsung). Pada kondisi normal, ozon akan terdekomposisi menghasilkan radikal OH yang merupakan oksidator kuat dan bereaksi dengan senyawa organik dan anorganik yang beragam pada air (ozonasi tidak langsung). Umumnya, ozonasi langsung mendominasi pada pH rendah ($\text{pH} < 4$), ozonasi langsung dan tidak langsung terjadi pada pH 4-9, dan ozonasi tidak langsung mendominasi pada $\text{pH} > 9$ (Peratitus, 2003).

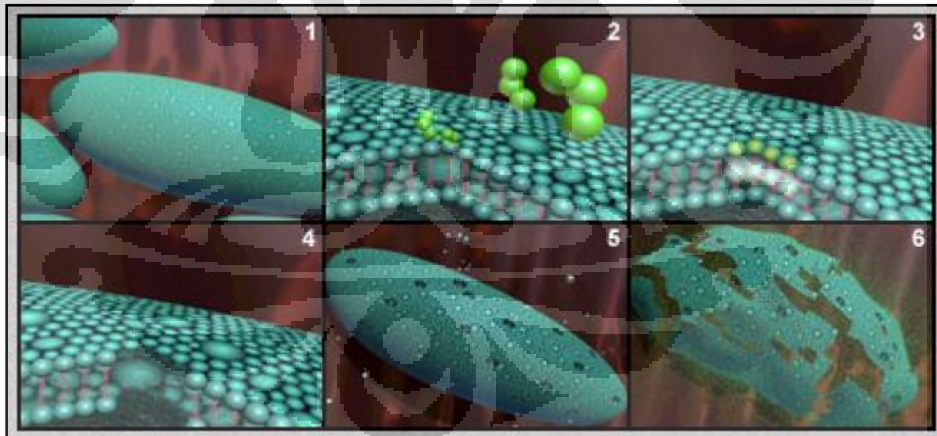
Ozon merupakan senyawa yang dapat larut dalam air. Sifat larutnya pada air 13 kali lebih kuat daripada di oksigen. Kontak antara ozon dengan air ditandai dengan terbentuknya gelembung dalam air. Peristiwa terlarutnya ozon dalam air didorong oleh adanya perbedaan konsentrasi antara ozon terlarut aktual dengan konsentrasi ozon jenuh pada temperatur percobaan (1999). Kelarutan ini menjadi kelemahan utama dalam sistem ozon mengingat laju perpindahan massa dari gas ke air yang rendah. Efisiensi perpindahan massa ozon dari fase gas ke fase cair bergantung pada karakteristik pencampuran kontraktor gas-cairan yang digunakan, kinetika dekomposisi ozon dalam air, dan jumlah serta ukuran gelembung yang dihasilkan. Keefektifan ozon sebagai disinfektan dan oksidan dapat ditingkatkan dengan menciptakan rasio luas permukaan terhadap volume yang lebih tinggi, yaitu dengan membangkitkan gelembung dengan ukuran yang lebih kecil (Shin et al., 2008).

Ozon tidak bisa disimpan ataupun ditransportasikan secara khusus karena waktu paruh keberadaan ozon yang sangat singkat, yaitu sekitar 4 – 6 menit, yang menyebabkan ozon dengan cepat akan terdekomposisi kembali menjadi molekul oksigen. Oleh karena itu, ozon harus diproduksi *in situ* yaitu dekat dengan instalasi pemanfaatannya (Bismo, 1999).

Sifat oksidasi pada ozon dihasilkan dari oksigen yang mulai terbentuk saat dekomposisi ozon (*nascent oxygen*). *Nascent oxygen* ini dapat mengoksidasi membran sel mikroorganisme, yang akhirnya menyebabkan

perengkahan membrane dan mempengaruhi kelangsungan hidup sel. Pada saat air dialiri ozon dengan kadar tertentu, meningkatnya waktu pengaliran akan meningkatkan jumlah mikroorganisme yang dibunuh. Selain itu, dosis ozon yang diinjeksi sebanding dengan jumlah *nascent oxygen* yang terbentuk dan jumlah mikroorganisme yang dibunuh (Jyoti and Pandit, 2004).

Proses disinfeksi pada air dapat menanggulangi virus dan bakteri. Ozon merupakan disinfektan yang paling efektif dibandingkan disinfektan lain yang umum digunakan, seperti HOCl, OCl⁻, dan NH₂Cl. Bakteri merupakan mikroorganisme yang terdiri dari satu sel yang dilapisi membran sel padat. Ozon dapat menghambat pengendalian enzim yang bekerja pada metabolisme sel bakteri sehingga dengan dosis yang cukup, ozon dapat merusak membran sel bakteri. Hal ini akhirnya menyebabkan hancurnya bakteri secara keseluruhan. Ozon dilaporkan dapat mendeaktivasi spora *Bacillus* dengan menghambat proses germinasinya (Young and Setlow, 2004). Mekanisme penghancuran dinding sel bakteri oleh ozon dapat dijelaskan oleh Gambar 2.2. berikut.



Gambar 2.2. Efek Ozon pada Bakteri (Samir R. Fanous)

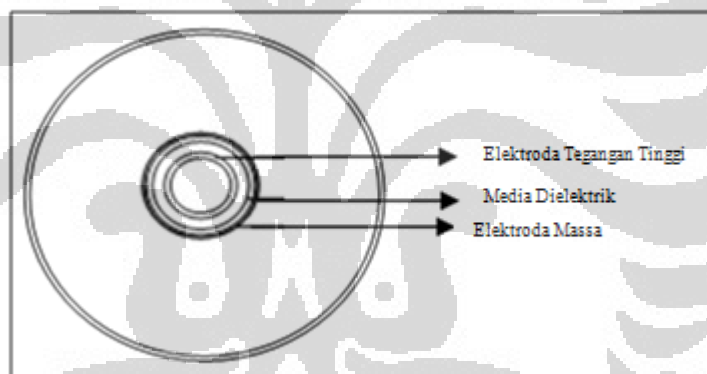
Keterangan Gambar 2.2.:

1. Komputer menangkap gambar sel bakteri
2. Molekul ozon mendekati dinding sel bakteri
3. Penetrasi dan pembentukan lubang pada dinding sel bakteri oleh ozon
4. Efek ozon pada dinding sel

5. Sel bakteri setelah berkontak dengan sedikit molekul ozon
6. Penghancuran sel oleh ozon (sel lisis)

2.3.4 Ozonator untuk Deaktivasi Spora *Bacillus sp.* pada Media Padat

Pada penelitian ini, ozon dicatu dari sebuah reaktor ozon (ozonator) yang dirancang bangun pada tahun 2010 lalu oleh Prof. Dr. Ir. Setijo Bismo, DEA. di Laboratorium Intensifikasi Proses DTK FTUI. Ozonator ini merupakan ozonator generasi kelima di lingkungan DTK FTUI dengan konfigurasi baru, yaitu bentuk tipe aliran *triple pass*. Elektrode massa, media dielektrik, dan elektrode tegangan tinggi disusun secara koaksial, yaitu berada pada satu sumbu. Ozonator ini disebut sebagai ozonator kecil karena memiliki satu CD-chamber di dalamnya. Skema melintang ozonator tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.3. berikut ini.



Gambar 2.3. Skema Melintang Ozonator dengan Satu CD-Chamber Koaksial

Rangkaian terdiri atas elektrode massa yang berbentuk jala atau jaring dengan ukuran 60 mesh yang terbuat dari bahan *stainless steel* 304 yang dililitkan mengelilingi permukaan gelas berbentuk tabung yang berfungsi sebagai media dielektrik. Elektrode tegangan tinggi yang berbentuk tabung (pipa) terbuat dari bahan *stainless steel* 304 dipasang di dalam tabung gelas. Terdapat *discharge gap* atau celah sempit di antara tabung gelas dan elektrode dalam yang merupakan tempat pelepasan korona dan terjadinya konversi oksigen menjadi ozon. Efisiensi ozonator dioptimalkan dengan mengatur agar *discharge gap* minimum sehingga konversi oksigen menjadi ozon

membutuhkan energi minimum. Lebar *discharge gap* diukur dari diameter dalam gelas dielektrik dikurangi diameter luar elektrode tegangan tinggi.

Selongsong ozonator (*casing*) terbuat dari bahan akrilik yang di dalamnya terdapat elektrode-elektrode yang terbuat dari bahan *stainless steel* 304. Material yang digunakan adalah material yang tahan terhadap ozon. Penggunaan *polyvinyl chloride* (PVC) tidak direkomendasikan untuk material yang akan kontak langsung dengan ozon. *Stainless steel* 304 atau 316 adalah material paling baik yang cocok digunakan pada alat yang akan kontak langsung dengan ozon (Summerfelt and Hochheimer, 1997). Ozonator tersebut dapat dilihat pada Gambar 2.4. berikut ini.



