

Efektivitas Ozon untuk Dekontaminasi Simplisia Temu Mangga Terhadap Cemarannya Mikroba di Pasar Beringharjo

Effectiveness of Ozon as Decontaminating Microbial Contamination of C.mangga at Beringharjo Market

Arini Nur Yunia Puspitaningrum Rahmawati¹, Indah Purwantini^{2,3*}, Yosi Bayu Murti^{2,3}

¹ Magister Ilmu Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

² Departemen Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

³ Pusat Riset Tumbuhan Obat dan Bahan Alam, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada

Corresponding author: Indah Purwantini | Email: indahpurwantini@ugm.ac.id

Submitted: 31-12-2023

Revised: 21-01-2024

Accepted: 21-01-2024

ABSTRAK

Temu mangga (*Curcuma mangga*) merupakan tanaman obat Indonesia yang memiliki banyak manfaat kesehatan. Namun, simplisia temu mangga sering tercemar mikroba selama proses penanganan dan penyimpanan yang akan berpengaruh terhadap mutu dan keamanannya. Salah satu metode yang sedang dikembangkan untuk dekontaminasi mikroba adalah penggunaan ozon dan telah terbukti efektif dalam mengurangi mikroba pada berbagai jenis bahan pangan. Tujuan penelitian ini adalah untuk melihat efektivitas ozon dalam proses dekontaminasi simplisia temu mangga. Sampel temu mangga diambil dari Pasar Beringharjo dan diozonasi dengan dosis 10 g/h. Proses dekontaminasi ozon dilakukan pada rentang waktu 0-120 menit Perhitungan cemaran mikroba dilakukan dengan menghitung Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Kamir (AKK) sesuai persyaratan BPOM. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ozon efektif dalam mengurangi jumlah mikroba pada temu mangga. Tanpa perlakuan ozon, ALT pada sampel mencapai $1,5 \times 10^5$ koloni/g. Setelah perlakuan ozon, ALT menurun menjadi $0,1-1 \times 10^5$ koloni/g. Selain itu, pada simplisia temu mangga setelah dilakukan ozonasi selama 30 menit tidak terdapat kapang dan kamir.

Kata kunci: ozon; temu mangga; AKK; ALT

ABSTRACT

C.mangga is a Indonesian medicinal plant known for its numerous health benefits. However, the simplisia of *Curcuma mangga* is often prone to microbial contamination concerns about safety. The aim of this research is to assess the effectiveness of ozone in the decontamination process of *Curcuma mangga*. Samples collected from Beringharjo markets were processed and treated with ozone at a dosage of 10 g/h. Testing was conducted to measure the Total Plate Count (TPC) and Total Mold Count (TMC) in accordance with the requirements of BPOM. Ozone decontamination was carried out within a range of 0-120 minutes. The results of the study demonstrate that ozone is highly effective in reducing microbial populations in *Curcuma mangga* simplisia. Without ozone treatment, the TPC reached levels of $1,5 \times 10^5$ colony-forming units per gram (cfu/g), exceeding the limits set by BPOM. Following ozone treatment, the TPC significantly decreased to the range of $0.1-1 \times 10^5$ cfu/g. In addition, in the *C.mangga* sample, after undergoing 30 minutes of ozonation, it no longer contains mold

Keywords: ozon; curcuma mangga; TMC; TPC

PENDAHULUAN

Temu mangga (*Curcuma mangga*) masuk dalam famili *Zingiberaceae* merupakan tanaman Indonesia yang sudah banyak dimanfaatkan sebagai tanaman obat. Temu mangga merupakan rimpang yang dapat tumbuh pada berbagai jenis tanah. Namun, dibutuhkan tanah yang subur, banyak mengandung bahan organik, gembur dan memiliki pengairan yang baik agar dapat tumbuh dengan subur (Gusmaini dkk., 2004). Salah satu permasalahan dari penggunaan simplisia temu mangga adalah rentan mengalami cemaran mikroba dari tanah tempat tumbuh, lingkungan luar serta proses pasca panen (Rismana dan Kusumaningrum, 2015). Cemaran ini juga dapat terjadi pada bentuk simplisia temu mangga apabila disimpan terlalu lama dalam keadaan basah dengan kondisi

yang lembab. Banyak peluang untuk terjadi cemaran mikroba pada simplisia rimpang temu mangga sehingga dibutuhkan proses dekontaminasi.

Dekontaminasi adalah proses menghilangkan kontaminan mikroba pada subjek dengan metode yang sesuai. Beberapa metode telah digunakan untuk dekontaminasi seperti pencucian dengan air. Namun, metode ini memiliki kekurangan yaitu membutuhkan waktu yang lama dan meningkatkan potensi tercemar kontaminan. Perlakuan secara kimia dengan gas etilen oksida juga telah dipakai, tetapi gas tersebut bersifat toksik (Zhao dan Cranston, 1995). Oleh karena itu, dibutuhkan metode dekontaminasi baru yang efektif terhadap bakteri, kapang serta kamir serta tidak bersifat toksik.

Salah satu metode yang sudah mulai banyak digunakan yaitu menggunakan gas ozon. Metode ini telah diaplikasikan pada sayuran dan makanan kering seperti biji-bijian, lada hitam dan kacang karena potensi sebagai agen pengoksidasi (Ouf dan Ali, 2021). Dekontaminasi dengan ozon efektif terhadap bakteri Gram positif dan Gram negatif, spora serta jamur. Penelitian menyebutkan bahwa dekontaminasi dengan ozon mampu menurunkan jumlah kapang dan kamir hingga 52% (Farajzadeh dkk., 2013). Berdasarkan uraian di atas, peneliti ingin mengamati efektivitas ozon sebagai metode dekontaminasi pada simplisia temu mangga dengan parameter Angka Lempeng Total (ALT) dan Angka Kapang Kamir (AKK) yang telah di persyaratkan seperti dalam Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 32 Tahun 2019 Tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional.

METODE

Preparasi Sampel

Simplisia yang telah terkumpul dari Pasar Beringharjo disortasi berdasarkan visual untuk melihat kelayakan simplisia dari bentuk dan ukuran yang mirip satu sama lain. Hasil sortasi disimpan dalam wadah berukuran sedang, tidak kedap dan dapat melindungi dari panas matahari langsung serta air. Determinasi tanaman dilakukan pada sampel simplisia yang telah terkumpul.

Dekontaminasi dengan ozon generator

Simplisia temu mangga ditimbang sebanyak 100 g untuk masing-masing perlakuan dan dimasukkan ke dalam ozon generator. Dosis ozon yang digunakan adalah 10 g/h. Paparan ozon yang diberikan pada rentang waktu 0-2 jam serta dilakukan pengujian pada interval 0,30, 60, 90 dan 120 menit. Waktu dekontaminasi dihitung setelah konsentrasi ozon stabil, yaitu 30 menit setelah dinyalakan. Simplisia yang telah diberi perlakuan ozon akan disimpan pada wadah plastik *Polypropylene (PP)* dipilih karena memiliki kemampuan melewatkan uap yang rendah, sehingga bisa digunakan untuk pengemasan sayur dan buah.

Preparasi Sampel Temu Mangga

Simplisia temu mangga yang telah mendapat perlakuan dan non perlakuan dekontaminasi dengan ozon dari masing-masing pasar dihaluskan agar menjadi serbuk. Bahan ini digunakan untuk pembuatan ekstrak dan pengujian selanjutnya.

Sterilisasi Alat

Alat gelas, *spreader*, media dan pengencer NaCl 0,9% disterilkan terlebih dahulu untuk mencegah terjadinya kontaminasi mikroba. Semua peralatan dibungkus dengan kertas dan dilakukan proses sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° C selama 15 menit.