Gambar 2.4. Ozonator

2.4 Metode *Total Plate Count* untuk Perhitungan Spora *Bacillus sp.*

Perhitungan jumlah suatu bakteri dapat melalui berbagai macam uji, seperti uji kualitatif koliform yang secara lengkap terdiri dari tiga tahap, yaitu uji penduga (uji kuantitatif, bisa dengan metode MPN), uji penguat, dan uji pelengkap. Waktu, mutu sampel, biaya, dan tujuan analisis merupakan beberapa faktor penentu dalam uji kualitatif koliform. Bakteri koliform dapat dihitung dengan menggunakan metode cawan petri (metode perhitungan secara tidak langsung yang didasarkan pada anggapan bahwa setiap sel yang dapat hidup akan berkembang menjadi satu koloni yang merupakan suatu indeks bagi jumlah organisme yang dapat hidup yang terdapat pada sampel).

Metode APM adalah metode untuk menghitung jumlah mikroba dengan menggunakan medium cair dalam tabung reaksi yang pada umumnya setiap pengenceran menggunakan 3 atau 5 seri tabung dan perhitungan yang dilakukan merupakan tahap pendekatan secara statistik. Tabung positif ditunjukkan oleh adanya pertumbuhan bakteri dan gas. Nilai APM ini diperoleh dengan anggapan sebagai berikut:

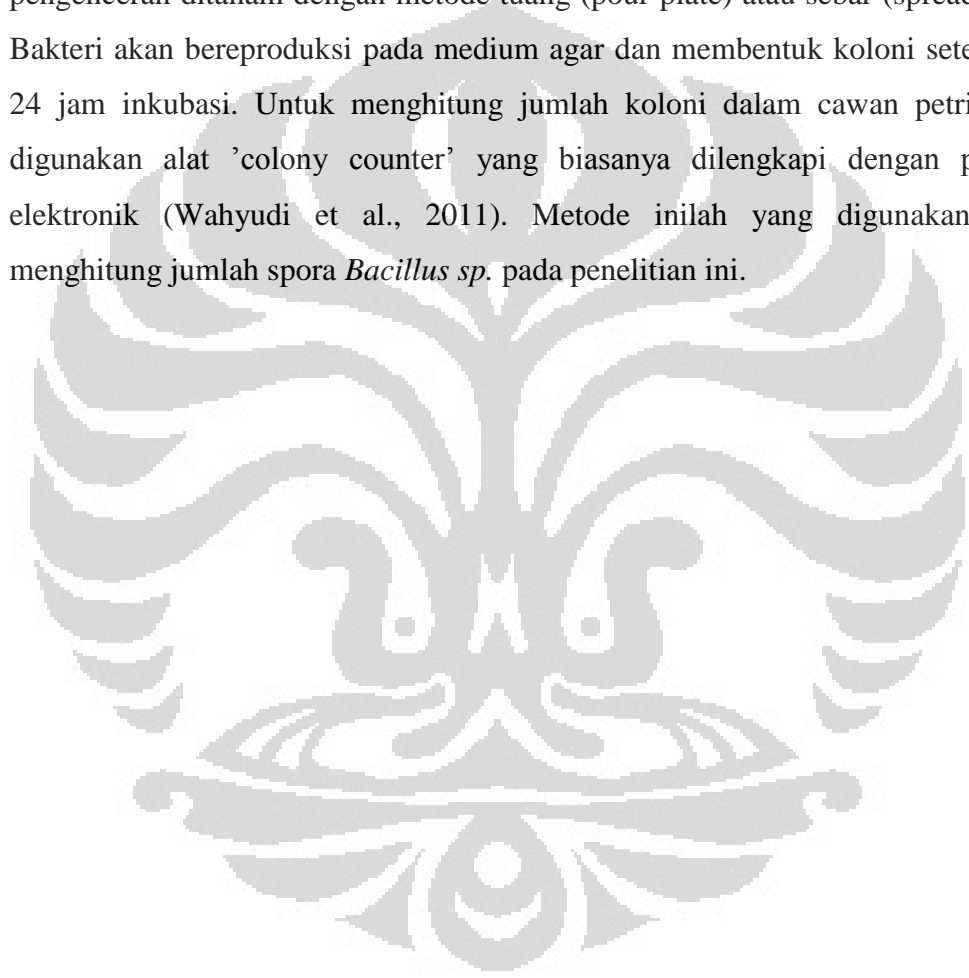
- b. Bakteri dalam contoh menyebar secara random
- c. Bakteri dalam contoh tidak berkelompok atau cluster, tetapi saling terpisah
- d. Organisme yang terdapat dalam contoh dapat tumbuh dalam medium selama inkubasi
- e. Kondisi yang sesuai untuk pertumbuhan, seperti media dan waktu inkubasi.

Di dalam penggunaan seri tabung pengenceran, tingkat pengenceran yang diperlukan didasarkan pada pendugaan populasi bakteri yang ada dalam contoh. Hasil yang baik adalah jika pada pengenceran yang lebih rendah contoh yang diduga lebih banyak menunjukkan hasil uji positif (adanya pertumbuhan bakteri) dan pada pengenceran lebih tinggi contoh yang diduga lebih sedikit menunjukkan hasil uji negatif (tidak ada pertumbuhan bakteri). Jika jumlah populasi bakteri yang ada dalam contoh diduga tinggi, contoh harus diencerkan sampai diperoleh tingkat pengenceran yang lebih tinggi hingga mencapai nilai APM maksimum yang dapat dihitung. Metode pengenceran yang paling mudah adalah dengan melakukan pengenceran 10 kali lipat dengan menggunakan 3 atau 5 seri tabung pengenceran.

Pengukuran kuantitatif populasi mikroorganisme sangat diperlukan untuk berbagai macam penelaahan mikrobiologis. Berbagai macam cara dapat dilakukan untuk menghitung jumlah mikroorganisme, akan tetapi secara mendasar ada dua cara, yaitu secara langsung dan secara tidak langsung. Ada beberapa cara perhitungan secara langsung, antara lain dengan membuat preparat dari austu bahan (preparat sederhana diwarnai atau tidak diwarnai) dan penggunaan ruang hitung (counting chamber). Sedangkan perhitungan cara tidak langsung hanya untuk mengetahui jumlah mikroorganisme pada suatu bahan yang masih hidup saja (viabel count). Dalam pelaksanaannya, ada beberapa cara untuk metode ini,

yaitu perhitungan pada cawan petri (total plate count / TPC), perhitungan melalui pengenceran, perhitungan jumlah terkecil atau terdekat (MPN metode), dan kalorimeter (cara kekeruhan atau turbidimetri).

Perhitungan berdasarkan jumlah lempeng total (plate count) adalah cara yang paling umum digunakan untuk menentukan jumlah mikroba yang masih hidup, berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh. Teknik ini diawali dengan pengenceran sampel secara seri dengan kelipatan 1 : 10. Masing-masing suspensi pengenceran ditanam dengan metode tuang (pour plate) atau sebar (spread plate). Bakteri akan bereproduksi pada medium agar dan membentuk koloni setelah 18-24 jam inkubasi. Untuk menghitung jumlah koloni dalam cawan petri, dapat digunakan alat 'colony counter' yang biasanya dilengkapi dengan pencatat elektronik (Wahyudi et al., 2011). Metode inilah yang digunakan untuk menghitung jumlah spora *Bacillus sp.* pada penelitian ini.

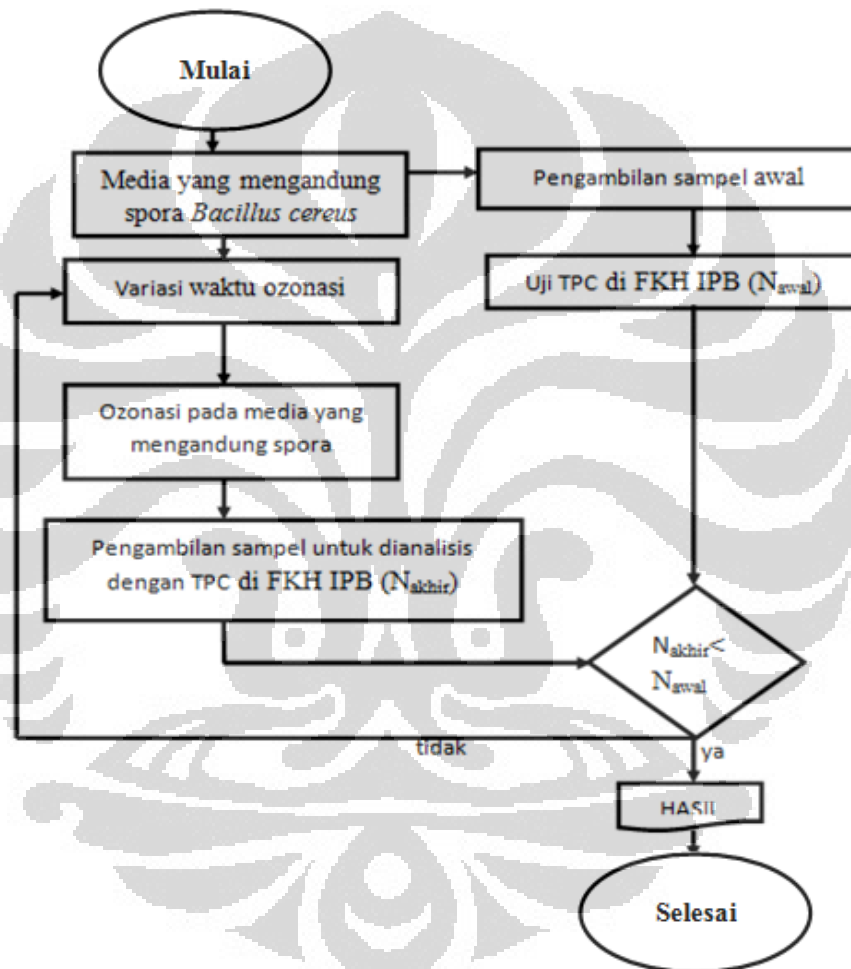


BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Diagram Alir Penelitian

Skematis penelitian ini secara garis besar dilakukan pada suatu sistem semi kontinyu, yang dapat dijelaskan dalam diagram alir berikut ini.