Pembuatan Media *Triptic Soy Agar (TSA)* dan *Potato Dextrose Agar (PDA)*

Pembuatan Media TSB

Sebanyak 30 gram *Triptic Soy Broth* dicampur dengan 15 gram Agar kemudian dilarutkan dalam 1000 mL aquades. Media yang telah disiapkan pada erlenmeyer kemudian dipanaskan di atas kompor listrik dan diaduk hingga homogen. Setelah dingin, mulut erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil untuk kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C

Pembuatan Media PDA

Sebanyak 39 gram PDA dilarutkan dalam 1000 mL aquadest. Media yang telah disiapkan pada erlenmeyer kemudian dipanaskan di atas kompor listrik dan diaduk hingga homogen. Setelah dingin, mulut erlenmeyer ditutup dengan kapas dan aluminium foil untuk kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C

Uji Angka Lempeng Total

Uji angka lempeng total menggunakan *serial dilution* dengan lima kali pengenceran. Sebanyak 1 gram serbuk *C.mangga* diencerkan dengan penambahan 9 ml pengencer *saline water* kemudian homogenkan sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Hal yang sama hingga didapatkan pengenceran 10^{-5} . Hasil pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri secara spread reader. Sebanyak 100 μ L dari masing-masing seri pengenceran diambil dengan pipet ke dalam cawan petri yang telah terisi media padat TSA dan digunakan 2 cawan petri untuk tiap pengenceran. Lakukan pemutaran agar sampel tersebar merata. Blanko dibuat untuk menjamin sterilitas media dan pengencer yang digunakan. Pada 1 cawan diberi media TSA dan pengencer *saline water* (uji sterilitas pengencer), dan di cawan lainnya hanya diberikan media TSA (uji sterilitas media). Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 36° C selama 24 jam pada posisi terbalik. Untuk perhitungan Angka Lempeng Total, cawan dipilih dari satu cawan petri yang memiliki 30-300 koloni. Jumlah koloni dari kedua cawan pada satu pengenceran dirata-rata dan dikalikan dengan faktor pengenceran. Hasil dinyatakan dalam koloni per gram.

Uji Angka Kapang Kamir

Uji angka kapang kamir menggunakan *serial dilution* dengan lima kali pengenceran. Sebanyak 1 gram serbuk temu mangga diencerkan dengan penambahan 9 ml pengencer *saline water* kemudian homogenkan sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} . Hal yang sama hingga didapatkan pengenceran 10^{-5} . Hasil pengenceran diinokulasikan ke dalam cawan petri secara spread reader. Sebanyak 100 μ L dari masing-masing seri pengenceran diambil dengan pipet ke dalam cawan petri yang telah terisi media padat PDA dan digunakan 2 cawan petri untuk tiap pengenceran. Lakukan pemutaran agar sampel tersebar merata. Blanko dibuat untuk menjamin sterilitas media dan pengencer yang digunakan. Pada 1 cawan diberi media PDA dan pengencer *saline water* (uji sterilitas pengencer), dan di cawan lainnya hanya diberikan media PDA (uji sterilitas media). Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 30° C selama 4 hari pada posisi terbalik. Untuk perhitungan Angka Kapang Kamir, cawan agar yang dihitung adalah cawan yang memiliki 40-60 koloni kapang/kamir. Perhitungan dilakukan dengan menghitung jumlah koloni lalu dikalikan dengan faktor pengencernya. Hasil dinyatakan angka kapang khamir tiap gram atau mL sampel.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil yang diperoleh berupa data perhitungan bakteri, kapang dan kamir sesuai dengan pedoman dari Depkes RI, (2000) Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Departemen Kesehatan Republik Indonesia Tahun 2000 yang dinyatakan dalam koloni/ g dengan persamaan:

$$AKK \text{ atau } ALT = \text{Jumlah koloni rata - rata} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran} \times \text{volume}}$$