Gambar 3.1. Diagram Alir Penelitian

3.2 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di dua tempat, yaitu Laboratorium Intensifikasi Proses Departemen Teknik Kimia FTUI untuk melakukan proses ozonasi dan Laboratorium Terpadu FKH IPB untuk menghitung jumlah spora bakteri.

3.3 Variabel Penelitian

Variabel pada penelitian ini terdiri atas tiga jenis, yaitu variabel bebas, variabel kontrol, dan variabel terikat. Ketiga variabel tersebut adalah:

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas merupakan variabel yang divariasikan dalam penelitian. Variabel bebas pada penelitian ini adalah:

- Media ozonasi

Pada penelitian ini, digunakan tiga jenis media tempat hidup spora bakteri *Bacillus cereus*, yaitu tanah, zeolit, dan campuran keduanya

- Waktu ozonasi

Pada penelitian ini, waktu ozonasi divariasikan menjadi lima, yaitu 15, 30, 60, 90, dan 120 menit. Waktu ozonasi divariasikan dengan tujuan untuk mendapatkan waktu ozonasi yang paling optimal ditandai dengan jumlah reduksi bakteri yang paling besar setelah proses ozonasi.

3.3.2 Variabel Kontrol

Variabel kontrol merupakan variabel yang dijaga konstan selama penelitian agar penelitian berjalan sesuai yang diharapkan. Variabel kontrol pada penelitian ini adalah:

- Suhu sistem

Suhu pada penelitian ini dijaga konstan pada suhu ruang, yaitu sekitar 29 °C.

- Laju alir udara umpan ozonator

Udara yang masuk ke ozonator dicatu dari kompresor dengan laju alir yang dijaga konstan, yaitu sekitar 850 liter/jam.

3.3.3 Variabel Terikat

Variabel terikat merupakan hasil yang didapatkan setelah melakukan suatu penelitian. Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah spora bakteri *Bacillus cereus* pada masing-masing media yang dihitung menggunakan uji TPC di laboratorium FKH IPB dan akan menjadi parameter berhasil atau tidaknya proses ozonasi ini.

3.4 Bahan dan Peralatan Penelitian

Dalam penelitian ini, dibutuhkan bahan-bahan serta peralatan seperti yang akan dijabarkan pada subbab berikut ini.

3.4.1 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini dapat dilihat pada Tabel 3.1. berikut ini.

Tabel 3.1. Bahan yang Digunakan dalam Penelitian

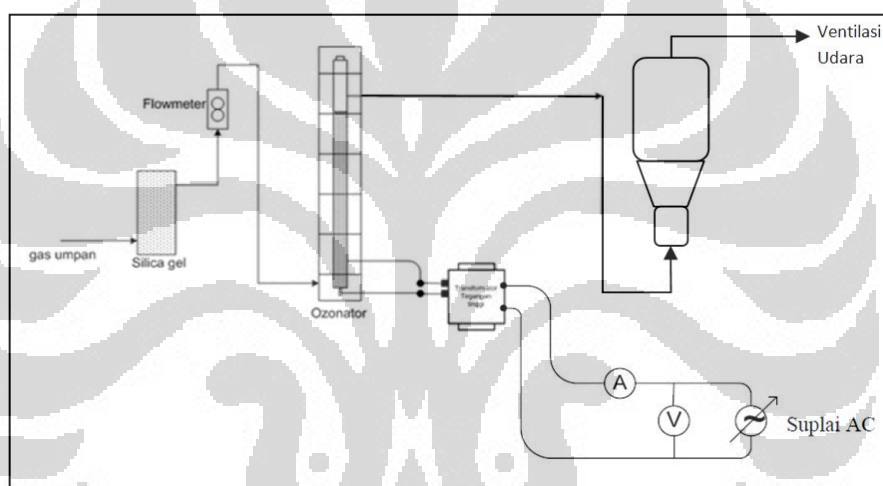
Nama Bahan	Keterangan
Tanah	media tempat spora <i>Bacillus cereus</i> hidup
Zeolit	
Bakteri <i>B. Cereus</i>	Bahan utama dalam penelitian ini
Larutan KI 0,1 N	bahan untuk menguji laju produktivitas ozonator
Na ₂ S ₂ O ₃ .5H ₂ O 0,005 N	
H ₂ SO ₄ 2 N	
Indikator kanji (amilum)	

3.4.2 Rangkaian Peralatan Penelitian

Pada bagian studi pustaka, telah dijelaskan mengenai ozonator yang digunakan pada penelitian ini. Ozonator tersebut selanjutnya dirangkai dengan suatu reaktor ozonasi, dimana ozon berkontak dengan media padat yang mengandung spora bakteri. Di sini ozon mengalir melalui celah-celah media padat layaknya peristiwa *channeling*. Rangkaian alat ini terbuat dari bahan PVC, yaitu floksok dengan ukuran ½ inci x 1 ½ inci yang ditengahnya dipasang suatu kasa berukuran 150 *mesh*. Floksok (*reducer*) ditutup dengan potongan botol air mineral yang dihubungkan dengan selang RO yang bertujuan akhir di ventilasi udara laboratorium. Foto dan skematis rangkaian peralatan tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.2. berikut ini.



(a)



(b)

Gambar 3. 2. Foto dan Skematis Rangkaian Peralatan Penelitian

Berbagai macam peralatan yang digunakan dalam penelitian ini beserta fungsinya dapat dilihat pada Tabel 3.2. berikut ini.

Tabel 3.2. Rincian Alat yang Digunakan dalam Penelitian

Peralatan	Fungsi
Labu ukur 1 Liter	wadah untuk menyimpan media spora
Plastik transparan ¼ kilo	wadah untuk menyimpan sampel
Inkubator	tempat inkubasi bakteri yang akan dihitung
Pengaduk otomatis	alat untuk meratakan suspensi bakteri di dalam tabung reaksi

Tabel 3.2. Rincian Alat yang Digunakan dalam Penelitian (lanjutan)

Peralatan	Fungsi
Cawan petri	peralatan untuk menghitung bakteri
Spatula besi	
Bunsen	
<i>Micropipet</i>	
Tabung reaksi	
Pipet	
Kaca arloji	alas untuk bahan yang akan ditimbang
Timbangan	alat untuk menimbang massa bahan yang diperlukan
<i>Beaker glass</i>	peralatan untuk mengukur laju produktivitas ozonator
Statip	
Erlenmeyer	
Buret 50 cc	
Sarung tangan, masker HEPA, dan jas lab	peralatan keamanan bekerja di lab
Stopwatch	alat untuk menghitung waktu tiap pekerjaan
Kompresor	sumber udara
Reaktor ozonasi	reaktor tempat sampel diozonasi
Ozonator di DTK FTUI	alat yang memproduksi ozon
Autoklaf	Pemanas bertekanan tinggi untuk sterilisasi

3.5 Prosedur Penelitian

Sebuah penelitian harus dijalankan secara sistematis agar pelaksanaannya dapat dipertanggungjawabkan. Berikut ini langkah-langkah yang dilakukan selama penelitian berlangsung.

3.5.1 Persiapan media ozonasi

Tahap persiapan ini bertujuan untuk mendapatkan media tanah dan zeolit yang steril sebagai tempat untuk menanam bakteri *Bacillus cereus*. Langkah-langkah yang dilakukan pada tahap persiapan ini adalah sebagai berikut:

- a. Tempatkan tanah, zeolit, dan campuran keduanya masing-masing pada labu ukur satu Liter kemudian panaskan dalam autoklaf dengan suhu sekitar 160⁰ C. Hal ini bertujuan untuk membunuh semua

mikroorganisme termasuk spora bakteri yang mungkin ada pada media tersebut.

- b. Campurkan biakan bakteri *Bacillus cereus* ke masing-masing media lalu aduk rata
- c. Tutup labu ukur rapat-rapat, kocok-kocok dengan keras, lalu diamkan selama satu pekan. Hal ini dilakukan dengan mengasumsikan bahwa bakteri *Bacillus cereus* yang ditanam pada media padat tersebut telah berubah bentuk menjadi spora karena kondisi kekurangan nutrien.