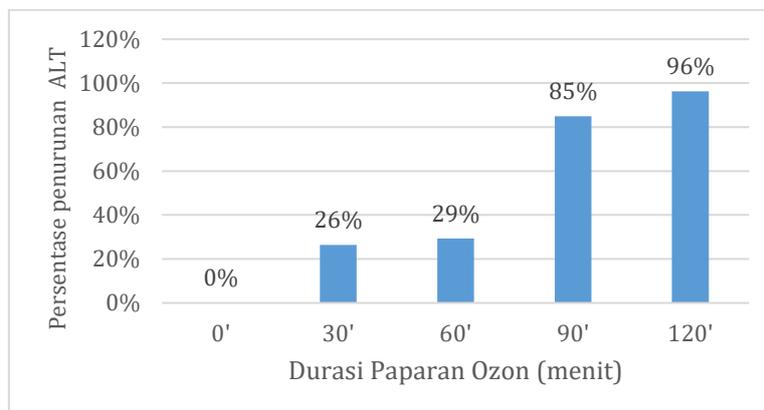
Uji angka lempeng total dapat dilihat pada Tabel . Hasil ALT sampel temu mangga yang didapatkan dari Pasar Beringharjo tanpa perlakuan ozon memiliki nilai sebesar $1,5 \times 10^5$. Sementara itu, sampel temu mangga yang telah diozonasi memiliki angka ALT sebesar $0,1-1 \times 10^5$ koloni/g. Persyaratan ALT simplisia menurut Perka BPOM No. 32 (BPOM RI, 2019) adalah $\leq 5 \times 10^7$ koloni/g. Sampel temu mangga yang telah diozonasi menunjukkan penurunan terhadap angka ALT dan memenuhi persyaratan. Hasil juga menunjukkan semakin lama waktu paparan ozon terhadap simplisia temu mangga, maka jumlah mikroba akan semakin turun. Temuan ini selaras dengan hasil penelitian Ali Asgar dkk. (2016) yang menunjukkan ozon merupakan disinfektan yang kuat. Ozon dengan konsentrasi rendah (0,5mg/L) sudah dapat membunuh mikroorganisme dan mampu mensterilkan air. Ozon memiliki sisi aktif pada permukaan sel bakteri. Dosis ozon yang digunakan pada penelitian adalah 10 g/L dengan jeda 30 menit untuk masing-masing lama paparan.

Tabel I. Angka Lempeng Total Simplisia Temu Mangga dari Pasar Beringharjo

Perlakuan	Pengenceran	Jumlah Koloni		Rata-Rata	ALT (koloni/g)
		Cawan 1	Cawan 2		
Tanpa Perlakuan	10 ⁻¹	58	45	51,5	5150
	10 ⁻²	62	64	63	63000
	10 ⁻³	48	30	39	390000
	10 ⁻⁴	13	28	20,5	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
		Total Nilai ALT (koloni/g)			152717
Ozonasi 30 menit	10 ⁻¹	126	62	94	9400
	10 ⁻²	82	54	68	68000
	10 ⁻³	1	51	26	260000
	10 ⁻⁴	1	3	2	
	10 ⁻⁵	3	0	1,5	
		Total Nilai ALT (koloni/g)			112467
Ozonasi 60 menit	10 ⁻¹	94	52	73	7300
	10 ⁻²	34	39	36,5	36500
	10 ⁻³	15	41	28	280000
	10 ⁻⁴	3	16	14,5	
	10 ⁻⁵	0	18	9	
		Total Nilai ALT (koloni/g)			107933
Ozonasi 90 menit	10 ⁻¹	78	94	86	8600
	10 ⁻²	41	34	37,5	37500
	10 ⁻³	7	15	11	
	10 ⁻⁴	5	3	4	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
		Total Nilai ALT (koloni/g)			23050
Ozonasi 120 menit	10 ⁻¹	72	41	56,5	5650
	10 ⁻²	32	0	16	
	10 ⁻³	0	23	11,5	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	1	0	0,5	
		Total Nilai ALT (koloni/g)			5650

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Glowacz dan Rees.,(2016) melaporkan bahwa kinerja ozon dalam menghambat pertumbuhan mikroba bergantung pada dosis, durasi paparan dan konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi yang terlalu tinggi akan memberikan pengaruh yang signifikan, sebaliknya konsentrasi yang terlalu rendah tidak akan memberikan efek yang berarti terhadap buah dan sayur (Mohd Aziz dan Ding, 2018). Ozon dengan konsentrasi 0,4 µL/L dapat mengurangi pertumbuhan mikroba pada brokoli, sedangkan pada beberapa komoditas seperti jamur kancing (*Agaricus bisphorus*) dengan konsentrasi yang sama dapat memberikan efek fototoksitas.