3.5.2 Preparasi Bahan-bahan yang Dibutuhkan untuk Pengujian Produktivitas Ozonator

Proses pembuatan bahan-bahan yang dibutuhkan adalah sebagai berikut:

- a. Buat larutan KI 0,1 N dengan cara melarutkan 20 g KI ke dalam 1000 mL aquades
- b. Larutkan 0,62 g $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ke dalam 1000 mL aquades sehingga didapat larutan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,005 N
- c. Encerkan larutan H_2SO_4 pekat (18 N) sebanyak 14 mL ke dalam aquades sampai didapat larutan H_2SO_4 2 N sebanyak 250 mL
- d. Larutkan 1 g padatan *starch* ke dalam aquades hingga 100 mL, panaskan hingga mendidih, lalu dinginkan sehingga didapat larutan amilum 1 %

3.5.3 Pengaturan laju alir udara dari kompresor

Langkah-langkah yang dilakukan adalah sebagai berikut:

- a. Pasang selang dari kompresor ke wadah silika gel yang telah dihubungkan ke flowmeter
- b. Hidupkan kompresor lalu atur tekanan kompresor hingga tercapai laju alir udara sekitar 850 liter/jam.

3.5.4 Uji produktivitas ozonator

Pengukuran konsentrasi ozon yang dihasilkan oleh ozonator menggunakan metode Iodometri. Metode ini berdasarkan reaktivitas ozon terhadap larutan KI, dengan langkah-langkahnya adalah sebagai berikut:

- a. Masukkan larutan KI yang telah dipersiapkan ke dalam dua Erlenmeyer 250 mL dengan masing-masing erlenmeyer berisi 200 mL larutan KI, kemudian tutup dengan penutup karet yang telah dilubangi
- b. Pasang selang dari ozonator ke Erlenmeyer hulu kemudian pasang selang dari lubang hulu ke lubang Erlenmeyer hilir. Pasang *bubbler* pada setiap Erlenmeyer
- c. Nyalakan ozonator dan stopwatch secara bersamaan. Perhatikan perubahan warna yang terjadi pada setiap Erlenmeyer
- d. Pada saat terjadi perubahan warna larutan KI (dari bening menjadi kuning coklat di bagian hulu dan kuning muda pada bagian hilir), matikan stopwatch dan ozonator, kemudian catat waktunya
- e. Tambahkan larutan H_2SO_4 sebanyak 4 ml dan indikator amilum secukupnya ke dalam 25 ml sampel KI pada bagian hulu hingga larutan berwarna biru tua (hal tersebut menandakan adanya I_2 dalam sampel) Kemudian, titrasi dengan menggunakan larutan $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ yang diisi ke dalam buret
- f. Hentikan Proses titrasi setelah larutan KI berubah warna dari biru tua menjadi bening. Catat volume larutan $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ yang terpakai
- g. Ulangi prosedur e – f untuk sampel KI bagian hilir
- h. Ulangi prosedur a – g sebanyak satu kali
- i. Hitung laju produktivitas ozon dengan rumus sebagai berikut:

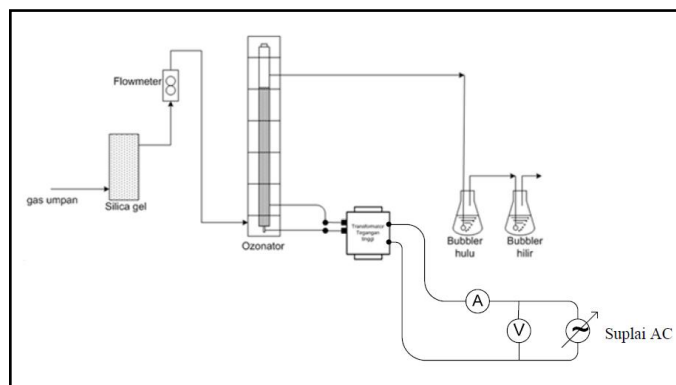
$$Prod. Ozon \left(\frac{g}{jam} \right) = BM O_3 \times \frac{1}{2} \times \frac{(Vol \text{ tiosulfat hulu} + Vol \text{ tiosulfat hilir}) \times 0.025}{1000} \times \frac{3600}{t} \quad (3.1)$$

Keterangan:

$BM O_3$ = berat molekul ozon, 48 g/mol

t = waktu yang dibutuhkan untuk mengubah warna larutan KI menjadi kuning muda, detik.

Skematis pengukuran laju produktivitas ozonator tersebut dapat dilihat pada Gambar 3.3. berikut ini.



Gambar 3.3. Skematis Rangkaian Alat untuk Menguji Produktivitas Ozonator

3.5.5 Proses ozonasi media yang mengandung spora bakteri *Bacillus cereus* dengan variasi waktu ozonasi

Langkah-langkah pada proses ozonasi ini adalah sebagai berikut:

- Letakkan tanah yang mengandung spora bakteri *Bacillus cereus* pada reaktor ozonasi
- Hidupkan kompresor dan ozonator
- Lakukan ozonasi pada tanah di dalam reaktor ozonasi
- Ambil sampel tanah setelah 15, 30, 60, 90, dan 120 menit masing-masing sebanyak kurang lebih 10 gram
- Lakukan langkah 2 – 5 untuk zeolit dan campuran tanah-zeolit yang mengandung spora bakteri *Bacillus cereus*

3.5.6 Uji Analisis Sampel

Sampel sebelum dan sesudah proses ozonasi diambil untuk dianalisis dengan metode TPC. Adapun langkah-langkah analisisnya adalah sebagai berikut:

- Lakukan sterilisasi pada alat yang akan digunakan untuk metode TPC.
- Siapkan kultur media bakteri pada cawan petri.
- Ambil sampel yang akan diuji TPC sebanyak 10 g, lalu larutkan ke dalam 90 mL aquadest. Sampel ini adalah pengenceran 10^1 . Karena sampel yang ingin dihitung hanya spora, panaskan terlebih dahulu sampel tersebut dengan suhu $80\text{ }^{\circ}\text{C}$ agar organisme selain spora tidak ikut tumbuh.

- d. Encerkan lagi sampel mulai dari pengenceran 10^4 , 10^5 , sampai 10^6 .
- e. Inokulasikan (pindahkan) sampel yang telah diencerkan dengan menggunakan teknik cawan gores ke dalam cawan petri yang telah berisi kultur media bakteri
- f. Simpan cawan petri tersebut pada inkubator dengan suhu 37°C selama 24 – 48 jam. Letakkan cawan pada posisi terbalik
- g. Hitung jumlah koloni yang ada pada cawan petri. Hitung jumlah bakteri per gram sampel dengan rumus sebagai berikut:

$$\sum \text{bakteri} \left(\frac{\text{CFU}}{\text{gram}} \right) = \frac{\text{CFU}}{\text{plate}} \times \text{faktor pengenceran} \quad (3.2)$$

3.5.7 Prosedur Perhitungan dan Analisis Data

Langkah-langkah yang digunakan untuk menganalisis hasil percobaan ini adalah sebagai berikut:

- a. Hitung kuantitas spora bakteri pada masing-masing media sebelum proses ozonasi dengan metode TPC teknik cawan gores di FKH IPB
- b. Hitung kuantitas spora bakteri pada tiap sampel setelah proses ozonasi dengan menggunakan metode yang sama pada nomor 1.
- c. Evaluasi ada tidaknya reduksi jumlah spora bakteri pada masing-masing media yang digunakan
- d. Tentukan persentase deaktivasi spora bakteri untuk masing-masing media yang digunakan dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{deaktivasi} = \frac{N_{\text{awal}} - N_{\text{akhir}}}{N_{\text{awal}}} \times 100\% \quad (3.3)$$

Keterangan:

% deaktivasi = persentase deaktivasi

N_{awal} = Jumlah spora bakteri awal

N_{akhir} = Jumlah spora bakteri akhir

Persentase deaktivasi spora bakteri setelah proses ozonasi disajikan dalam Tabel 3.3. berikut.

Tabel 3. 3. Persentase Deaktivasi Spora Bakteri setelah Proses Ozonasi

No.	Waktu ozonasi (menit)	Jumlah spora bakteri akhir	% deaktivasi
1	15		
2	30		
3	60		
4	90		
5	120		

- e. Tentukan persentase deaktivasi terbanyak pada proses ozonasi dengan variasi waktu ozonasi
- f. Dari langkah-langkah analisis di atas, buat simpulan berapa waktu ozonasi yang optimum untuk mendeaktivasi spora *Bacillus cereus* pada media tanah dan zeolit.

BAB 4

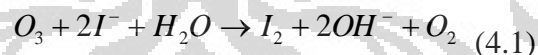
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab sebelumnya, telah dijelaskan mengapa dan bagaimana penelitian ini dilakukan. Oleh karena itu, pada bab ini akan dijabarkan tentang hasil yang diperoleh setelah penelitian ini dilakukan beserta analisis mengenai hasil tersebut. Hasil yang diperoleh mencakup perhitungan jumlah spora bakteri *B. cereus* pada masing-masing media, yaitu tanah, zeolit, dan campuran keduanya.