Target utama dari ozon adalah permukaan sel. Mekanisme paling penting dari ozon adalah oksidasi sulfhidril dari enzim yang akan bereaksi dengan molekul ozon. Permukaan dinding sel bakteri yang diserang ozon akan menyebabkan perubahan permeabilitas dan mengarah pada lisisnya sel (Colm O'Donnell dkk., 2012). Ozon merupakan oksidator kuat yang tidak stabil dalam air dan udara dan mudah terdekomposisi menjadi hidroksil (HO), hidroperoksi (HO₂) dan superoksida radikal (O²⁻). Aktivitas ozon sebagai oksidator memiliki 2 mekanisme utama, yaitu: (1) ozon mengoksidasi gugus sulfhidril, asam amino dan protein menjadi peptida yang lebih kecil; (2) ozon mengoksidasi asam lemak tak jenuh menjadi asam peroksidase. Ozon akan menyerang asam lemak tak jenuh yang berada dalam membran sel dan mengakibatkan peroksidasi asam lemak. Akibatnya, membran sel mengalami modifikasi dimana asam lemak akan berubah menjadi *malondialdehyde* (MDA) yang akan mengarah menuju inaktivasi sel bakteri (Geweely dkk., 2014). Hasil penelitian menunjukkan bahwa semakin lama durasi paparan ozon maka presentase penurunan nilai ALT juga semakin meningkat. Paparan ozon selama 30 menit mampu menurunkan 26% koloni bakteri dan paparan ozon selama 120 menit mampu menurunkan sebanyak 96% bakteri dibandingkan dengan sampel simplisia temu mangga tanpa diberi paparan ozon.



Gambar 1. Persentase Penurunan Angka Lempeng Total Simplisia Temu Mangga Terhadap Durasi Paparan Ozon

Beberapa penelitian mengungkapkan bahwa ozon efektif terhadap spora pada beberapa jamur, seperti pada Khadre dkk., (2001) menjelaskan bahwa inaktivasi mikroflora oleh ozon dipengaruhi oleh komposisi permukaan, tipe dan banyaknya kontaminan serta derajat keterikatan mikroba dengan sampel. Salah satu mekanisme ozon yaitu melalui *bacterial spore coat* seperti pada *Bacillus cereus spores* dengan mengikis mantel protein secara bertahap dengan ozon. Protoplas akan memberikan perlindungan ke lapisan terluar (*bacterial spore coat*) sehingga spora akan resisten terhadap oksidasi, sedangkan ozon dideskripsikan sebagai oksidan protoplasmic sehingga *bacterial spore coat* tidak dapat melindungi dan akan terjadi kematian sel. Penelitian yang dilakukan Khadre dkk., (2001) dengan *B.subtilis* sebagai bakteri indikator, ditemukan bahwa bagian terluar dari spora merupakan sisi aksi dari ozon. Paparan ozon akan merusak struktur dan menyebabkan degradasi *spore coat* yang akan menyebabkan matinya jamur karena ozon. Teori-teori yang dipaparkan linear dengan hasil penelitian yang memberikan data bahwa Angka Lempeng Total (ALT) pada sampel simplisia temu mangga akan menurun seiring semakin lamanya waktu paparan.