4.1. Analisis Produktivitas Ozonator

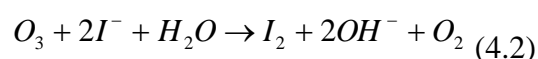
Pengujian produktivitas ozonator bertujuan untuk mengetahui jumlah ozon yang diproduksi oleh ozonator melalui metode iodometri. Data atau parameter utama yang diambil dalam uji produktivitas ozon adalah banyaknya volume penitrasi natrium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) pada *bubbler* ozon (bagian hulu dan hilir) yang diperlukan untuk menitrasi larutan KI yang berubah warna dari bening menjadi kuning kecokelatan (menunjukkan adanya O_3 yang mengoksidasi KI) untuk mengetahui banyaknya ozon yang diproduksi.

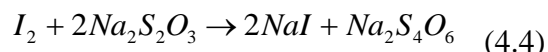
Terjadinya reaksi oksidasi antara ozon dan KI dalam *bubbler* menyebabkan larutan berubah warna menjadi kuning kecokelatan. Warna ini adalah warna dari I_2 yang terbentuk melalui reaksi oksidasi I^- , sebagai berikut:



Dari persamaan di atas dapat dilihat bahwa mol I_2 yang terbentuk sebanding dengan mol ozon yang diperlukan untuk mengoksidasi KI sehingga mol I_2 tersebut dapat dipergunakan untuk menghitung mol ozon yang diproduksi oleh ozonator.

Cara penentuan jumlah mol I_2 yang terbentuk adalah dengan menitrasi larutan dengan natrium tiosulfat setelah terlebih dahulu menambahkan asam sulfat (H_2SO_4) dan amilum. Fungsi dari asam sulfat untuk meminimalisasi I_2 yang terlepas ke udara, sedangkan fungsi amilum sebagai indikator (campuran I_2 dengan amilum akan menimbulkan warna biru-ungu). Persamaan reaksi titrasi secara lengkap, sebagai berikut:





Titration dilakukan sampai jumlah I_2 sebanding secara stoikiometris dengan natrium tiosulfat, yang ditunjukkan oleh warna larutan yang menjadi jernih. Dari persamaan reaksi di atas, jumlah mol ozon yang terbentuk oleh ozonator akan sama dengan setengah dari jumlah mol natrium tiosulfat yang terpakai, dan produktivitas ozonator dapat dihitung dengan membagi jumlah mol ozon tersebut dengan waktu kontak ozon dengan larutan KI sehingga dapat diketahui jumlah ozon yang diproduksi oleh ozonator.

Tabel 4. 1. Data Percobaan pada Analisis Produktivitas Ozonator

Percobaan ke-	t (menit)	VNa ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	
		Hulu (mL)	Hilir (mL)
I	10	9,6	2,4
II	10	13,6	4

Kemudian data tersebut diolah dengan perhitungan seperti pada lampiran. Hasil perhitungan yang didapatkan adalah sebagai berikut:

Tabel 4. 2. Hasil Perhitungan Uji Produktivitas Ozon

M	mol	mol O ₃	Massa O ₃	Produktivitas
Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O	Na ₂ S ₂ O ₃ ·5H ₂ O		(gram)	Ozonator (g/jam)
0,0025	0,000030	0,000015	0,00072	0,00432
0,0025	0,000044	0,000022	0,00106	0,00634
Produktivitas Ozon Rata-rata (gram/jam)				0,00533

4.2. Proses Ozonasi pada Media Tanah

Sesuai dengan prosedur yang telah dijelaskan pada bab sebelumnya, dilakukan proses ozonasi pada masing-masing media. Pertama-tama, tanah yang telah dicampurkan biakan bakteri *B. cereus* didiamkan selama satu pekan dengan asumsi bahwa bakteri tersebut akan berubah menjadi spora karena kondisi

kekurangan nutrien. Kondisi tanah sangat kering dengan gumpalan-gumpalan keras yang tidak seragam bentuknya. Kemungkinan adanya mikroflora kompetitif ataupun mikroorganisme lain pada tanah sangat kecil karena tanah telah disterilisasi dengan autoklaf sebelum dicampur dengan biakan bakteri.

Sebanyak kurang lebih 150 gram tanah yang mengandung spora tersebut dimasukkan ke dalam reaktor ozonasi, seperti pada Gambar 3.2. Selanjutnya, ozonator dan kompresor dinyalakan secara bersamaan. Besar tegangan listrik diatur seperti pada prosedur, yaitu sebesar 150 volt pada primer transformator tegangan tinggi (plasmatron), setara dengan tegangan 10 KV pada sekunder plasmatron. Laju alir udara diatur agar konstan selama percobaan dilakukan, yaitu sebesar 850 L/jam.

Selama proses ozonasi dilakukan, besar tegangan dan kuat arus listrik yang terbaca cukup stabil. Sementara itu, laju alir udara seringkali mengalami fluktuasi. Pada kompresor, tekanan udara yang terbaca cenderung tidak stabil sehingga seringkali dilakukan penyesuaian bukaan valve agar laju alir udara kembali normal. Hal ini mungkin disebabkan oleh terhambatnya aliran fluida ozon oleh tanah, dimana keberadaan tanah menyebabkan terjadinya jatuh tekanan (*pressure drop*) pada aliran ozon.

Sampel tanah sebanyak kurang lebih 10 gram diambil setelah proses ozonasi berlangsung selama 15, 30, 60, 90, dan 120 menit. Hal ini bertujuan untuk melihat korelasi antara waktu ozonasi dengan deaktivasi spora bakteri *Bacillus sp.* Tiap sampel disimpan dalam plastik tertutup lalu dibawa ke Laboratorium Terpadu FKH IPB untuk dianalisis. Selanjutnya, jumlah spora bakteri pada tiap sampel dihitung dengan menggunakan metode *total plate count* (TPC).

4.3. Proses Ozonasi pada Media Zeolit

Selain pada media tanah, proses ozonasi juga dilakukan pada media zeolit. Zeolit yang digunakan adalah zeolit P2 yang diperoleh dari Laboratorium Intensifikasi Proses DTK FTUI. Berbeda dengan tanah, partikel zeolit memiliki diameter yang hampir seragam. Selain itu, partikel zeolit memiliki kemampuan untuk mengabsorpsi senyawa lain karena adanya pori-pori pada partikel tersebut. Ketika ozon melewati padatan zeolit yang berpori, sebagian molekul ozon akan

terperangkap ke dalam partikel zeolit sehingga stabilitas molekul ozon cenderung meningkat.

Seperti pada media tanah, biakan bakteri *Bacillus cereus* dicampurkan secara merata ke dalam zeolit lalu didiamkan selama satu pekan dengan asumsi bahwa biakan bakteri tersebut akan berubah menjadi spora. Setelah itu, sekitar 150 gram zeolit yang mengandung spora tersebut diozonasi dengan menggunakan rangkaian yang sama dengan proses ozonasi sebelumnya. Sampel zeolit sebanyak kurang lebih 10 gram diambil setelah proses ozonasi berlangsung selama 15, 30, 60, 90, dan 120 menit. Selanjutnya, tiap sampel dianalisis dengan metode *total plate count* (TPC) di IPB.

Pada proses ozonasi kali ini, besar tegangan dan kuat arus listrik cenderung stabil, sedangkan laju alir udara yang masuk ke ozonator cenderung mengalami fluktuasi. Tekanan udara yang terbaca pada kompresor kurang stabil sehingga seringkali dilakukan penyesuaian bukaan valve pada kompresor. Hal ini tak lepas dari pengaruh adanya fasa padat yang dilewati oleh ozon. Ketika melewati padatan zeolit, terjadi *pressure drop* pada aliran fluida ozon. Akibatnya, secara otomatis kompresor melakukan penyesuaian tekanan sehingga laju alir udara yang dihasilkan kompresor menjadi naik-turun.

4.4. Proses Ozonasi pada Media Campuran Tanah-Zeolit

Media terakhir yang diozonasi adalah campuran dari tanah dan zeolit. Kondisi tanah dan zeolit yang digunakan masing-masing telah dipaparkan pada subbab sebelumnya. Campuran tanah-zeolit digunakan sebagai media ozonasi untuk melihat apakah media ozonasi memiliki pengaruh terhadap efektivitas ozonasi yang dilakukan. Selain itu, tanah yang digunakan sebagai media pakan ternak umumnya telah dicampurkan dengan pupuk yang mengandung zeolit sehingga media ini dapat menjadi representasi dari media infeksi spora *Bacillus sp.* pada pakan ternak.

Seperti pada kedua media lainnya, biakan bakteri *Bacillus cereus* dicampurkan ke dalam media campuran tanah-zeolit ini lalu didiamkan selama satu pekan agar biakan bakteri berubah menjadi spora. Agar pencampuran lebih merata, media tersebut dikocok dengan keras secara rutin. Selanjutnya, sebanyak

150 gram campuran tanah-zeolit yang mengandung spora tersebut diozonasi dengan reaktor ozonasi. Selama proses ozonasi berlangsung, kejadian yang teramati hampir sama dengan proses ozonasi pada kedua media lainnya.