BPOM juga mempersyaratkan Uji Angka Kapang Kamir (AKK) untuk menghitung tumbuhnya kapang dan khamir pada sampel. Jumlah kapang dan khamir terhadap sampel tanpa perlakuan ozon memiliki nilai sebesar 1×10^{-1} dan menurun menjadi $<1 \times 10^{-1}$ setelah diberi paparan ozon selama 90 menit. Jumlah kapang dan khamir pada simplisia temu mangga yang belum diberi paparan ozon hanya menumbuhkan 1 kapang khamir sehingga sulit untuk melihat perbedaan Angka Kapang Kamir pada setiap perlakuan dengan ozon. Hasil pengujian Angka Kapang Kamir disajikan pada Tabel.

Paparan dengan ozon terhadap sampel simplisia temu mangga terbukti dapat menurunkan jumlah kapang khamir. Ozon dapat menekan pertumbuhan spora sel jamur dengan mengoksidasi gugus sulfhidril dan asam amino pada komponen sel yang dapat menyebabkan kematian sel dengan cepat. Molekul ozon yang terdiri dari tiga atom oksigen memiliki kemampuan oksidatif yang kuat yang dapat merombak struktur molekul. Ketika ozon berinteraksi dengan spora jamur, ozon dapat mengoksidasi gugus sulfhidril dan asam amino pada sel jamur sehingga akan menghentikan pertumbuhan spora dan menyebabkan kematian sel secara cepat (Geweely dkk., 2014). Paparan ozon dapat menyebabkan kematian hifa pada sel jamur (Savi dan Scussel, 2014). Ozon dengan konsentrasi rendah dapat menghambat pertumbuhan miselium dan proses pembentukan spora sehingga tidak terjadi proses reproduksi jamur (Ozkan dkk., 2011). Reactive Oxygen Species (ROS) dihasilkan selama paparan ozon dan menyebabkan diferensiasi dari sel fungi (Minas dkk., 2010) dan menyebabkan mutasi sel pada asam nukleat (Savi dan Scussel, 2014).

Inaktivitas spesies jamur memerlukan konsentrasi yang lebih tinggi serta durasi paparan ozon yang lebih lama dibanding yang dibutuhkan oleh bakteri. Hasil penelitian menunjukkan bahwa Angka Kapang Khamir tidak berbeda signifikan untuk setiap durasi lama paparan. Pascual dkk., (2007) menyatakan bahwa ozon memiliki sensitivitas untuk masing-masing mikroorganismenya. Bakteri lebih sensitif dibandingkan kapang (*yeast*) dan jamur. Bakteri gram positif lebih sensitif dibanding bakteri gram negatif dan spora lebih resisten dibandingkan dengan sel vegetatif.

Tabel II. Angka Lempeng Total Simplisia Temu Mangga di Pasar Bringhamarjo

Perlakuan	Pengenceran	Jumlah Koloni		Rata-Rata	AKK (koloni/g)
		Cawan 1	Cawan 2		
Tanpa Perlakuan	10 ⁻¹	0	1	0,5	1 x 10 ⁻¹
	10 ⁻²	0	0	0	
	10 ⁻³	0	0	0	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					0
Ozonasi 30 menit	10 ⁻¹	1	0	0,5	0
	10 ⁻²	0	0	0	
	10 ⁻³	0	0	0	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					0
Ozonasi 60 menit	10 ⁻¹	0	1	0,5	0
	10 ⁻²	0	0	0	
	10 ⁻³	0	0	0	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					0
Ozonasi 90 menit	10 ⁻¹	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	
	10 ⁻³	0	0	0	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					0
Ozonasi 120 menit	10 ⁻¹	0	0	0	0
	10 ⁻²	0	0	0	
	10 ⁻³	0	0	0	
	10 ⁻⁴	0	0	0	
	10 ⁻⁵	0	0	0	
Total Nilai AKK (koloni/g)					0

KESIMPULAN

Dekontaminasi dengan ozon terbukti dapat menurunkan jumlah bakteri serta kapang dan kamir pada simplisia temu mangga yang dijual di Pasar Beringharjo. Ozon dapat menyebabkan lisisnya dinding sel bakteri dan sehingga menyebabkan sel mengalami kematian. Efektivitas ozon dapat diukur dari dosis serta lama waktu paparan yaitu semakin lama waktu paparan ozon maka semakin menurunnya jumlah bakteri dan kapang serta kamir terhadap sampel simplisia temu mangga. Ozon dapat digunakan sebagai alternatif dekontaminasi bakteri pada simplisia.