Tegangan dan kuat arus listrik cenderung stabil selama percobaan berlangsung, tetapi laju alir udara mengalami fluktuasi. Hal ini menunjukkan adanya *pressure drop* ketika aliran ozon melalui tumpukan padatan tanah-zeolit. Campuran tanah-zeolit sebanyak kurang lebih 10 gram diambil sebagai sampel setelah proses ozonasi berlangsung selama 15, 30, 60, 90, dan 120 menit. Semua sampel selanjutnya dibawa ke IPB untuk dianalisis dengan metode *total plate count* (TPC).

Berikut ini tabel yang menyajikan rekapitulasi dari kondisi operasi proses ozonasi yang dilakukan pada media tanah, zeolit, dan campuran tanah-zeolit.

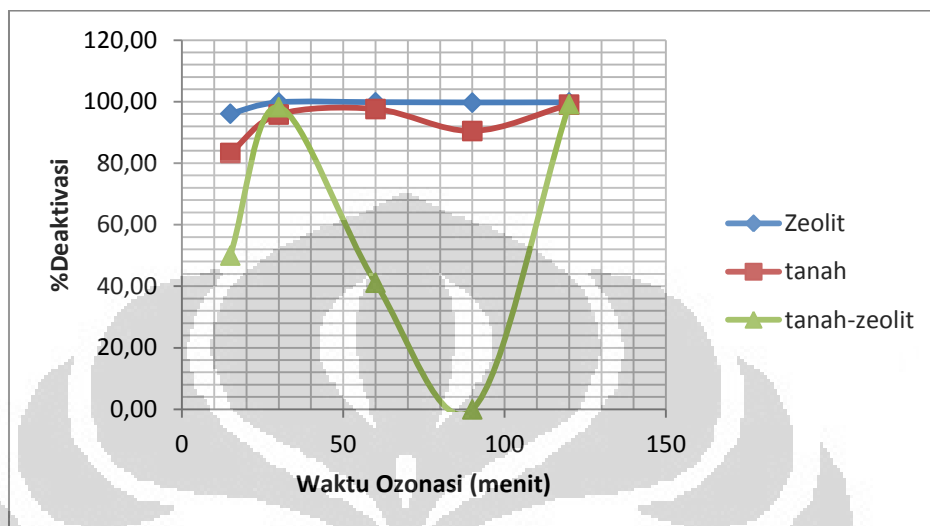
Tabel 4. 3. Kondisi Operasi Proses Ozonasi Media Padat

Laju alir udara (L/jam)	850
Tegangan @primer plasmatron (Volt)	150
Tekanan Operasi (atm)	1
Suhu Operasi (°C)	29
Stabilitas tegangan listrik	Stabil
Stabilitas laju alir udara	Tidak stabil

4.5. Pengaruh Ozonasi terhadap Deaktivasi Spora *Bacillus sp.* pada Media Padat

Pada penelitian ini, proses ozonasi dilakukan pada sistem semi-kontinyu, dimana ozon dialirkan ke dalam reaktor ozonasi kemudian melewati padatan yang diam. Molekul ozon yang berbentuk gas mengalir melalui celah-celah padatan seperti pada peristiwa *channeling*. Reaksi utama yang diinginkan adalah reaksi oksidasi spora bakteri *Bacillus cereus* oleh ozon. Dari literatur yang didapatkan, diketahui bahwa sifat oksidatif ozon mampu mendeaktivasi spora *Bacillus sp.* dengan menghambat proses germinasinya (Young and Setlow, 2004). Efektivitas reaksi dihitung berdasarkan jumlah spora bakteri yang terdeaktivasi setelah proses ozonasi dilakukan selama rentang waktu tertentu.

Dari hasil perhitungan yang dilakukan, didapatkan besar persentase deaktivasi spora bakteri pada media tanah, zeolit, dan campuran tanah-zeolit, seperti pada Gambar 4.1. berikut ini.



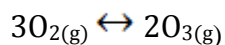
Gambar 4. 1. Persentase Deaktivasi Spora Bakteri pada Media Tanah, Zeolit, dan Campuran Tanah-Zeolit

Pada kurva di atas, dapat dilihat bahwa setelah dilakukan proses ozonasi selama 120 menit, persentase deaktivasi spora bakteri pada media tanah mencapai 99,05%, pada media zeolit mencapai 99,76%, dan pada campuran tanah-zeolit mencapai 99,18%. Secara umum, ozonasi memiliki pengaruh terhadap deaktivasi spora bakteri pada media padat. Hal ini menunjukkan adanya proses fluidisasi ketika ozon mengalir melalui padatan. Dampaknya, molekul-molekul ozon bereaksi dengan spora bakteri yang menempel pada media padat kemudian menghambat proses germinasinya. Selanjutnya, spora yang telah terdeaktivasi tidak dapat lagi memperbanyak dirinya meskipun telah berada pada media pertumbuhan yang tepat. Di sisi lain, spora yang masih tersisa akan memperbanyak dirinya dalam bentuk sel vegetatif ketika diletakkan pada media pertumbuhan yang tepat.

Namun, proses ozonasi ini masih belum menunjukkan efektivitas sebesar 100%. Hal ini disebabkan oleh fasa media ozonasi yang berupa padatan. Berbeda dengan media cair, padatan seperti tanah ataupun zeolit memiliki ukuran partikel yang tidak seragam. Akibatnya, molekul ozon tidak dapat menyebar secara merata

di media padat tersebut. Selain itu, aliran fluida yang melalui fasa padat akan mengalami *pressure drop*. Hal ini dibuktikan oleh adanya fluktuasi tekanan pada kompresor.

Perubahan tekanan juga memiliki pengaruh terhadap stabilitas ozon. Reaksi pembentukan ozon dari oksigen merupakan suatu reaksi kesetimbangan yang dapat ditulis sebagai:



Adanya *pressure drop* menyebabkan penurunan tekanan yang berakibat pada bergesernya kesetimbangan reaksi. Sesuai dengan hukum pergeseran kesetimbangan kimia, penurunan tekanan akan menyebabkan reaksi bergeser ke arah spesi yang memiliki koefisien lebih besar. Artinya, *pressure drop* yang terjadi ketika fluida ozon mengalir melalui padatan akan mengakibatkan sebagian molekul ozon kembali berubah menjadi oksigen. Hal ini akan mengurangi efektivitas dari proses ozonasi yang sedang dilakukan.

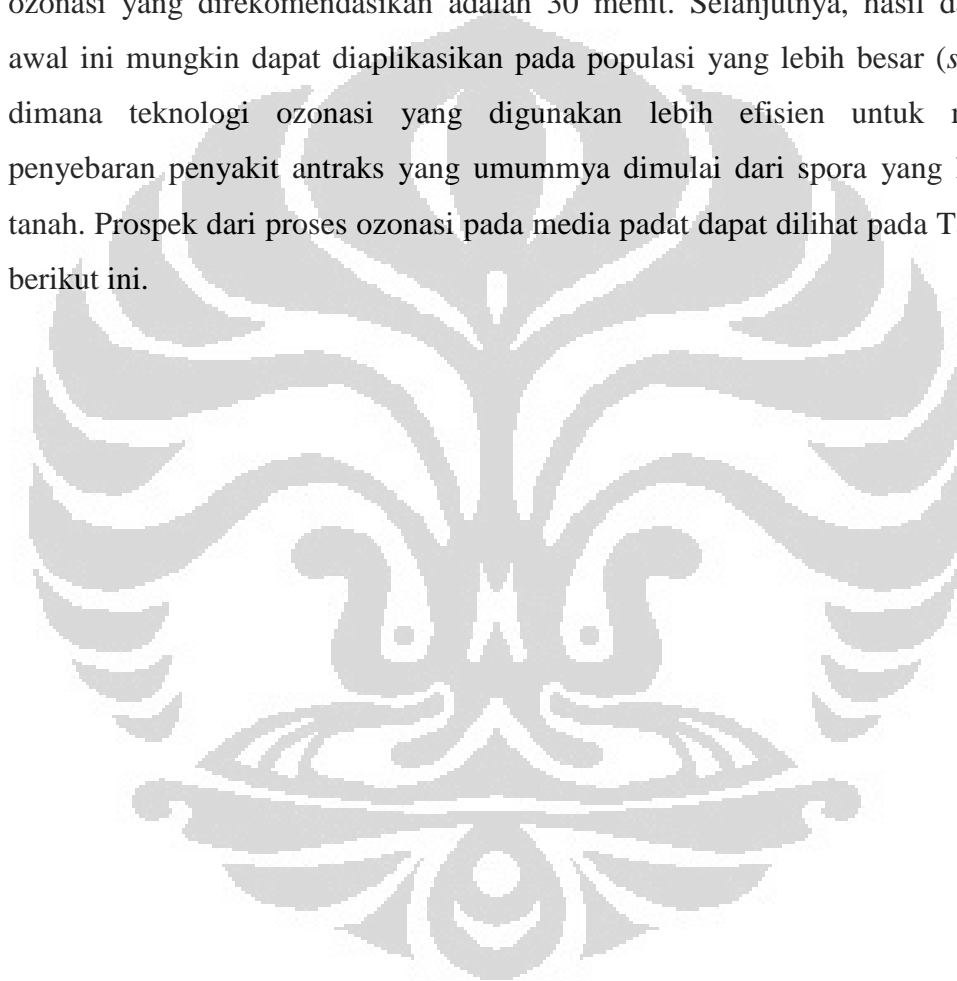
Persentase deaktivasi spora bakteri pada media zeolit lebih besar dibandingkan pada media tanah. Hal ini disebabkan oleh perbedaan ukuran partikel kedua padatan tersebut. Partikel zeolit memiliki ukuran yang lebih besar dan seragam dibandingkan dengan ukuran partikel tanah. Sesuai dengan persamaan Ergun, ukuran partikel padatan yang dilalui oleh suatu fluida akan berbanding terbalik dengan besar *pressure drop* yang terjadi pada fluida tersebut.