DAFTAR PUSTAKA

- Ali Asgar, A.T.S., Sumartini, dan Ariani, dan D., 2016. Kajian Ozonasi (O₃) Terhadap Karakteristik Kubis Bunga Brassica Oleracea Var. Botrytis) Segar Selama Penyimpanan Pada Suhu Dingin. *Correspondencias & Análisis*, 1-23.
- BPOM RI, 2019. Persyaratan Keamanan Dan Mutu Obat Tradisional. *Bpom Ri*, **11**: 1-16.
- Colm O'Donnell, B.K. Tiwari, P.J. Cullen, dan Rip G. Rice, 2012. *Ozone in Food Processing*. Blackwell Publishing Ltd.
- Depkes RI, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
- Farajzadeh, D., Qorbanpoor, A., Rafati, H., dan Isfeedvajani, M.S., 2013. Reduction of date microbial load with ozone. *Journal of Research in Medical Sciences*, **18**: 330-334.

- Geweely, N.S., Afifi, H.A.M., Abdelrahim, S.A., dan Alakilli, S.Y.M., 2014. Novel Comparative Efficiency of Ozone and Gamma Sterilization on Fungal Deterioration of Archeological Painted Coffin, Saqqara Excavation, Egypt. *Geomicrobiology Journal*, **31**: 529–539.
- Glowacz, M. dan Rees, D., 2016. The practicality of using ozone with fruit and vegetables. *Journal of the science of food and agriculture*, **96**: 4637–4643.
- Gusmaini, Yusron. M, dan M. Januati, 2004. Teknologi Perbanyak Benih Temu Mangga. *Perkembangan Teknologi Tro*, **16**: 1–8.
- Khadre, M.A., Yousef, A.E., dan Kim, J.G., 2001. Microbiological aspects of ozone applications in food: A review. *Journal of Food Science*, **66**: 1242–1252.
- Minas, I.S., Karaoglanidis, G.S., Manganaris, G.A., dan Vasilakakis, M., 2010. Effect of ozone application during cold storage of kiwifruit on the development of stem-end rot caused by *Botrytis cinerea*. *Postharvest Biology and Technology*, **58**: 203–210.
- Mohd Aziz, K. dan Ding, P., 2018. Ozone Application in Fresh Fruits and Vegetables. *Pertanika Journal of Scholarly Research Reviews*, **4**: 29–35.
- Ouf, S.A. dan Ali, E.M., 2021. Does the treatment of dried herbs with ozone as a fungal decontaminating agent affect the active constituents? *. *Environmental Pollution*, **277**: 116715.
- Ozkan, R., Smilanick, J.L., dan Karabulut, O.A., 2011. Toxicity of ozone gas to conidia of *Penicillium digitatum*, *Penicillium italicum*, and *Botrytis cinerea* and control of gray mold on table grapes. *Postharvest Biology and Technology*, **60**: 47–51.
- Pascual, A., Llorca, I., dan Canut, A., 2007. Use of ozone in food industries for reducing the environmental impact of cleaning and disinfection activities. *Trends in Food Science & Technology*, **18**: S29–S35.
- Rismana, E. dan Kusumaningrum, S., 2015. Determination of Microbe Contaminant in *Centella Asiatica Simplisia* and Extract Before and After Gamma-Rays Pasteurization. *Molekul*, **10**: 27.
- Savi, G.D. dan Scussel, V.M., 2014. Effects of Ozone Gas Exposure on Toxigenic Fungi Species from *Fusarium*, *Aspergillus*, and *Penicillium* Genera. *Ozone: Science & Engineering*, **36**: 144–152.
- Zhao, J. dan Cranston, P.M., 1995. Microbial decontamination of black pepper by ozone and the effect of the treatment on volatile oil constituents of the spice. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **68**: 11–18.