Artinya, semakin besar ukuran partikel padatan, semakin kecil *pressure drop* yang terjadi. Jika dihubungkan dengan hukum pergeseran kesetimbangan, ozon akan lebih stabil ketika melewati padatan yang memiliki ukuran partikel lebih besar. Selain memiliki perbedaan ukuran partikel, tanah dan zeolit juga memiliki karakteristik yang berbeda. Partikel zeolit memiliki pori yang memungkinkan terjadinya proses absorpsi sehingga stabilitas ozon dapat meningkat.

Di sisi lain, pada kurva di atas dapat dilihat perbedaan stabilitas deaktivasi spora bakteri pada masing-masing media untuk rentang waktu ozonasi yang sama. Pengaruh ozonasi terlihat paling stabil pada media zeolit dan tercapai maksimum setelah dilakukan proses ozonasi selama 120 menit. Sementara itu, pada media lain terjadi fluktuasi jumlah spora bakteri yang mungkin disebabkan oleh

kesalahan manusia (*human error*) pada saat perhitungan ataupun proses pencampuran bakteri. Pada penelitian ini, spora bakteri didapatkan dengan mencampur biakan bakteri ke dalam media padat (tanah dan/atau zeolit). Proses pencampuran dilakukan secara manual sehingga masih terdapat kemungkinan terjadinya penyebaran spora yang tidak merata pada media padat tersebut.

Oleh karena itu, dapat disimpulkan bahwa proses ozonasi pada media tanah dan/atau zeolit ini memiliki pengaruh pada deaktivasi spora bakteri. Waktu ozonasi yang direkomendasikan adalah 30 menit. Selanjutnya, hasil dari studi awal ini mungkin dapat diaplikasikan pada populasi yang lebih besar (*scale up*) dimana teknologi ozonasi yang digunakan lebih efisien untuk menekan penyebaran penyakit antraks yang umumnya dimulai dari spora yang hidup di tanah. Prospek dari proses ozonasi pada media padat dapat dilihat pada Tabel 4.2. berikut ini.



Tabel 4. 4. Prospek dari Proses Ozonasi pada Media Padat

Media	Keterangan
Tanah	Proses ozonasi pada media tanah cukup sulit untuk dilakukan. Hal ini disebabkan oleh ukuran partikel tanah yang sangat halus dan cenderung mudah memadat terutama jika terpengaruh kondisi lingkungan yang lembab. <i>Pressure drop</i> yang terjadi ketika ozon melewati tanah cukup tinggi sehingga stabilitas ozon menjadi lebih rendah
Zeolit	Proses ozonasi pada media zeolit lebih mudah untuk dilakukan. Partikel zeolit memiliki ukuran lebih besar dan seragam dibandingkan partikel tanah. <i>Pressure drop</i> yang terjadi tidak sebesar ketika ozon melewati tanah. Selain itu, partikel zeolit memiliki pori yang mungkin saja mengabsorpsi spora bakteri ataupun ozon sehingga stabilitas ozon menjadi lebih tinggi.
Tanah-Zeolit	Campuran tanah-zeolit telah banyak digunakan sebagai media pertumbuhan pakan ternak. Oleh karena itu, proses ozonasi pada media campuran ini dapat dikembangkan lebih lanjut agar dapat dimanfaatkan langsung oleh masyarakat luas.

BAB 5

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

Setelah melakukan analisis terhadap hasil yang didapat dari penelitian ini, dapat disimpulkan beberapa hal, yaitu:

1. Proses ozonasi memiliki pengaruh yang cukup signifikan terhadap deaktivasi spora *Bacillus sp.* pada media padat.
2. Persentase deaktivasi spora *Bacillus sp.* pada media tanah, zeolit, dan campuran keduanya secara berturut-turut mencapai 99,1; 99,8; 99,2 % setelah dilakukan proses ozonasi selama 120 menit.
3. Dalam rentang waktu antara 30 – 120 menit, waktu yang optimum untuk deaktivasi spora *Bacillus sp.* ini adalah 120 menit.
4. Persentase deaktivasi spora *Bacillus sp.* pada media zeolit lebih besar dibandingkan pada media tanah karena ukuran partikel tanah yang lebih kecil menyebabkan stabilitas ozon pada tanah menjadi lebih rendah.
5. Campuran tanah-zeolit telah banyak digunakan sebagai media pakan ternak sehingga proses ozonasi pada media campuran ini perlu dikembangkan lebih lanjut.

5.2. Saran

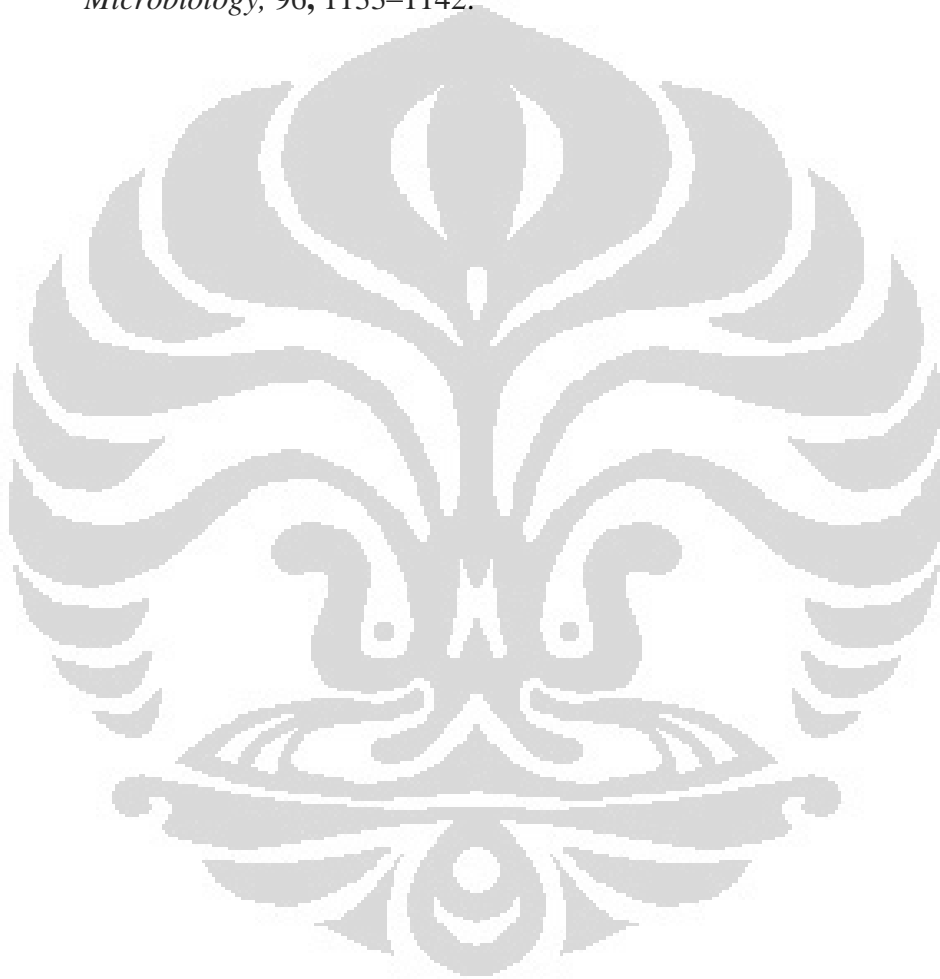
Penelitian ini masih memiliki banyak kekurangan, baik dalam hal sarana prasarana, maupun metode yang diterapkan. Penelitian tentang proses ozonasi pada media padat ini perlu dikembangkan lebih lanjut dengan beberapa perbaikan, seperti homogenisasi ukuran partikel padatan, teknik pencampuran bakteri, dan kualitas spora bakteri yang digunakan. Lebih lanjut lagi, penelitian ini diharapkan mampu dikembangkan sedemikian sehingga dapat diterapkan langsung pada masyarakat luas dengan meningkatkan kualitas ozonator serta rangkaian reaktor ozonasi yang digunakan.

DAFTAR PUSTAKA

1999. Alternative Disinfectants and Oxidants. *EPA Guidance Manual*.
- Ali, F. 2006. Ozon Suatu Dilema. *Warta Limnologi*. XX ed.
- Ball, B. R. 1997. Whole Effluent Toxicity Reduction by Ozone *Environmental Progress*, 16, 121-124.
- Basri, C. & Kiptiyah, N. M. 2010. Memegang Hewan Rentan dan Menangani Produknya Berisiko Besar Tertular Antraks Kulit di Daerah Endemis. *Veteriner*, 11, 226-231.
- Berlanga, B. 1998. Process, Formula and Installation for The Treatment and Sterilization of Biological, Solid, Liquid, Ferrous Metallic, Non-Ferrous Metallic, Toxic and Dangerous Hospitalwaste Material. *United States Patent*, 5, 541.
- Bismo, S. 1999. Teknologi Ozon (I) : Kajian Prospek Penggunaan Ozon untuk Pengendalian Limbah Industri *Jurnal Teknologi*, No.2, XIII, 197-206.
- Blahe, T. 1989. Applied Veterinary Epidemiology. *Elsevier*, 77-82.
- Bohm, R. Year. Resistance, Survival, Sterilization and Desinfection of Spores of *Bacillus anthracis*. In: Proc. of The International Workshop on Anthrax, 11-13 April 1989. 71-72.
- Bradley, D. 2006. *Anthrax Detector* [Online]. Available: <http://www.reactivereports.com> [Accessed 2012].
- Choquette, L. P. & Broughton, E. 1981. *Infectious Diseases of Wild Mammals*, USA, The Iowa State University Press.
- Gsianturi. 2004. *Penyebaran Penyakit Antraks* [Online]. Available: <http://www.gizi.net> [Accessed 2011].
- Gunten, U. V. 2003. Review Ozonation of Drinking Water: Part I. Oxidation Kinetics and Product Formation. *Water Research*, 37, 1443-1467.
- Helgason, E., Okstad, O. A., Caugant, D. A., Johansen, H. A., Fouet, A., Mock, M., Hegna, I. & Kolsto, A. B. 2000. *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus*, and *Bacillus thuringiensis*-One Species On The Basis of Genetic Evidence. *Appl Environ Microbiol*, 66, 2627-2630.

- Jyoti & Pandit 2004. Sonochemical, Decomposition of Volatile and Nonvolatile Organic Compounds. *Water Research*.
- Metcalf & Eddy, I. 2003. Wastewater Engineering Treatment and Reuse. 4 ed. New York: McGraw Hill.
- Nugroho, E. 2011. *Anthrax* [Online]. Available: <http://www.civas.net/content/anthrax> [Accessed 2012].
- Peratitus (ed.) 2003. *Ozone Reaction Kinetics for Water and Wastewater System*, London: A CRC-Press.
- Pikatan, S. 2008. Ozon di Atmosfer, Erosi pada Lapisan Ozon Mengancam Kehidupan di Permukaan Bumi. *Buletin Ilmiah Universitas Surabaya*. 1 ed. Surabaya.
- Rice, R. G. & Browning, M. E. 1981. Ozone Treatment of Industrial Waste Water. *Notes Data Corrosion, Park Ridyl*.
- Samir R. Fanous, P. A. *Effect of Ozone on Bacteria* [Online]. Available: <http://www.canadianglobalservices.com> [Accessed].
- Santamaria, J. & Toranzos, G. A. 2003. Enteric pathogens and soil: a short review. *Int Microbiol*, 6, 5-9.
- Shin, Hens, Michael & Frey 2008. Ozone Based Technology in Water and Wastewater Treatment. *Water Research*.
- Soejoedono, R. 2004. *Zoonosis*. IPB.
- Summerfelt, S. T. & Hochheimer, J. N. 1997. Review of Ozone Processes and Applications As an Oxidizing Agent in Aquaculture. *The Progressive Fish-Culturist*, 59, 94-105.
- Suprodjo, d. 2009. *Anthrax* [Online]. Available: <http://www.infopenyakit.org> [Accessed].
- Suryadjaja, d. F. 2011. *Penyebaran Antraks Meluas* [Online]. Available: <http://www.suaramerdeka.com> [Accessed].
- USEPA 2006. *Ultraviolet Disinfection Guidance Manual for The Final Long Term 2 Enhanced Surface Water Treatment Rule*, Washington, DC, IN AGENCY, U. S. E. P.

- Wahyudi, A., Ridho, Adea & Ari Nuswantoro, S. S. 2011. *Tes TPC* [Online]. Available: <http://analiskesehatan-pontianak.blogspot.com/2011/02/tes-tpc.html> [Accessed 2012].
- Wahyuni, S. 2006. Menanggulangi Antraks melalui Pendekatan Sosial Ekonomi. *Warta Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 28.
- Young, S. B. & Setlow, P. 2004. Mechanisms of *Bacillus subtilis* Spore Resistance To and Killing By Aqueous Ozone. *Journal of Applied Microbiology*, 96, 1133–1142.



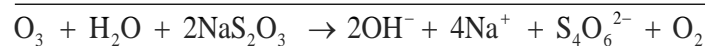
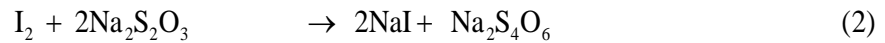
LAMPIRAN

Pengukuran Kadar Ozon dengan Metode Iodometri

Reaksi ozon dengan KI :



Pembebasan iodium menggunakan metode titrasi dengan $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$:



Sehingga dari reaksi di atas diperoleh hubungan, yaitu $1 \text{ mol O}_3 \approx 2 \text{ mol Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

Prosedur perhitungan :

$$[\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}] = 0,0025 \text{ M}$$

- $\text{mmol Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = (\text{Vol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ hulu} + \text{Vol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ hilir}) \times 0,0025 \text{ M}$
- $\text{mol Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = \frac{(\text{Vol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ hulu} + \text{Vol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ hilir}) \times 0,0025}{1000}$
- $\text{mol O}_3 = \frac{1}{2} \times \text{mol Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- $\text{gram O}_3 = \text{mol} \times 48$
- $\text{produktivitas ozon} = \frac{\text{gr O}_3}{t} \times 3.600$ di mana:
- $t =$ lamanya waktu yang diperlukan oleh larutan KI untuk berubah warna dari bening menjadi kuning kecokelatan (detik)

Perhitungan Produktivitas Ozon

$$Q \text{ umpan} = 850 \text{ L/jam}$$

$$t = 600 \text{ detik}$$

- $\text{mol Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = \frac{(\text{Vol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ hulu} + \text{Vol. Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \text{ hilir}) \times 0,0025}{1000}$
 $= \frac{12 \text{ mL}}{1000} \times 0,0025 \text{ M} = 3 \times 10^{-5} \text{ mol}$
- $\text{mol O}_3 = \frac{1}{2} \times \text{mol Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = \frac{1}{2} \times 3 \times 10^{-5}$
 $= 1,5 \times 10^{-5} \text{ mol}$
- $\text{gram O}_3 = \text{mol} \times 48 = 1,5 \times 10^{-5} \times 48 = 7,2 \times 10^{-4} \text{ gram}$
- $\text{produktivitas ozon} = \frac{\text{gr O}_3}{t} \times 3.600$
 $= \frac{7,2 \times 10^{-4}}{600} \times 3600 = 4,32 \times 10^{-3} \text{ g/jam}$

Tabel L. 1. Hasil pengamatan 1 uji TPC spora *Bacillus sp.*

Kode Sampel	Pengenceran (X)				
	10 ²	10 ³	10 ⁴	10 ⁵	10 ⁶
T0	~	~	~	84	10
T1	~	~	~	14	7
T2	~	~	35	8	9
T3	~	12	20	0	0
T4	~	~	~	8	4
T5	~	~	8	0	~
Z0	~	~	~	~	8
Z1	~	~	~	16	8
Z2	~	~	~	~	8
Z3	~	~	47	17	2
Z4	~	~	2	0	0
Z5	~	~	5	2	0
TZ0	~	~	~	17	5
TZ1	~	~	85	0	0
TZ2	~	3	7	1	0
TZ3	~	~	~	10	4
TZ4	~	~	~	0	0
TZ5	~	14	1	0	0

Tabel L. 2. Hasil pengamatan 2 uji TPC spora *Bacillus sp.*

Kode Sampel	Pengenceran (X)					
	10 ⁴		10 ⁵		10 ⁶	
	1	2	1	2	1	2
Z0	50	~	75	4	19	6
Z1	24	29	8	16	2	2
Z2	20	15	3	8	5	14
Z3	23	35	4	2	1	1
Z4	24	~	8	5	5	3
Z5	~	~	110	~	103	~
TZ0	14	7	25	10	14	4
TZ1	17	~	10	95	4	2
TZ2	~	~	~	~	4	0
TZ3	21	20	9	5	1	3
TZ4	29	19	11	8	10	1
TZ5	49	39	12	9	8	0
T0	26	13	30	13	5	4
T1	20	20	7	16	7	9
T2	8	7	3	3	2	1
T3	9	0	2	2	5	1
T4	6	3	1	0	0	0
T5	10	4	3	1	0	0

Keterangan:

Z = Zeolit

T = Tanah

TZ = Campuran tanah-zeolit

0 = tidak diberi perlakuan

1 = ozonasi selama 15 menit

2 = ozonasi selama 30 menit

3 = ozonasi selama 60 menit

4 = ozonasi selama 90 menit

5 = ozonasi selama 120 menit